

Farmacopea Argentina

VOLUMEN I



**FARMACOPEA
ARGENTINA**

SÉPTIMA EDICIÓN



Farmacopea Argentina

VOLUMEN
I

FARMACOPEA ARGENTINA

SÉPTIMA EDICIÓN



Ministerio de Salud de la Nación

Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos

ANMAT

Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

INAME

Instituto Nacional de Medicamentos

FARMACOPEA ARGENTINA

SÉPTIMA EDICIÓN

Presidente de la Nación

Dr. Eduardo Duhalde

Jefe de Gabinete de Ministros

Dr. Alfredo Atanasof

Ministro de Salud de la Nación

Dr. Ginés González García

Secretaría de Políticas, Regulación y Relaciones Sanitarias

Dr. Carlos E. Filgueira Lima

Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

Dr. Manuel R. Limeres

Instituto Nacional de Medicamentos

Dr. Carlos A. Chiale

**FARMACOPEA
ARGENTINA**

SÉPTIMA EDICIÓN

VOLUMEN
I

COMISIÓN PERMANENTE
FARMACOPEA ARGENTINA

Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina

PRESIDENTE: Dr. Manuel R. Limeres

DIRECTOR EJECUTIVO: Dr. Carlos A. Chiale

COORDINADOR TÉCNICO: Dra. Hela G. Beltramini

SECRETARÍA TÉCNICA: Dra. Karina A. Manco

VOCALES:

Dr. Sem M. Albónico

Dr. Arnaldo Luis Bandoni

Dr. Pablo Bazerque

Dr. Mario A. Copello

Dr. Juan M. Dellacha

Dr. Teodoro S. Kaufman

Dr. Eloy Mandrile

Dr. Rubén Manzo

Dra. María Teresa Pizzorno

Dr. Edgardo Poskus

Dra. Maria Praturlon

Dr. Modesto Rubio

Dr. Norberto A. Terragno

Dra. María Guillermina Volonté

FARMACOPEA ARGENTINA
SÉPTIMA EDICIÓN

DECRETO N° 202

Buenos Aires, 12 de junio de 2003.

Apruébase el texto del 1° Volumen de la Séptima Edición.

VISTO la Ley N° 16.463, y sus normas reglamentarias, la Ley N° 25.649, el Decreto N° 1490 del 20 de agosto de 1992 y N° 486 del 12 de marzo de 2002, prorrogado por su similar N° 2724 del 31 de diciembre de 2002, la Resolución del ex Ministerio de Salud y Acción Social N° 297 del 2 de julio de 1996, la Disposición de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (A.N.M.A.T.) N° 1535 del 19 de abril de 2002, y el expediente N° 1-47-1110-2283-02-0 del registro de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (A.N.M.A.T.), y

CONSIDERANDO:

Que la Farmacopea Argentina es el libro oficial donde se publican los tipos de drogas y medicamentos necesarios o útiles para el ejercicio de la medicina y la farmacia, especificando lo concerniente al origen, preparación, identificación, pureza, valoración y demás condiciones que aseguran la uniformidad y calidad de las propiedades de los mismos.

Que el artículo 3° de la Ley N° 16.463 de medicamentos establece que "los productos comprendidos en la presente Ley deberán reunir las condiciones establecidas en la Farmacopea Argentina, y en caso de no figurar en ella, las que surgen de los

patrones internacionales y de los textos de reconocido valor científico".

Que la Primera Edición de la Farmacopea Argentina fue aprobada por la Ley N° 3041 del 27 de noviembre de 1893, sancionada luego de un debate parlamentario en el cual se expresó que "no viene el Codex Medicamentarius, ni puede venir (...) al seno del Senado, para recibir una revisión, un análisis de cada una de sus prescripciones; viene nada más que a recibir la sanción legal que le da fuerza obligatoria en todo el Territorio de la Nación."

Que luego fue sustituida por cinco (5) ediciones posteriores, aprobadas por las siguientes normas: Ley N° 10.983 del 30 de septiembre de 1919; Ley N° 12.729 del 29 de septiembre de 1941; Decreto N° 4944 del 12 de diciembre de 1955; Ley N° 16.969 del 4 de octubre de 1966 y Ley N° 21.885 del 6 de octubre de 1978.

Que desde la aprobación de la Sexta Edición en el año 1978, la Farmacopea Argentina no ha sido actualizada hasta la fecha.

Que el transcurso del tiempo operado y la prolífera actividad en las áreas de investigación y desarrollo de la industria farmacéutica han desnaturalizado el objeto para el cual la Farmacopea Argentina fuera creada, tornando necesario encarar la

incorporación a la obra de las novedades farmacológicas hasta hoy existentes, así como revisar y actualizar las monografías allí incluidas a la luz de los nuevos métodos y tecnologías disponibles para el control de la calidad de drogas y medicamentos.

Que el Decreto N° 21.886 del 5 de diciembre de 1956, modificado posteriormente por el Decreto N° 836 del 9 de mayo de 1985 estableció la estructura de funcionamiento de la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina, teniendo por objeto revisar, actualizar y publicar periódicamente la Farmacopea Argentina.

Que de acuerdo a la aludida normativa, el ámbito de actuación de la mencionada Comisión es el Ministerio de Salud y su sede la Dirección Nacional de Drogas, Medicamentos y Alimentos.

Que dicha Dirección ha quedado subsumida en la estructura de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (A.N.M.A.T.), creada por Decreto N° 1490 de fecha 20 de agosto de 1992 como Organismo Descentralizado de la entonces Secretaría de Salud, hoy Secretaría de Políticas, Regulación y Relaciones Sanitarias, con competencia en todo lo relacionado al control y fiscalización sobre la sanidad y calidad de las drogas, productos químicos, reactivos, formas farmacéuticas, medicamentos, elementos de diagnóstico, materiales y tecnología biomédicos y todo otro producto de uso y aplicación en la medicina humana (cfr. artículo 3°, inciso a).

Que entre las obligaciones de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (A.N.M.A.T.) se encuentra la de aplicar y velar por el cumplimiento de las

disposiciones legales, científicas, técnicas y administrativas comprendidas dentro del ámbito de su competencia.

Que en relación a los medicamentos, la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (A.N.M.A.T.) debe controlar y fiscalizar el cumplimiento de la Ley N° 16.463 (reglamentada por los Decretos Nros. 9763/64 y 150/92 y modificatorios).

Que teniendo en cuenta lo expuesto en los considerandos precedentes, por medio de la Resolución del ex Ministerio de Salud y Acción Social N° 297 de fecha 2 de julio de 1996 se encomendó a la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (A.N.M.A.T.) la reactivación del funcionamiento de la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina, a efectos de revisar y actualizar el texto de la Farmacopea Argentina, lo cual se materializó con el dictado de la Disposición Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica A.N.M.A.T. N° 756 de fecha 26 de febrero de 1998, sustituida posteriormente por la Disposición Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica A.N.M.A.T. N° 1535 19 de abril de 2002.

Que la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina ha revisado y elaborado un nuevo proyecto actualizado de la Farmacopea Argentina, que consta de cuatro (4) volúmenes a ser editados uno (1) por año, encontrándose concluido el que constituye el primer volumen de su VII Edición.

Que la Ley N° 25.649, sancionada con fecha 28 de agosto de 2002 y promulgada parcialmente con fecha 18 de septiembre de 2002, "tiene por objeto la defensa del consumidor de medicamentos y drogas farmacéuticas, y su utilización como medio de diagnóstico en tecnología biomédica y

todo otro producto de uso y aplicación en la medicina humana", estableciendo, en concordancia con lo estatuido por la Resolución del Ministerio de Salud N° 326/02, que toda receta o prescripción médica deberá efectuarse en forma obligatoria expresando el nombre genérico del medicamento o denominación común internacional que se indique, seguida de forma farmacéutica y dosis/unidad, con detalle del grado de concentración.

Que asimismo establece que la receta podrá indicar además del nombre genérico el nombre o marca comercial, pero en dicho supuesto el profesional farmacéutico, a pedido del consumidor, tendrá la obligación de sustituir la misma por una especialidad medicinal de menor precio que contenga los mismos principios activos, concentración, forma farmacéutica y similar cantidad de unidades.

Que las prescripciones legales precedentemente reseñadas, requieren el aseguramiento de la calidad de las drogas y principios activos involucrados en los medicamentos, estableciendo sus especificaciones, métodos de control y de producción.

Que resulta insoslayable destacar en este punto, que desde la creación de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (A.N.M.A.T.), y de acuerdo al modelo fiscalizador de gestión adoptado por dicho organismo, se ha ido poniendo cada vez más énfasis en el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Fabricación y Control exigiéndose la paulatina adecuación a las normas establecidas al respecto por la Organización Mundial de la Salud (OMS), punto de partida fundamental para resguardar la calidad farmacéutica de los medicamentos.

Que las Farmacopeas, en general, han evolucionado en el mundo para adaptarse a

las nuevas formas de producción y utilización, (distribución, prescripción y dispensación) de los medicamentos.

Que las Farmacopeas no constituyen en la actualidad textos exclusivamente empleados por los farmacéuticos en la preparación o dispensación de fórmulas farmacéuticas prescriptas en las recetas médicas.

Que como el medicamento se ha convertido en un producto de la industria farmacéutica, las Farmacopeas devienen en verdaderos códigos de normas de calidad indispensables para normalizar el mercado farmacéutico y para establecer las condiciones mínimas de calidad para que puedan distribuirse legalmente en el mercado.

Que el empleo de la Farmacopea Argentina vigente en la actualidad cayó en desuso debido a la discontinuidad de las subsiguientes ediciones, con la consecuente falta de revisión o actualización frente a los avances de la terapéutica, el vertiginoso desarrollo de la tecnología y la constante evolución de la industria farmacéutica en el mundo y en particular en nuestro país.

Que por el artículo 1° del Decreto N° 486 del 12 de marzo de 2002, se declara la Emergencia Sanitaria Nacional hasta el 31 de diciembre de 2002, a efectos de garantizar a la población argentina el acceso a los bienes y servicios básicos para la conservación de la salud.

Que el mencionado Decreto fue prorrogado por su similar N° 2724 del 31 de diciembre de 2002, hasta el 10 de diciembre de 2003.

Que dicha declaración tuvo por objeto paliar el impacto inicial de la crisis acaecida en el país, garantizando a la población argentina el acceso a los bienes y servicios básicos para la conservación de

la salud, restableciendo primordialmente el suministro de medicamentos e insumos críticos en las instituciones públicas con servicios de internación.

Que frente a la situación descripta resulta indispensable que la Farmacopea Argentina sea actualizada ya que los medicamentos deben conformarse a ella, de acuerdo a lo expresamente establecido en el artículo 3° de la Ley de Medicamentos N° 16.463.

Que de todo lo expuesto surge que la crítica situación que atraviesa el sector salud configura una circunstancia excepcional que hace imposible seguir los trámites ordinarios previstos por la Constitución Nacional para la sanción de las leyes, resultando imperioso el dictado de este acto.

Que la Dirección General de Asuntos Jurídicos del Ministerio de Salud ha tomado la intervención de su competencia.

Que la presente medida se dicta en ejercicio de las facultades conferidas por el art. 99, incisos 1 y 3 de la Constitución Nacional.

Por ello,

El Presidente de la Nación Argentina en acuerdo general de Ministros

DECRETA:

Artículo 1° — Apruébase el texto del 1° Volumen de la Séptima Edición de la Farmacopea Argentina, que como Anexo I forma parte del presente Decreto.

Art. 2° — El texto aprobado por el artículo 1° del presente Decreto entrará en vigencia a partir de su publicación en el Boletín Oficial.

Art. 3° — El 1° Volumen de la Séptima Edición de la Farmacopea Argentina, que se aprueba por el artículo 1° del presente, será de uso obligatorio para todas las farmacias, droguerías, empresas

elaboradoras e importadoras de drogas y medicamentos, como así también para aquellos establecimientos que los comercialicen y/o distribuyan.

Será también de uso obligatorio para aquellos establecimientos o empresas que importen, elaboren, comercialicen y/o distribuyan productos médicos que por sus características deban responder a especificaciones de la Farmacopea Argentina.

Art. 4° — Encomiéndase al Ministerio de Salud a confeccionar los restantes volúmenes de la VII Edición de la Farmacopea Argentina.

Art. 5° — Queda prohibida la reimpresión de la Farmacopea Argentina sin autorización expresa del Ministerio de Salud y sólo producirá efecto legal la edición oficial.

Art. 6° — Dése cuenta al Honorable Congreso de la Nación, en cumplimiento del artículo 99 inciso 3) de la Constitución Nacional.

Art. 7° — Comuníquese, publíquese, dése a la Dirección Nacional del Registro Oficial y archívese. —

Néstor Kircher. — Alberto A. Fernández. — Ginés M. González García. — Aníbal D. Fernández. — José J. B. Pampuro. — Alicia M. Kirchner. — Julio M. De Vido. — Rafael A. Bielsa. — Daniel F. Filmus. — Gustavo O. Beliz. — Carlos A. Tomada.

FARMACOPEA ARGENTINA

SÉPTIMA EDICIÓN

PRIMER VOLUMEN

ÍNDICE GENERAL

Prólogo

Presentación

Objetivos

Historia

Subcomisiones Técnicas, composición

Textos legales

Consideraciones Generales

Métodos Generales de análisis

Métodos Generales de Análisis

<10> - Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos

<20> - Análisis térmico

<30> - Capacidad neutralizante de ácido

<40> - Carbono orgánico total

<50> - Colorantes de uso farmacéutico

<60> - Combustión en erlenmeyer con oxígeno

<70> - Conductividad

<80> - Conservantes

<90> - Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles

<100> - Cromatografía

<110> - Determinación de aflatoxinas

<120> - Determinación de agua

<130> - Determinación de alcohol

<140> - Determinación de aluminio

<150> - Determinación de cinc

<160> - Determinación de la densidad relativa

<170> - Determinación de la rotación óptica

<180> - Determinación de la temperatura de solidificación

<190> - Determinación de la viscosidad

<200> - Determinación de nitrógeno

<210> - Determinación del contenido extraíble del envase

<220> - Determinación del contenido neto del envase

<230> - Determinación del índice de refracción

- <240> - Determinación del intervalo de destilación
- <250> - Determinación del pH
- <260> - Determinación del punto de fusión
- <270> - Determinación del residuo de ignición
- <280> - Disolución completa
- <290> - Distribución del tamaño de partícula en polvos
- <300> - Electroforesis
- <310> - Ensayo de disgregación
- <320> - Ensayo de disolución
- <330> - Ensayo de endotoxinas bacterianas
- <340> - Ensayo de piretógenos
- <350> - Ensayo de sustancias fácilmente carbonizables
- <360> - Ensayo de toxicidad anormal
- <370> - Ensayos de esterilidad
- <380> - Ensayos de reactividad biológica
- <390> - Ensayos farmacotécnicos para aerosoles
- <400> - Ensayos farmacotécnicos para supositorios
- <410> - Ensayos generales de identificación
- <420> - Envases primarios de plástico
- <430> - Envases de vidrio
- <440> - Espectrofotometría de absorción y emisión atómica
- <450> - Espectrofotometría de fluorescencia
- <460> - Espectrofotometría infrarroja
- <470> - Espectrofotometría ultravioleta y visible
- <480> - Grasas y aceites fijos
- <490> - Identificación de bases orgánicas nitrogenadas
- <500> - Identificación de tetraciclinas
- <510> - Impurezas comunes
- <520> - Impurezas orgánicas volátiles
- <530> - Liberación de principios activos
- <540> - Límite de arsénico
- <550> - Límite de calcio, potasio y sodio
- <560> - Límite de cloruro y sulfato
- <570> - Límite de dimetilanilina
- <580> - Límite de hierro
- <590> - Límite de metales pesados
- <600> - Límite de plomo
- <610> - Límite de selenio

- <620> - Materiales volumétricos
- <630> - Métodos de farmacognosia
- <640> - Osmolalidad y Osmolaridad
- <650> - Partículas en inyectables
- <660> - Partículas metálicas en ungüentos oftálmicos
- <670> - Pérdida por calcinación
- <680> - Pérdida por secado
- <690> - Pesas y balanzas
- <700> - Polarografía
- <710> - Sales de bases orgánicas nitrogenadas
- <720> - Termómetros
- <730> - Titulación con nitrito
- <740> - Uniformidad de unidades de dosificación
- <750> - Valoración de esteroides
- <760> - Valoración iodométrica de antibióticos beta-lactámicos
- <770> - Valoración microbiológica de antibióticos
- <780> - Volumetría

Textos de Información General

- <1020> - Buenas prácticas de fabricación y control
- <1040> - Estudios de estabilidad
- <1050> - Formas farmacéuticas
- <1060> - Friabilidad y dureza de comprimidos
- <1070> - Impurezas en productos oficiales
- <1090> - Limpieza de materiales de vidrio
- <1110> - Preparaciones radiofarmacéuticas
- <1120> - Productos biotecnológicos
- <1130> - Validación de métodos analítico

Reactivos y Soluciones

Especificaciones de Reactivos

Indicadores, papeles y papeles indicadores

Soluciones

Reguladoras

Colorimétricas

Indicadores de Reactivos

Volumétricas

Tablas

Índice alfabético

PRÓLOGO

En el 2002 los argentinos hemos atravesado un año particularmente duro. En muchos ámbitos, y el de la salud no es una excepción, problemas estructurales de larga data se combinaron explosivamente con la debacle política presionando violentamente sobre las condiciones económicas, sociales y sanitarias de nuestra población.

En tal contexto, ciertas prácticas toleradas durante demasiado tiempo, aparecen a la luz con toda su crudeza y, podría decirse, su inmortalidad. Tal es el caso en el mercado de medicamentos, de su particular forma de organización y competencia —o, debería decir, su particular manera de evadirla— que han impuesto a los argentinos un costo desmesurado a cambio de muy poca salud.

Pero las crisis son también oportunidades. La oportunidad de consensuar políticas públicas con los diversos sectores involucrados en pos de un objetivo claro: que el mercado de medicamentos esté al servicio de la salud de la población — y no a la inversa—.

El cambio requiere operar a la vez en varios frentes. La promoción del nombre genérico de los medicamentos es sin duda una estrategia central. El objeto y alcance de tal estrategia es sencillo y transparente: se trata de divorciar el acto clínico de prescribir un medicamento del nombre de fantasía de un producto y los intereses comerciales detrás del mismo.

Corrido el velo de la marca comercial comienzan a polemizarse naturalmente otros temas relacionados a la calidad de los medicamentos. Mal podían surgir tales discusiones si el factor principal para decidir una prescripción radicaba en la promoción comercial.

Y en ese ámbito el Estado tiene un rol fundamental. Es en este contexto que la presente obra adquiere su real dimensión y valor. Se trata de una contribución fundamental para promover la continua mejora de la calidad de todos los medicamentos.

El 2003 debe ser el año de la consolidación de la Política Nacional de Medicamentos. Una política activa y comprometida con el objetivo de promover el acceso a los medicamentos para toda la población Argentina. Iniciamos el año con un nuevo Formulario terapéutico Nacional y ahora profundizamos este esfuerzo a través de la elaboración de esta nueva edición de la Farmacopea Argentina.

Una vez más los convoco, al igual que al resto de nuestros compatriotas, a renovar el compromiso demostrado con una política pública que garantice a todos los argentinos el acceso a la salud.

Dr. Ginés González García

Ministro de Salud de la Nación

PRESENTACIÓN

La presente edición resuelve una deuda pendiente para con la comunidad científica, que requería imperiosamente el respaldo de un texto de referencia de esta envergadura. Efectivamente, esta Farmacopea Argentina se materializa luego de casi un cuarto de siglo de esfuerzos inconclusos.

En este trabajo se revisa el material existente y se incorporan los conocimientos científicos y técnicos actualizados a la luz de las innovaciones del sector, constituyéndose de esta forma en una herramienta de referencia permanente y permitiendo así asegurar la calidad de los medicamentos.

Este Volumen constituye el primer paso en pos de un objetivo mayor: la edición de los cuatro Volúmenes constituirán en su conjunto la Séptima Edición de la Farmacopea Argentina. La solidez de este proyecto se sustenta en el compromiso manifiesto de todos y cada uno de los que han contribuido de alguna manera a concretar este primer tramo.

Un reconocimiento especial merecen los Vocales de la Comisión Permanente, propuestos como máximos representantes de las Instituciones Académicas y Científicas de mayor renombre de nuestro país, que han desarrollado una exhaustiva labor cristalizando así este ejemplar.

Este producto es el resultado del esfuerzo mancomunado y desinteresado de un cuerpo de profesionales del más alto prestigio en el orden nacional e internacional, promovido y liderado por el Ministerio de Salud de la Nación, a través de su Agencia Regulatoria, Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (A.N.M.A.T.).

Es un honor para mí haber participado activamente en un emprendimiento de esta relevancia y un privilegio presentar una obra de la magnitud del Primer Volumen de la Séptima Edición de la Farmacopea Argentina, que sin duda será un referente de consulta para la comunidad internacional de habla hispana.

Una vez más mi más profundo agradecimiento a cada uno de los que han hecho posible esta publicación.

Dr. Manuel Rodolfo Limeres
*Presidente de la Comisión Permanente
Farmacopea Argentina*

FARMACOPEA ARGENTINA

OBJETIVOS

La finalidad principal de la Farmacopea Argentina es contribuir a promover la salud de la población, estableciendo normas de calidad para los productos empleados en la elaboración de medicamentos. Las normas y especificaciones contenidas en esta publicación son elemento de consulta indispensable para la Autoridad Sanitaria, para los elaboradores, para los profesionales de la salud, investigadores y docentes, todos ellos involucrados en el aseguramiento de la calidad que deben poseer los medicamentos para su empleo seguro por parte del paciente.

Sin embargo, construir la calidad de los medicamentos ya sea determinando las especificaciones y los controles de calidad que deben cumplirse, así como los límites de impurezas y los productos de degradación, etc., es una esforzada tarea que sólo pueda llevarse adelante en virtud del trabajo mancomunado de distintos sectores nucleados por una perspectiva sanitaria compartida. Esta edición de la Farmacopea Argentina resulta del meticuloso trabajo de equipos conformados por hombres y mujeres de reconocida trayectoria nacional e internacional. Entre ellos, farmacéuticos, químicos, bioquímicos, ingenieros y médicos, quienes contribuirán también con las actualizaciones contenidas en los próximos volúmenes. Su aporte es indispensable para armonizar la calidad de los medicamentos en toda la República, armonización que es, en verdad, la piedra basal para el uso seguro de los medicamentos.

Dra. Hela Beltramini
Coordinadora Técnica
Farmacopea Argentina

Dra. Karina Manco
Secretaria Técnica
Farmacopea Argentina

Dr. Carlos Chiale
Director Ejecutivo
Farmacopea Argentina

FARMACOPEA ARGENTINA

Historia de la Farmacopea Argentina

FARMACOPEA ARGENTINA SÉPTIMA EDICIÓN

Historia de la Farmacopea Argentina

Primeros antecedentes

Los primeros intentos para la reglamentación y control de las drogas y medicamentos en nuestro país se remontan al 9 de abril de 1822. En esta fecha Bernardino Rivadavia, mediante un decreto, reglamentó el ejercicio de la Medicina y la Farmacia, y estableció que "...la elaboración de las medicinas en las boticas será en todo arreglada a la Farmacopea Española cuarta edición". La influencia de la cultura francesa en la formación médico farmacéutica de aquella época, hizo que se adoptara posteriormente la Farmacopea Francesa.

Desde su fundación en 1856, la Asociación Farmacéutica Bonaerense, entidad origen de la actual Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica, trabajó afanosamente para conseguir una Farmacopea Nacional, llegando a proponer a las autoridades dos sucesivos proyectos, el de Miguel Puiggari en 1881 y el de Estanislao Zubieta, publicado en 1890 con el nombre: *Formulario Oficinal y Magistral, o Farmacopea Argentina*. Aunque no llegaron a oficializarse, estos antecedentes sirvieron para apresurar la decisión del Poder Ejecutivo Nacional de satisfacer esa sentida necesidad.

Primera Edición

Por proposición del entonces Presidente del Departamento Nacional de Higiene, Dr. José Ramos Mejía, y con fecha 30 de marzo de 1892, se nombró la primera Comisión Redactora de la Farmacopea Nacional Argentina, la que se constituyó de la siguiente forma: Presidente: Dr. Enrique E. del Arca, Vicepresidente: Dr. Atanasio Quiroga, Secretario: Dr. Tiburcio Padilla (h.), Vocales: Dres. Angel M. Centeno, Miguel Puiggari, Francisco P. Lavalle, Francisco C. Barraza y Enrique D. Parodi.

El 27 de noviembre de 1893, en consideración al texto original presentado por esta Comisión Redactora, el Honorable Congreso de la Nación dictó la Ley N° 3041, que se promulgó el 1° de diciembre de 1893, y en cuyo Art. 1° se declaró a esta obra como *Codex Medicamentarius* de la República Argentina, obligatorio para todas las farmacias establecidas en el territorio de la Nación. Esta edición se terminó de imprimir y entró en vigencia el 27 de noviembre de 1898, es decir cinco años después.

Segunda Edición

El 14 de setiembre de 1905 la Ley Nacional N° 4687 sobre el Ejercicio de la Farmacia y su Reglamentación, en su Art. 8° estableció la revisión quinquenal de la Farmacopea. La revisión de la Primera Edición fue propuesta por el entonces Presidente del Departamento Nacional de Higiene, Dr. Carlos C. Malbrán, quien indicó al Gobierno el nombramiento de la Comisión que podía encargarse de dicho trabajo.

El Poder Ejecutivo Nacional, por decreto del 16 de julio de 1909, nombró la Comisión propuesta por el Departamento Nacional de Higiene, siendo su presidente el Dr. Pedro Arata, y constituida además por Dres. Nicolás Greco y Jorge Magnin (Secretarios), y los Vocales: Dres. Francisco Barraza, Manuel Irizar, Juan A. Domínguez, Luis Agote, Francisco de Veyga, Ricardo Lema Maciel, Pedro Lacavera y Ricardo Schatz.

Esta Comisión reconoció vigente a los efectos legales las fórmulas de preparaciones y medicamentos, suprimidos de la Primera Edición, siempre que la fórmula no hubiera sido modificada e incluida en la Segunda Edición. Este criterio fue mantenido por las posteriores ediciones de nuestra Farmacopea.

Preparado el manuscrito de esta Segunda Edición, fue elevada en el mes de setiembre de 1913, sancionada con fuerza de Ley (N° 10.983) por el Congreso de la Nación el 30 de setiembre de 1919, y editada en el año 1921. Como esta edición se agotó a los pocos años de su aparición, fue necesario reimprimir una segunda tirada en 1928, a la que se designó erróneamente Tercera Edición.

Tercera Edición

En 1931, la Sociedad de Farmacología y Terapéutica de la Asociación Médica Argentina, a propuesta de dos de sus miembros: los Dres. Ignacio Ymaz y Alfredo J. Bandoni, de la Cátedra de Farmacología y Terapéutica de la Facultad de Ciencias Médicas de Buenos Aires, gestionó y obtuvo la creación de una Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina, con la finalidad esencial de redactar una nueva edición y mantenerla actualizada con suplementos.

El 17 de marzo de 1931 el Poder Ejecutivo Nacional dictó el Decreto por el que se creaba con carácter permanente una Comisión Honoraria para el estudio y revisión del *Codex Medicamentarius*. Se nombró para integrar dicha

Comisión a las siguientes personalidades de la época: *Presidente: Dr. Ignacio Ymaz, Vicepresidente: Dr. Bernardo A. Houssay, Secretario: Dr. Alfredo J. Bandoni, Vocales: Dres. Mario Soto, Fidel R. Alsina, Mariano R. Castex, Juan J. Spangenberg, Pascual Corti, Juan A. Sánchez, Tomás J. Rumi, Luis Rossi, Alfredo Sordelli, Jorge Magnin y Emilio Imaz.*

Esta Comisión creyó conveniente solicitar la colaboración para algunos puntos de sus respectivas especialidades a varios expertos, entre ellos los Dres. Venancio Deulofeu, Enrique Hug, José F. Molfino, Lorenzo Parodi, Ciro T. Rietti y Alberto Torino. Además tomó contacto con las Comisiones Redactoras de las Farmacopeas Norteamericana, Francesa y Británica de ese momento.

Esta Tercera Edición de la Farmacopea Argentina fue sancionada el 10 de octubre de 1941 por Ley N° 12.729, y editada en 1943, es decir 23 años después de la edición anterior.

Cuarta Edición

*El 23 de agosto de 1947, por Decreto N° 25.388 el Poder Ejecutivo de la Nación designó una Comisión para proyectar la Cuarta Edición de la Farmacopea Nacional Argentina: Se constituyó con los siguientes profesionales: *Presidente: Dr. Agustín Marenzi, Secretario: Dr. Alfredo J. Bandoni, y Vocales: Dres. Angel Bianchi Lischetti, Santiago A. Celsi, Nicolás A. Díaz, Reinaldo López Ramírez, José F. Molfino, Pablo Negroni, Julio J. Rossignoli y Luis De Prado. El 12 de diciembre de 1955, por Decreto N° 4944 se aprueba el proyecto de la Cuarta Edición, la que se edita el 2 de agosto de 1956, trece años después de la edición anterior.**

Quinta Edición

A partir de la década del 60, la Comisión Permanente de la Farmacopea Nacional Argentina gestionó reiteradamente la creación de un Instituto como sede de trabajo para las reuniones de la Comisión y para el contralor de la calidad de Drogas y Medicamentos. La Ley N° 16.463 del 23 de julio de 1964 creó el Instituto de Farmacología y de Normatización de Drogas y Medicamentos, y en el inciso c) de su Art. 14° se establece que dicho Instituto debe determinar para las drogas no incluidas en la Farmacopea Nacional Argentina las normas y condiciones que deben reunir, y proponer a la Comisión Permanente de la Farmacopea modificaciones a las normas en vigencia oficial. Sin embargo, una vez establecido el edificio de este Instituto, el

mismo no alcanzó para albergar la sede de la Farmacopea.

La Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina fue modificada en su estructura por el Decreto N° 21.886 del Poder Ejecutivo Nacional, en consideración a la complejidad de tareas que debía desarrollar, y en función de los continuos adelantos surgidos en las ciencias farmacéuticas, lo que exigía cada vez más una labor en equipo con características multidisciplinarias. Por estos motivos redujo el número de sus integrantes de quince a cuatro: un médico y tres farmacéuticos o farmacéuticos y bioquímicos, quedando autorizada para proponer las designaciones de los miembros de una Comisión asesora, erróneamente denominada Redactora, a los fines de colaborar en la preparación de los anteproyectos de monografías. El 11 de agosto de 1958, por Decreto N° 3819, el Presidente de la Nación designó miembros de la nueva Comisión Permanente de la Farmacopea Nacional Argentina a los Dres. Luis E. Camponovo (médico) y a los bioquímicos y farmacéuticos Dres. Agustín D. Marenzi, Julio Rossignoli y Alfredo J. Bandoni. El 4 de octubre de 1966, por Ley N° 16.969 se aprobó el proyecto de la Quinta Edición, es decir 10 años después de editada la Cuarta Edición.

Sexta Edición

Por renuncia del Dr. Agustín D. Marenzi a la Comisión Permanente, motivada por su jubilación, fue designado el Dr. Felipe Manjón el 23 de Junio de 1969, quien a su vez fue reemplazado por el Dr. Mateo Chekerdemián a partir del 30 de julio de 1976. Por fallecimiento del Dr. Luis E. Camponovo, fue designado el Dr. Enrique M. Villa el 13 de Junio de 1972, y al fallecer el Dr. Rossignoli, fue designado el Dr. Francisco Cruz el 20 de octubre de 1977.

El 6 de octubre de 1978, por Ley N° 21.885, se aprobó el texto de la Sexta Edición, presentada por la siguiente Comisión Permanente: Dres. A. J. Bandoni, M. Chekerdemián, F. Cruz y E. M. Villa.

Suplementos de la Sexta Edición

Al poco tiempo de editada esta Edición, la Comisión Permanente comenzó a trabajar para la 7° Edición. Lo primero que realizó fue la selección de un listado de destacados profesionales para constituir la nueva Comisión Redactora, que quedó integrada por 65 expertos distribuidos en 12 Subcomisiones. Estas designaciones se hicieron efectivas mediante Resolución Ministerial N° 3160 del 29 de diciembre de 1982. Con el propósito de no

esperar el largo tiempo que siempre demandó una nueva edición, se decidió actualizar aspectos parciales de la Farmacopea mediante suplementos. Es así que se comenzó con el 1º Suplemento sobre Radiactividad, Radiofármacos y Radioesterilización, con la colaboración especial de los profesionales de la Comisión Nacional de Energía Atómica, Dres. Rafael Rodríguez Pasques, Aldo Mitta y Enrique Mariano. Este Suplemento fue sancionado el 1º de febrero de 1983 por la Ley N° 22.729. Un segundo suplemento para la actualización de los temas Sueros y Vacunas, que fuera redactado con la colaboración de las Dras. Ruth Cetrángolo y M. Scheffer, y otros capítulos como Antibióticos, y Análisis Estadísticos de los Resultados de Ensayos Biológicos, no llegaron a elevarse para su aprobación, debido a diversas reestructuraciones ministeriales que relegaron estas gestiones. Se desarticuló así durante varios años la estructura legal que sustentaba el accionar de la Comisión Permanente existente. Sin embargo, durante este lapso la misma fue requerida como tal reiteradamente por el Ministerio de Salud, para tareas de asesoramiento e integración de comisiones de trabajo.

Séptima Edición

El 22 de julio de 1996, mediante la Resolución N° 297 del Ministerio de Salud de la Nación, se encomendó a la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) la integración y reactivación del funcionamiento de la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina, la que tendría su sede en dicho organismo. Dicha Comisión estaría integrada por el Dr. Pablo Bazerque, Presidente; Dr. Carlos Chiale, Director Ejecutivo; Dr. Horacio Pappa; Secretario Ejecutivo y los vocales, Dra. María Teresa Pizzorno; Dra. María Martínez Bertorello; Dr. Andrés Stoppani; Dr. Ramón A. Torres; Dr. Modesto Rubio.

Luego de varios años de trabajo, la destacada Comisión es disuelta y se designa una Comisión transitoria cuyo periodo de trabajo es muy corto. Por intermedio del Dr. Manuel Limeres y bajo el mandato del Dr. Ginés González García, Ministro de Salud de la Nación, a través de la Disposición N° 1535/2002, se logra reactivar este proyecto y se designan a los miembros de la Comisión Permanente, realizadora de este primer volumen, integrada por el Dr. Manuel Limeres, Presidente; Dr. Carlos Chiale, Director Ejecutivo; Dra. Karina Manco, Secretaria Técnica, Dra. Hela Beltramini, Coordinadora Técnica y los vocales

Dr. Pablo Mario Bazerque, Dr. Arnaldo Luis Bandoni, Dra. María Teresa Pizzorno, Dra. María Guillermina Volonté, Dr. Teodoro S. Kaufman, Dr. Mario A. Copello, Dr. Rubén Manzo, Dr. Eloy Mandrile, Dr. Modesto Rubio, Dr. Edgardo Poskus, Dr. Sem M. Albonico, Dr. Juan M. Dellacha, Dr. Norberto A. Terragno.

Vocales de la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina

COMPOSICION DE LAS SUBCOMISIONES TECNICAS DE LA FARMACOPEA ARGENTINA

Aguas y Soluciones Parenterales

Coordinador: **Farm. Silvetti, Alfredo.**

Farm. Colombari, Daniel; Dr. Dal Bo, Héctor; Lic. Duda, Guillermo; Farm. Goin, José Alberto; Farm. Montes de Oca, Federico; Lic. Petracca Antonia; Farm. Ploder, Peter; Farm. Puebla, Ignacio; Farm. Stampone, Patricia; Farm. Szyszkowsky, Juiz Rubén; Lic. Vedoya, Gabriela Silvia.

Bioequivalencia y Disolución

Coordinador: **Farm. Pesce, Graciela.**

Dra. Bignone, Inés; Dr. Bolaños, Ricardo; Dr. Bramuglia, Guillermo; Dr. De Leone, Héctor; Farm. Giarcovich, Silvia; Dr. Pesce, Guido; Farm. Rey, Andrea; Dr. Seoane, Martín; Farm. Steeman, Gabriela; Farm. Zubata, Patricia.

Biotecnología

Coordinador: **Dra. Dabsys, Susana.**

Lic. García Franco, Susana; Dra. Giampaolo, Beatriz; Dr. Giuliani, Héctor; Farm. Goyogana, Francisco; Lic. Mammarella, Carlos; Lic. Ostrowski, Héctor; Bioq. Pardo, Verónica; Dr. Seigelchifer, Mauricio.

Colorantes, Excipientes y Aditivos

Coordinador: **Lic. Ciura, Juan M. Emilio.**

Dra. Brunet, Noemí; Dra. Bustos, Mónica; Dr. Corseti, Héctor; Dra. Dabbene, Viviana; Dr. Dobrecky, José; Dr. Ferrari, Jorge; Dr. Jacobi, Carlos; Dra. Rivas, Viviana; Dr. Rubio García, Rodolfo; Lic. Taschetti, Mabel; Dra. Valiese, María Cristina.

Controles Toxicológicos

Coordinador: **Dr. Roses, Otmaro E.**

Dr. Araldi, Héctor; Bioq. Bindstein, Edith; Dra. Bulgach, Delia; Dra. Fulginiti, Ana Susana; Dra. López, Clara; Dr. Pico, José Carlos; Dra. Salseduc, Marta.

Ensayos Farmacotécnicos y Envases

Coordinador: **Lic. Praturlon, María L.**

Ing. Ariosti, Alejandro; Lic. Bava, Adriana; Dra. Calandri, Daniela; Dr. Ciccio, Enrique; Dra. Lavaselli, Susana; Bioq. Luna Julio; Dr. Nacucchio, Marcelo; Dr. Porta, Raúl; Lic. Sánchez, Eduardo; Lic. Vega, Julio César; Lic. Zanetti, Daniel.

Estabilidad

Coordinador: **Lic. Spinetto, Marta.**

Dra. Blanco, Mirta; Dra. Briñon, Margarita; Lic. Dall, Luis; Lic. Gorisknik, Adriana; Dra. Nudelman, Norma; Farm. Pilatti, Carina.

Farmacia Hospitalaria

Coordinador: **Farm. y Bioq. Fernández, María Cristina.**

Bioq. Bernal Castro, Federico; Lic. Fernández, María Laura; Dra. Filinger, Ester; Farm. García, Angélica; Farm. Hermida, Miguel; Dr. Lagomarsino, Eduardo; Lic. Melero, Marcia; Farm. Menéndez, Ana María; Dr. Montemerlo, Hugo; Dra. Pita Martín de Portela, María Luz; Farm. Raviolo, Rodolfo; Dra. Slobodianik de Gurevich, Haydeé; Dra. Soifer, Graciela.

Farmacia Oficial

Coordinador: **Farm. Ruggeri, José.**

Farm. Andiñach, Guido; Farm. Callegari, Fernando; Farm. Fitanovich, Nora; Farm. Fridman, Gerardo; Farm. González, Ana María; Farm. Julián, Silvia; Farm. Maino, Héctor; Farm. Mollardo, María Teresa; Farm. Paura, Andrea; Farm. Policelli, Gabriela; Farm. Quiroga, Eduardo; Farm. Rencoret, María Mercedes; Farm. Salas, Vivian; Farm. Torres, Hugo; Farm. Valverde, Javier.

Gases Medicinales

Coordinador: **Dr. Marceca, Ernesto.**

Farm. Arcos, Marcelo; Farm. Bernaus, Carlos; Dr. Fischer, Alfredo; Farm. Tourville, Antonio; Dra. Zavala, Estela.

Materiales de Uso Quirúrgico y Dispositivos Biomédicos

Coordinador: **Dra. Sager de Agostini, Helga G.**

Farm. Carbone, Nora; Ing. De Forteza, Eduardo; Dra. González, María Celeste; Farm. Graña, Nora; Farm. Iervasi, Liliana; Farm. y Bioq. Olivera de O'Connell, Lucía; Farm. Peralta, Laura; Ing. Saba, Fernando; Dra. Tarletta, Patricia.

Medicamentos Fitoterápicos

Coordinador: **Dra. Ferraro, Graciela.**

Dra. Agnese, Alicia; Dr. Amat, Aníbal; Dr. Cabrera, José Luis; Dra. Debenedetti, Silvia; Dra. Flores, María Luján; Dra. Gattuso, Martha; Dra. Gattuso, Susana; Dr. Gurni, Alberto; Farm. Lenzi, María; Dra. Nadinic, Elena; Dra. Rizzo, Inés; Dr. Rondina, Rubén; Dra. Spegazzini, Etilé; Dr. Taira, Carlos; Dr. Wagner, Marcelo.

Microbiología

Coordinador: **Lic. Frade, Horacio.**

Dra. Albesa de Eraso, Inés; Farm. Arakaki, Regina; Farm. Balanian, Gladys; Dra. Belixán, Norma; Farm. Calvete, Javier; Lic. Lagomarsino, Mónica; Dra. Montrasi, Gabriela; Farm. Raffo Palma, Martha; Farm. Salazar, Germán; Dr. Sordelli, Daniel; Farm. Valdivia Aguilar, Pamela.

Productos y Métodos Biológicos, y Análisis Estadístico

Coordinador: **Bioq. Albertengo, María Elisa.**

Farm. Francinelli, Luisa; Dra. Gorzalczany, Susana; Bioq. Mondelo, Nélide; Dra. Niselman, Ada; Farm. Nisenbaum, Isaac.

Area de Sangre y hemoderivados.

Coordinador: **Dra. Rossi Marina.**

Bioq. Barrovecchia de Dehó, Ana; Dra. Caminos, Andrea; Bioq. y Farm. Drucarof, María Alejandra; Lic. Oliva, Liliana; Dra. Sobrero, Cecilia; Dr. Zarzur, Jorge.

Area de Sueros y vacunas.

Coordinador: **Dr. Margni, Ricardo.**

Dr. Dokmetjian, José; Dra. Manghi, Marcela; Dra. Pérez, Analía.

Química Analítica de Medicamentos 1

Coordinador: **Lic. Larrinaga, Alicia.**

Lic. Abelaira, Sara; Lic. Diez, María Ester; Dra. Domínguez, Silvia; Farm. Guazzotti, Sandra; Farm: Lynch, Josefina; Lic. Ponce, Claudia; Lic. Pozzo, María del Carmen; Dr. Rivas, Raúl; Farm. Varela López, Ramón; Farm. Vessuri, María.

Química Analítica de Medicamentos 2

Coordinador: **Dra. Carducci, Clyde.**

Dra. Castellano, Patricia; Lic. Centrone, Claudio; Farm. Faroppa, María; Farm. Fernández Otero, Germán; Dra. Hoyos de Rossi, María; Dra. Longhi, Marcela; Dra. Lucangioli, Silvia; Dra. Palacios de Ortiz, Sara; Bioq. Robles, Juan; Bioq. y Farm. Viñas, María.

Química Analítica de Medicamentos 3

Coordinador: **Lic. Ercolano, Irma.**

Dra. Alassia de Torres, Liliana; Dr. Blanc, José; Farm. y Bioq. Ceresole, Rita; Farm. Fariña, Mirta; Farm. Gabor, Juliana; Farm. Grimoldi, Alberto; Farm. Menéndez, Viviana; Dra. Segall, Adriana; Dra. Serrao, Rosa, Lic. Zinni, Elvira.

Química Analítica de Medicamentos 4

Coordinador: **Dr. Pappa, Horacio.**

Dra. Barros, Carmen; Lic. Chiarelli, Silvia; Lic. Luque, Graciela; Dr. Marinaro, Bautista; Farm. Pinet, Ana María; Dra. Piñeyro, Luisa; Dr.

Quatrocchi, Oscar; Farm. Rodríguez, Eduardo; Dr. Sproviero, Jorge.

Radiofármacos

Coordinador: **Dr. Caro, Ricardo.**

Bioq. Aprea, Patricia; Dra. Bergoc, Rosa; Dr. Durán, Adrián; Dra. Fraga de Suárez, Amanda; Farm. Nicolini, Jorge; Dra. Rutty, Gisela; Farm. Zubillaga, Marcela.

Secretaría Técnica

Secretaria Técnica: Farm. Karina Andrea Manco.

Revisores Técnicos: Compagnucci, María Paula; De Angelis, María Celeste; Policastro, Andrea Verónica.

zzz

TEXTOS LEGALES

LEGISLACION NACIONAL VIGENTE,

SOBRE MEDICAMENTOS

LEY N° 16.463

El Senado y Cámara de Diputados de la Nación Argentina, reunidos en Congreso, etc., sancionan con fuerza de ley:

Art. 1° — Quedan sometidos a la presente ley y a los reglamentos que en su consecuencia se dicten, la importación, exportación, producción, elaboración, fraccionamiento, comercialización o depósito en jurisdicción nacional o con destino al comercio interprovincial de las drogas, productos químicos, reactivos, formas farmacéuticas, medicamentos, elementos de diagnóstico y todo otro producto de uso y aplicación en la medicina humana y las personas de existencia visible o ideal que intervengan en dichas actividades.

Art. 2° — Las actividades mencionadas en el artículo 1° sólo podrán realizarse, previa autorización y bajo el contralor del Ministerio de Asistencia Social y Salud Pública, en establecimientos habilitados por el mismo y bajo la dirección técnica del profesional universitario correspondiente, inscripto en dicho Ministerio. Todo ello en las condiciones y dentro de las normas que establezca la reglamentación, atendiendo a las características particulares de cada actividad y a razonables garantías técnicas en salvaguarda de la salud pública y de la economía del consumidor.

Art. 3° — Los productos comprendidos en la presente ley deberán reunir las condiciones establecidas en la Farmacopea Argentina y, en caso de no figurar en ella; las que surgen de los patrones internacionales y de los textos de reconocido valor científico.

El titular de la autorización y el director técnico del establecimiento serán personal y solidariamente responsables de la pureza y legitimidad de los productos.

Art. 4° — No podrá autorizarse la instalación de nuevos laboratorios y se cancelarán los permisos de los existentes, cuando no elaboren sus propios productos y sus actividades se limiten a envasar especialidades preparadas por terceros.

Art. 5° — Los medicamentos que se expendan al público en su envase deberán reunir las condiciones técnicas de identificación u otras que establezca la reglamentación. Ésta determinará, asimismo, teniendo en cuenta la naturaleza o

peligrosidad del uso indebido de los medicamentos, la condición de su expendio, que podrá ser: libre, bajo receta, bajo receta archivada y bajo receta y decreto.

Art. 6° — El Ministerio de Asistencia Social y Salud Pública podrá exigir la utilización, en los productos a que se refiere el artículo 5°, de envases de contenido máximo y mínimo, de acuerdo con la naturaleza de los mismos y normas de tratamiento, así como procedimientos para su fraccionamiento, distribución y expendio, que permitan una economía en la medicación, resguardando los intereses de la salud pública.

Art. 7° — Las autorizaciones para elaborar y vender los productos mencionados en el artículo 5° se acordarán si, además de las condiciones establecidas en dicha norma, reúnen ventajas científicas, terapéuticas, técnicas o económicas. Dichas autorizaciones y sus reinscripciones tendrán vigencia por el término de cinco años, a contar de la fecha de certificado autorizante.

El Ministerio de Asistencia Social y Salud Pública procederá a inscribir o reinscribir como medicamentos industriales, aquellos productos que, a su juicio, no corresponda autorizar como especialidades medicinales. En tal caso, el precio de venta de los productos inscriptos como medicamentos industriales no podrá exceder del que determine dicho Ministerio.

El interesado deberá requerir la reinscripción dentro de los treinta días anteriores a su vencimiento.

Art. 8° — Las autorizaciones de elaboración y venta serán canceladas:

- a) A pedido del titular;
- b) Por cualquier modificación, alteración o incumplimiento de las condiciones de la autorización;
- c) Por vencimiento del lapso establecido en el artículo 7°; y
- d) Cuando el producto no mantenga finalidades terapéuticas útiles, acordes con los adelantos científicos.

Art. 9° — El Ministerio de Asistencia Social y Salud Pública clasificará los productos comprendidos en el artículo 5° según la naturaleza, composición, actividad, acción farmacológica y procedimientos farmacotécnicos de preparación, estableciendo condiciones para su autorización, acordes con los adelantos científicos reconocidos, los intereses de la salud pública y la defensa económica del consumidor.

Art. 10° — El Ministerio de Asistencia Social y Salud Pública redactará, publicará y revisará periódicamente el Formulario Terapéutico Nacional, el que contendrá la recopilación de fórmulas magistrales de uso frecuente y de acción farmacológica y utilidad terapéutica reconocidas.

Art. 11° — Dependiente del Ministerio de Asistencia Social y Salud Pública, actuará la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina, que la revisará periódicamente, de acuerdo con el progreso de la ciencia y asesorará a los organismos públicos en las materias de su competencia.

Art. 12° — El Poder Ejecutivo establecerá las normas reglamentarias para la importación, exportación y fabricación; fraccionamiento, circulación y expendio de las sustancias toxicomanígenas en concordancia con los convenios internacionales, dictando todas las medidas aconsejables para la defensa de la salud pública, el contralor de las toxicomanías y del tráfico ilegal y la satisfacción de las necesidades terapéuticas, regulando los permisos de cultivo para la extracción nacional de drogas, estupefacientes, acordando los cupos de fabricación y de importación cuando esta sea necesaria.

Art. 13° — El Ministerio de Asistencia Social y Salud Pública está facultado para proceder al retiro de muestras de los productos mencionados en el artículo 1° a los efectos de verificar si los mismos se ajustan a lo autorizado y declarado y si reúnen las condiciones prescriptas en la presente ley y sus normas reglamentarias.

Art. 14° — Créase el Instituto de Farmacología y de Normalización de Drogas y Medicamentos destinado a:

- a) Efectuar el análisis y contralor farmacológico de las drogas, medicamentos, productos dietetoterápicos, cosmetológicos, aguas minerales y otros productos, cuya administración pueda afectar la salud humana, percibiendo los derechos arancelarios que fije la reglamentación;

- b) Estudiar y proponer las normas técnicas generales que deben reunir los productos enunciados en el inciso a);
- c) Determinar para las drogas no incluidas en la Farmacopea Argentina, las normas y condiciones que deben reunir y proponer a la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina, modificaciones a las normas en vigencia oficial,
- d) Establecer las normas y condiciones a que deberá ajustarse la preparación y la conservación de los patrones nacionales de drogas y medicamentos;
- e) Realizar y promover la investigación integral en el campo de la farmacología en general y, de manera especial, referida a la indagación de las riquezas naturales nacionales;
- f) Realizar los trabajos técnicos que le soliciten personas o instituciones públicas o privadas, mediante los recaudos y la percepción de los derechos arancelarios que fije la reglamentación.

Los derechos arancelarios referidos en los incisos a) y f) ingresarán al Fondo Nacional de la Salud, con destino al mencionado Instituto.

Art. 15° — Facúltase al Poder Ejecutivo para invertir hasta la suma de cien millones de pesos moneda nacional (m\$N 100.000.000). que se tomarán de rentas generales con imputación a esta ley, para organizar y poner en funcionamiento el Instituto de Farmacología y de Normalización de Drogas y Medicamentos, como organismo del Ministerio de Asistencia Social y Salud Pública, cuyas funciones se especifican en el artículo anterior.

Art. 16° — Los inspectores o funcionarios autorizados por el Ministerio de Asistencia Social y Salud Pública tendrán la facultad de penetrar en los locales, habilitados o no, donde se ejerzan actividades comprendidas en la presente ley.

Art. 17° — Los jueces, con habilitación de día y hora, acordarán de inmediato a los funcionarios designados por la autoridad de aplicación, la orden de allanamiento y el auxilio de la fuerza pública para practicar las inspecciones a que se refiere el artículo anterior.

También con habilitación de día y hora y con el auxilio de la fuerza pública, procederán a adoptar las medidas preventivas autorizadas por el artículo 18°, emplazando al presunto infractor a comparecer a su despacho dentro del término de tres días hábiles, a un comparendo verbal, al que también

deberá concurrir el funcionario que solicitó la medida. El presunto infractor podrá concurrir asistido por su letrado. En dicho comparendo se oirán las defensas y se recibirán las pruebas ofrecidas.

La inasistencia del infractor, sin previa justificación, convertirá en firme la medida decretada. Dentro de las 48 horas de celebrado el comparendo verbal, el juez resolverá mantener o revocar la medida preventiva. Su resolución es apelable con efecto devolutivo.

Art. 18° — Si se incurriera en actos u omisiones que, a juicio del Ministerio de Asistencia Social y Salud Pública, constituyeran un peligro para la salud de las personas, podrá solicitar a la autoridad judicial la clausura, total o parcial, de los locales en que los mismos ocurrieron, la suspensión de la elaboración y expendio de los productos cuestionados y la intervención técnica, total o parcial, de los procesos de elaboración y producción incriminados.

Dichas medidas no podrán tener una duración mayor de 90 días hábiles.

Art. 19° — Queda prohibido:

- a) La elaboración, la tenencia, fraccionamiento, circulación, distribución y entrega al público de productos impuros o ilegítimos;
- b) La realización de cualquiera de las actividades mencionadas en el artículo 1° en violación de las normas que reglamentan su ejercicio conforme a la presente ley;
- c) Inducir en los anuncios de los productos de expendio libre a la automedicación;
- d) Toda forma de anuncio al público, de los productos cuyo expendio sólo haya sido autorizado "bajo receta";
- e) Vulnerar, en los anuncios, los intereses de la salud pública o la moral profesional;
- f) Violar, en los anuncios, cualquier otro requisito exigido por la reglamentación.

Art. 20° — Las infracciones a las normas de la presente ley y su reglamentación serán sancionadas:

- a) Con apercibimiento;
- b) Con multas de m\$N 2.000 a m\$N 5.000.000;
- c) Con la clausura, total o parcial, temporal o definitiva, según la gravedad de la causa o reiteración de la misma, del local o establecimiento en que se hubiera cometido la infracción;

- d) Suspensión o inhabilitación en el ejercicio de la actividad o profesión hasta un lapso de tres años en caso de extrema gravedad o múltiple reiteración de la o de las infracciones, la inhabilitación podrá ser definitiva;
- e) El comiso de los efectos o productos en infracción, o de los compuestos en que intervengan elementos o sustancias cuestionados;
- f) La cancelación de la autorización para vender los productos.

El producido de las multas ingresará al Fondo Nacional de la Salud.

Art. 21° — Si se considera que existe una infracción de las previstas en el artículo 19°, se dará vista al interesado, por el término de tres días hábiles, para que oponga sus defensas y ofrezca toda su prueba, acompañando la documental. Sustanciada la prueba en el plazo de diez días hábiles se dictará resolución en el término de tres días hábiles, la que será apelable en el término de tres días hábiles.

En la apelación se expresarán los correspondientes agravios y con ellos se elevará el expediente cuando proceda, a la magistratura judicial correspondiente.

Los plazos a los que se refiere el presente artículo son perentorios y prorrogables solamente por razón de la distancia.

Las resoluciones del Ministerio de Asistencia Social y Salud Pública, por las que se impongan apercibimiento y multas de m\$N 2.000, harán cosa juzgada.

Art. 22° — El que adulterare alguno de los productos comprendidos en la presente ley, en cualquiera de sus etapas, se hará pasible de las penalidades establecidas en el Capítulo IV, Título VII, Delitos Contra la Seguridad Pública, artículo 200° y sus correlativos del Código Penal.

Art. 23° — En el caso de que las multas impuestas, una vez consentidas, no fueran satisfechas, el Ministerio de Asistencia Social y Salud Pública promoverá por vía de apremio la pertinente acción judicial ante los jueces en lo Penal Económico, en jurisdicción nacional y en otras jurisdicciones ante los jueces federales de sección.

Art. 24° — Las acciones emergentes de esta ley prescribirán en el término de cinco años. Dicha prescripción quedará interrumpida por la secuela del proceso, o por la comisión de cualquier otra infracción a la presente ley o a los reglamentos que en su consecuencia se dicten.

Art. 25° — Deróganse todas las disposiciones que se opongan a la presente ley.

Disposiciones transitorias

Art. 26° — Las autorizaciones a que se refiere el artículo 7°, acordadas con anterioridad a la presente ley deberán ser renovadas por el término de cinco años, debiendo los interesados solicitarlo dentro de los plazos y con las condiciones que establezca la reglamentación.

Art. 27° — Comuníquese al Poder Ejecutivo.

Dada en la Sala de Sesiones del Congreso Argentino, en Buenos Aires, a veintitrés de julio de mil novecientos sesenta y cuatro.

Nota: reglamentada por Decreto N° 9.763/64, complementada y modificada por Decreto N° 341/92, Disposición N° 1.680/94, Decreto N° 2.505/75.

DECRETO N° 150/92

(Texto ordenado de acuerdo con las modificaciones de los Decretos N° 1.890/92 y 177/93)

CAPÍTULO I

Ámbito de aplicación

Artículo 1° – El presente decreto se aplicará al registro, elaboración, fraccionamiento, prescripción, expendio, comercialización, exportación e importación de medicamentos.

A los fines del presente decreto se adoptan las siguientes definiciones:

- a) Medicamento: toda preparación o producto farmacéutico empleado para la prevención, diagnóstico y/o tratamiento de una enfermedad o estado patológico, o para modificar sistemas fisiológicos en beneficio de la persona a quien se le administra;
- b) Principio activo o droga farmacéutica: toda sustancia química o mezcla de sustancias relacionadas, de origen natural o sintético, que poseyendo un efecto farmacológico específico, se emplea en medicina humana;
- c) Nombre genérico: denominación de un principio activo o droga farmacéutica o; cuando corresponda, de una asociación o combinación de principios activos a dosis fijas, adoptada por la autoridad sanitaria nacional o, en su defecto, la denominación común internacional de un principio activo recomendada por la Organización Mundial de la Salud;
- d) Especialidad medicinal o farmacéutica: todo medicamento, designado por un nombre convencional, sea o no una marca de fábrica o comercial, o por el nombre genérico que corresponde a su composición y contenido, preparado y envasado uniformemente para su distribución o expendio, de composición cuantitativa definida declarada y verificable, de forma farmacéutica estable y de acción terapéutica comprobable.

CAPÍTULO II

Registro de medicamentos autorizados

Art. 2° – la comercialización de especialidades medicinales o farmacéuticas en el mercado local

estará sujeta a la autorización previa de la autoridad sanitaria nacional. Las especialidades medicinales o farmacéuticas autorizadas para su expendio en el mercado nacional serán las inscriptas en un registro especial en el Ministerio de Salud y Acción Social, de acuerdo a las disposiciones del presente decreto y su reglamentación. Prohíbese en todo el territorio nacional la comercialización o entrega a título gratuito de especialidades medicinales o farmacéuticas no registradas ante la autoridad sanitaria, salvo las excepciones que de acuerdo a la reglamentación disponga la autoridad sanitaria.

Art 3° – Las solicitudes de inscripción al Registro de especialidades medicinales o farmacéuticas autorizadas, deberán incluir la siguiente información, con carácter de declaración jurada:

- a) Del producto: nombre propuesto para el mismo; fórmula definida y verificable; forma o formas farmacéuticas en que se presentará; clasificación farmacológica, haciendo referencia al número de código, si existiera, de la clasificación internacional de medicamentos de la Organización Mundial de la Salud (OMS); condición de expendio;
- b) Información técnica: método de control; período de vida útil, método de elaboración en conformidad con las prácticas adecuadas de fabricación vigentes, datos sobre biodisponibilidad del producto;
- c) Proyectos de rótulos y etiquetas que deberán contener las siguientes inscripciones: nombre del laboratorio, dirección del mismo, nombre del Director técnico, nombre del producto y nombre genérico en igual tamaño y realce; fórmula por unidad de forma farmacéutica o porcentual, contenido por unidad de venta; fecha de vencimiento, forma de conservación y condición de venta, número de partida y serie de fabricación; y la leyenda “Medicamento Autorizado por el Ministerio de salud y acción Social certificado N°”;
- d) Proyecto de prospectos que reproducirán: las inscripciones no variables de los rótulos y etiquetas; la acción o acciones farmacológicas y terapéuticas que se atribuyen al producto con indicaciones clínicas precisas y con

advertencias, precauciones y, cuando corresponda, de antagonismos, antidotismos e interacciones medicamentosas y de los efectos adversos que puedan llegar a desencadenar, posología habitual y dosis máximas y mínimas, forma de administración, presentaciones;

- e) En el caso de especialidades medicinales o farmacéuticas importadas de los Países incluidos en el Anexo II que forma parte integrante del presente, además de la información requerida en los incisos precedentes, deberá acompañarse un certificado de la autoridad sanitaria del país de origen, emitido de conformidad a la Resolución W.H.A. 41.18.1988 de la Asamblea Mundial de la Salud, o la que la sustituya.

Asimismo la elaboración de dichas especialidades medicinales o farmacéuticas deberán ser realizadas en laboratorios farmacéuticos cuyas plantas resulten aprobadas por Entidades Gubernamentales de Países consignados en el Anexo I del Decreto N° 150/92 o por la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social y que cumplan los requisitos de normas de elaboración y control de calidad, exigidos por la autoridad sanitaria nacional. La verificación de las plantas elaboradoras será efectuada por la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social dentro de los sesenta (60) días de presentada la solicitud de inscripción respectiva. Los gastos que insuman las inspecciones de las plantas serán sufragados en su totalidad por la citada Secretaría con el fondo correspondiente a los aranceles del Registro de Especialidades Medicinales. Los medicamentos a importarse desde Países incluidos en el Anexo II al presente deberán estar autorizados y comercializándose en los países de origen, en forma previa a su solicitud de registro o importación ante la autoridad sanitaria nacional. La integración de los Países en la nómina de dicho Anexo, no habilitará a terceros países a solicitar su inclusión dentro del mismo, en virtud de la existencia de cláusulas de Nación más favorecida, instituida por convenios internacionales suscriptos por nuestro país.

A partir de la presentación de la solicitud de inscripción, de la especialidad medicinal, el Ministerio de Salud y Acción Social tendrá un plazo de ciento veinte (120) días corridos para expedirse, con excepción de los casos encuadrados en los regímenes de los artículos 4° y 5° del presente decreto.

En el caso de las solicitudes de Registro de importación de especialidades medicinales elaboradas en los Países incluidos en el Anexo II al presente, dicho plazo será considerado a partir de la verificación de la planta elaboradora. El régimen del presente artículo será comprensivo para:

- I) Las solicitudes de registro de especialidades medicinales a elaborarse en nuestro país y aquellas a importarse de Países incluidos en el Anexo II que resulten similares a otras ya inscriptas en el Registro; y
- II) Las solicitudes de registro de especialidades medicinales a elaborarse en nuestro país, autorizadas para su consumo público en al menos uno de los Países que integran el Anexo I del Decreto N° 150/92 aun cuando se tratara de una novedad dentro del Registro de la Autoridad Sanitaria.

El plazo de vigencia de la autorización, de acuerdo al artículo 7° de la Ley N° 16.463, podrá ser prorrogado a su término, cuando se otorgara la reinscripción del producto, mediando solicitud del interesado a tal efecto.

Art. 4° — Las especialidades medicinales autorizadas para su consumo público en el mercado interno en al menos uno de los Países que se indican en el Anexo I del presente decreto, podrán inscribirse para su importación en el Registro de la autoridad sanitaria nacional. Dicha inscripción tendrá carácter automático, debiendo el interesado presentar la certificación oficial vigente de dicha autorización, la documentación indicada en los incisos *c)* y *d)* del artículo precedente y los datos referidos a la biodisponibilidad.

Los registros efectuados bajo el régimen de este artículo, se otorgarán sólo para la importación y comercialización en el país, de dichas especialidades medicinales.

El registro de las especialidades medicinales similares o bioequivalentes a las que se importen por el presente artículo y que quieran elaborarse localmente y comercializarse en el país, deberá efectuarse conforme al régimen establecido en el artículo 3° del presente decreto.

Art. 5° — Tratándose de solicitudes de inscripción de especialidades que se presenten al Registro para:

- a) Elaborarse por la industria local y que fueran una novedad en nuestro país, salvo la excepción prevista en el artículo 3° para aquellas especialidades

autorizadas en algún/os de los Países del Decreto N° 150/92;

- b) Importarse de un país del Anexo II al presente y cuando la especialidad, si bien autorizada y consumida en el país de origen, no tuviera similares inscriptas en el Registro de la autoridad sanitaria nacional;
- c) Importarse siendo productos manufacturados en países no incluidos en el Anexo I del Decreto N° 150/92 ni en el Anexo II del presente y no estuviesen autorizados para ser consumidos en alguno de los países del Anexo I del Decreto N° 150/92.

Deberán acompañar para su tramitación la información requerida por el artículo 3° y la documentación que acredite la eficacia e inocuidad del producto para el uso propuesto.

Art. 6° — El Ministerio de Salud y Acción Social, establecerá y publicará:

- a) El listado de medicamentos genéricos autorizados, clasificados farmacológicamente, con indicación de sus formas farmacéuticas, contenido o composición dentro de los cuarenta y cinco (45) días de la publicación del presente decreto.
- b) El listado de especialidades medicinales registradas agrupadas según el listado de genéricos autorizados dentro de los sesenta (60) días de la publicación del presente.

En el caso de medicamentos que sean una asociación o combinación de diversos componentes o drogas, el Ministerio de Salud y Acción Social determinará las correspondencias con la o las denominaciones por nombre genérico.

CAPITULO III.

Producción, elaboración y fraccionamiento de drogas y medicamentos

Art. 7° — Los establecimientos dedicados a la producción o fraccionamiento de medicamentos y de drogas destinadas a ser utilizadas en la preparación de medicamentos deberán:

- a) Funcionar bajo la dirección técnica de profesionales universitarios farmacéuticos o químicos u otros profesionales con títulos habilitantes, según la naturaleza de los productos.

- b) Disponer de locales e instalaciones adecuados a la naturaleza de los productos a fabricar o fraccionar;
- c) Disponer de equipos y elementos de prueba normalizados para el ensayo, contralor y conservación de los productos;
- d) Asegurar condiciones higiénico sanitarias de acuerdo con las necesidades y requisitos de los procesos de elaboración o fraccionamiento;
- e) Respecto a las drogas que determine la reglamentación del presente, llevar los libros de fabricación, control y egreso y protocolos por partida, conservando la documentación, y suministrar al Ministerio de Salud y Acción Social información sobre existencias y egresos;
- f) Entregar únicamente drogas o medicamentos a personas físicas o ideales habilitadas para su utilización, tenencia, o expendio al público, tomando en todos los casos los recaudos necesarios que justifiquen su destino asegurado.

Art. 8° — El o los titulares de los establecimientos y el Director técnico serán igual y solidariamente responsables del cumplimiento de los requisitos establecidos en el artículo precedente.

Art. 9° — El Director técnico de los establecimientos indicados en el presente capítulo deberá:

- a) Practicar los ensayos y comprobaciones para determinar la pureza de los productos y continentes que se utilicen en los procesos de elaboración o fraccionamiento, siendo responsables de su calidad y adecuación, debiendo proveer a la eliminación de los que no reúnan las cualidades exigibles;
- b) Ensayar los productos elaborados, siendo responsable de que los mismos se ajusten a las especificaciones de los productos autorizados;
- c) Proveer a la adecuada conservación de las drogas y de los productos elaborados o fraccionados.

CAPITULO IV.

Prescripción y expendio de medicamentos

Art. 10° — Declárase obligatorio el uso de los nombres genéricos:

- a) En todos los textos normativos, inclusive registros y autorizaciones

relativos a la elaboración, fraccionamiento, comercialización e importación de medicamentos;

- b) En rótulos, prospectos o cualquier documento utilizado por la industria farmacéutica para información médica o promoción de las especialidades medicinales;
- c) En las adquisiciones que sean realizadas por o para la Administración Pública Nacional.
- d) Los profesionales autorizados a prescribir medicamentos, podrán optar libremente por hacerlo por los nombres genéricos o la marca comercial del producto. [*Vide infra* Art. 6° del Decreto N° 177/93].

Art. 11° — Los centros de expendio de medicamentos deberán ofrecer al público las especialidades medicinales que correspondan a cada nombre genérico prescripto, según el listado indicado en el inciso b) del artículo 6°, el que deberá estar a disposición del público indicando los precios de venta, en lugar visible.

Art. 12° — En los rótulos de los medicamentos registrados ante el Ministerio de Salud y Acción Social se deberá, dentro del plazo de ciento ochenta (180) días corridos de la publicación del presente, incorporar, cuando se comercialicen con nombre de fábrica o comerciales, los nombres genéricos en igual tamaño y realce. [*Vide infra* Art. 4° del Decreto 1890/92].

Art. 13° — Autorízase la venta de medicamentos a granel y en envase de tipo hospitalario a las farmacias que cuenten con laboratorio acreditado ante la autoridad sanitaria, y el fraccionamiento por parte de éstas para su expendio comercial.

CAPITULO V.

Comercio exterior

Art. 14° — Autorízase a laboratorios, droguerías, farmacias, obras sociales con farmacias propias y a organismos públicos de salud que los soliciten, a importar aquellas especialidades medicinales o farmacéuticas inscriptas en el registro de la autoridad sanitaria nacional.

El importador deberá contar con laboratorios de control de calidad propios debidamente equipados y con un Director Técnico universitario, farmacéutico con título habilitante, quien asegurará las condiciones higiénico sanitarias, de calidad y acondicionamiento, eliminando los productos que

no reúnan las cualidades exigibles por la autoridad sanitaria.

El importador y el Director Técnico serán igual y solidariamente responsables.

La importación de especialidades medicinales sólo podrá efectuarse a través de la delegación de la Capital Federal de la Administración Nacional de Aduanas. La Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social podrá autorizar, a tal efecto, a otras delegaciones del referido Organismo.

Art. 15° — Los importadores podrán reenvasar productos a granel para su expendio y venta siempre que la unidad mínima de reempaque respete la hermeticidad del continente de origen. El fraccionamiento deberá realizarse en laboratorios con arreglo a las normas vigentes.

Art. 16° — La importación de medicamentos clasificados como psicotrópicos o estupefacientes en la modalidad de acondicionados para su venta al público deberá cumplir con la Disposición N° 38 del 8 de noviembre de 1990 de la exSubsecretaría de Administración de Servicios y Programas de Salud y la Resolución N° 3329/91 del Ministerio de Salud y Acción Social.

Art. 17° — Libérase la exportación de especialidades medicinales y otros de la industria farmacéutica. Derógase el Decreto N° 32.128/44.

Disposiciones generales

Art. 18° — Las infracciones al presente decreto y a las normas que se dicten en su consecuencia, serán sancionadas conforme a lo previsto en la Ley N° 16.463.

Art. 19° — Deróganse el Decreto N° 908/91 y los artículos 3°, 9°, 10°, 11°, 12°, 13°, 14°, 15°, 16°, 17°, 18°, 19°, 20°, 21°, 22°, 23°, 24°, 25°, 26°, 27°, 28°, 29°, 30°, 31°, 32°, 33°, 34°, 36°, y 40° del Decreto N° 9763/64.

Art. 20° — La Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social será la autoridad de aplicación del presente Decreto. En materia de registro, importación, exportación y comercialización, ejercerá dicha facultad conjuntamente con la Secretaría de Industria y Comercio del Ministerio de Economía y Obras y Servicios Públicos, sin perjuicio de las atribuciones propias de la Secretaría de Salud en materia del control y fiscalización sanitaria comprendidas en dichas actividades.

Art. 21° — El cumplimiento de los requisitos exigidos por el presente decreto será condición suficiente para realizar las actividades mencionadas en el artículo 1° de la Ley N° 16.463.

Art. 22° — El presente decreto entrará en vigencia a los treinta días corridos de su publicación en el Boletín Oficial. Durante este período las autoridades de aplicación deberán proceder a la reglamentación de sus aspectos más relevantes para el resguardo de salud de la población y el normal funcionamiento del mercado.

Art. 23° — Comuníquese, publíquese, dése a la Dirección Nacional del Registro Oficial y archívese.

ANEXO I

Estados Unidos
Japón
Suecia
Confederación Helvética
Israel
Canadá
Austria
Alemania
Francia

Reino Unido
Países Bajos
Bélgica
Dinamarca
España
Italia

ANEXO II

Commonwelth de Australia
Estados Unidos de México
República Federativa de Brasil
República de Cuba
República de Chile
República de Finlandia
República de Hungría
Irlanda
República Popular China
Gran Ducado de Luxemburgo
Reino de Noruega
Nueva Zelandia.

RESOLUCIÓN CONJUNTA (ME Y OSP) N°988 Y (MS Y AS) N°748

Buenos Aires, 13 de agosto de 1992.

VISTO el Decreto N° 150/92, reglamentario de la Ley N° 16.463 y la Resolución Reglamentaria Conjunta del Ministerio de Economía y Obras y Servicios Públicos N° 470 y del Ministerio de Salud y Acción Social N° 268 del 10 de Abril de 1992, y

CONSIDERANDO:

Que en virtud de lo dispuesto por el artículo 20 del Decreto N° 150/92, la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social y la Secretaría de Industria y Comercio del Ministerio de Economía y Obras y Servicios Públicos, son los organismos de aplicación de dicha disposición legal.

Que debe posibilitarse el desarrollo de las acciones y procedimientos establecidos en dicho régimen, resulta procedente incorporar modificaciones a la reglamentación dictada oportunamente.

Que de la competencia conferida a la Secretaría de Salud y a la Secretaría de Industria y Comercio, se deriva el ejercicio de sus facultades para precisar e interpretar los alcances y términos de las citadas disposiciones y favorecer por esta vía el funcionamiento armónico del régimen adoptado.

Que en virtud de lo dispuesto por el artículo 3° del Decreto N° 150/92 y el artículo 2° de la referida Resolución Conjunta, corresponde a la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social efectuar una serie de evaluaciones y análisis, y ante la posibilidad que en determinados casos su actividad requiera de un plazo mayor al previsto, debe adecuarse un procedimiento de prórroga del plazo que posibilite al Organismo cumplimentar las acciones a su cargo.

Que la Secretaría de Salud estará a cargo del control sanitario de la importación de productos farmacéuticos, a efectos de asegurar su eficacia e inocuidad en forma previa al consumo de la población, corresponde establecer las acciones de control que aseguren la verificación y el control de calidad de las partidas que ingresen al país.

Que deben contemplarse las situaciones especiales que podrán presentarse por la importación de productos medicinales, que en razón de sus características o de su utilización terapéutica, justifiquen a criterio de la autoridad sanitaria excepciones al control de calidad previo a su comercialización.

Que debe atenderse el ingreso a nuestro país de las especialidades medicinales que podrán importarse, resultando pertinente que la Secretaría

de Salud proceda a implementar las correspondientes medidas de control a través de la Administración Nacional de Aduanas.

Que los Servicios Jurídicos Permanentes de los ministerios de Economía y Obras y Servicios Públicos y de Salud y Acción Social han tomado la intervención que les compete.

Que la presente Resolución Conjunta se dicta en función de lo establecido en el Artículo 20 y 22 del Decreto N° 150/92.

Por ello,

Los Ministerios de Economía y Obras y Servicios Públicos y de Salud y Acción Social

RESUELVEN:

Artículo 1° – Modifícase la Resolución Conjunta del Ministerio de Economía y Obras y Servicios Públicos N° 470/92 y del Ministerio de Salud y Acción Social N° 268/92, de fecha 10 de Abril de 1992, conforme a las disposiciones que resultan de los artículos siguientes:

Art. 2° – Incorpórase como último párrafo al Artículo 2° de la Resolución Conjunta, el siguiente texto:

“En caso de existir motivos fundados que así lo justifiquen, la Secretaría de Salud podrá requerir al Ministerio de Salud y Acción Social, el otorgamiento de una prórroga por única vez del plazo que dispone para expedirse, que no podrá exceder de un período de sesenta (60) días desde la fecha en que hubiera correspondido resolver la solicitud.”

Art. 3° – Modifícase el artículo 3° de la Resolución Conjunta, cuyo nuevo texto será el siguiente:

“Art. 3°: La certificación de origen a que se refiere el Artículo 4° del Decreto N° 150/92, correspondiente a medicamentos autorizados en al menos uno de los países que integran el Anexo I, deberá estar conformada de acuerdo con las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud para el comercio internacional de productos farmacéuticos (Resolución WHA 41.18.1988) y documentación probatoria de su consumo en el país del Anexo I, con indicación de los datos de formulación y de control de calidad.

Los rótulos deberán reproducir en idioma nacional, las indicaciones, contraindicaciones, efectos adversos, posología, advertencias y recomendaciones de uso autorizadas en el país del Anexo I.

Los prospectos deberán reproducir en el siguiente orden y en idioma nacional: las inscripciones no variables de los rótulos y etiquetas; la acción o acciones farmacológicas y terapéuticas que se atribuyen al producto con sus indicaciones clínicas precisas; los efectos adversos, advertencias, precauciones y contraindicaciones, las interacciones medicamentosas, cuando correspondan antagonismos y antidotismo, posología habitual, dosis máxima y mínimas, forma de administración, presentaciones.

Cuando se trate de solicitudes de registro presentadas por solicitantes que no sean los titulares o representantes del titular del Registro en alguno de los países del Anexo I del Decreto N° 150/92, la certificación oficial vigente de medicamentos a que se refiere el Artículo 4° del Decreto N° 150/92, podrá reemplazarse por una evidencia de comercialización para su consumo interno en cualquiera de los países mencionados en el Anexo I del referido Decreto, a la que deberá agregarse también la documentación a que se refieren los apartados *a)* y *b)* del Artículo 3° del Decreto N° 150/92. Igual posibilidad asistirá a los titulares del registro o sus representantes.

Para el registro de productos elaborados y a importarse de países que no figuran en el Anexo I del Decreto N° 150/92, pero que sí se encuentran registrados a nombre de su productor o importador para ser comercializados en el consumo interno de algún país de dicho Anexo, la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social a través del organismo competente, requerirá al importador la presentación de un certificado de producto farmacéutico conforme al modelo recomendado por la Organización Mundial de la Salud (Resolución WHA 41.18.1988) otorgado en el país de procedencia y documentación probatoria de su consumo en el mercado interno del país que integra la nómina del Anexo I; como así también la información técnica establecida por la Resolución N° 3.784/91 del Ministerio de Salud y Acción Social.

A los efectos del registro automático que establece el Artículo 4° del Decreto N° 150/92 la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social, dispondrá de cuarenta (40) días para la verificación de la documentación presentada.

Vencido el plazo y no existiendo objeciones, el certificado de inscripción será expedido en un plazo de veinte (20) días.

Dichos plazos podrán ser interrumpidos, en todos los casos en que, a requerimiento de un funcionario de jerarquía no inferior a Director, el solicitante deba completar la información prescripta en el Decreto N° 150/92 y en la presente

Resolución y hasta tanto la misma sea debidamente completada. En todos los casos la suspensión de los plazos deberá estar fundamentada.

Igual procedimiento se aplicará a las solicitudes de registro en trámite a la fecha de vigencia de esta Resolución que a requerimiento del solicitante puedan considerarse amparadas en el Artículo 4° del Decreto N° 150/92.

La solicitud de registro de un producto será denegada, cuando se compruebe que una solicitud similar fue denegada, o el registro del producto se haya suspendido o cancelado en alguno de los países del Anexo I.

Las condiciones del registro podrán ser modificadas o ampliadas, así como también suspendidas o canceladas, cuando tales cambios o medidas se hayan producido en el registro de alguno de los países del Anexo I.

El titular del registro queda obligado a notificar a la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social cualquier novedad de este tipo.

Para la realización de los controles que sean necesarios, el Instituto Nacional de Medicamentos dependiente de la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social podrá requerirlos métodos de control y demás datos técnicos para tal fin.”

Art. 4° – Sustitúyase el Artículo 5° de la Resolución Conjunta, quedando redactado de la siguiente forma:

“Art. 5°: La Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social y la Secretaría de Industria y Comercio del Ministerio de Economía y Obras y Servicios Públicos, publicarán el Listado Terapéutico por clasificación farmacológica e índice alfabético de nombres genéricos con sus correspondientes marcas comerciales en las distintas formas farmacéuticas agrupadas según dosis y concentración, indicando cuando corresponda, las advertencias sobre las respectivas bioequivalencias. En el caso de tratarse de una asociación o combinación de tres o más componentes o drogas, la Secretaría de Salud establecerá la forma de rotulación.

Dicho Listado se actualizará trimestralmente y contendrá los precios sugeridos de venta al público.

Esta información deberá estar disponible en todos los lugares donde se dispensen medicamentos y al alcance de todos los profesionales autorizados a prescribirlos.

Los laboratorios deberán comunicar, en las formas y plazos que establezca la Secretaría de Salud, los productos que no se comercializan directamente al público, los cuales no figurarán en los listados a publicarse para farmacias y

profesionales y que se exhibirán al público consumidor.”

Art. 5° – Modificase el artículo 10° de la Resolución Conjunta, a partir del noveno párrafo y subsiguientes, sustituyendo la anterior redacción por la siguiente:

“La importación de medicamentos se efectuará bajo el régimen de despacho a plaza sin autorización de uso.

La Administración Nacional de Aduanas intervendrá hasta un dos (2) por ciento de cada partida importada, la que debidamente lacrada e identificada, será despachada al depósito del importador junto con el resto de la partida importada.

El importador deberá notificar en forma fehaciente a la Secretaría de Salud el ingreso de las partidas a depósito, disponiendo dicho organismo de un plazo de diez (10) días para efectuar la verificación y/o toma de muestras.

La Secretaría de Salud deberá expedirse sobre la aptitud de las partidas, en el término de treinta (30) días corridos luego de retiradas las muestras.

Vencido dicho plazo, sin que la Secretaría de Salud se hubiese expedido, el importador podrá comercializar los productos importados, previa notificación a dicho organismo.

En los casos en que la Secretaría de Salud no efectuase la verificación y/o retiro de muestra en los depósitos del importador durante el plazo establecido a dicho efecto, el importador podrá comercializar los medicamentos importados notificando previamente a dicho organismo.

Cuando los controles de calidad efectuados determinen que las partidas importadas carecen de aptitud suficiente para ser consumidos por la población, la Secretaría de Salud estará facultada para ordenar en forma inmediata, el decomiso y destrucción de dichas partidas, o bien su reexportación a cargo del importador.

Existiendo razones fundadas que así lo justifiquen, tales como importaciones de productos destinados al tratamiento de determinadas patologías críticas, productos de vida útil breve, o que requieren de condiciones especiales de almacenamiento y otros casos que requieran de similar consideración, la Secretaría de Salud a requerimiento del importador, podrá autorizar el despacho a plaza con derecho a uso de los medicamentos o la inmediata liberación de las partidas en los depósitos del importador.

Cuando el importador se provea de un vendedor que no sea el fabricante del producto, deberá acreditar mediante documentación fehaciente el origen de fabricación. La autoridad sanitaria

verificará que la partida importada corresponde a un registro vigente.

En los rótulos de los productos importados deberá indicarse el nombre del laboratorio productor y del importador, su dirección y nombre del Director Técnico. Se aceptará la sobreimpresión de los datos del importador.”

Art. 6° – Inclúyase como nuevo artículo 16 de la Resolución Conjunta al siguiente:

“Artículo 16: Interpretase que, con relación a las actividades de importación referidas en el Artículo 14 del Decreto N° 150/92, también podrán ser realizadas por los representantes de laboratorios extranjeros que acrediten tal carácter.”

Art. 7° – Inclúyase como nuevo artículo 17 de la Resolución Conjunta al siguiente:

“Artículo 17: Establécese que las actividades de importación de especialidades medicinales y farmacéuticas, sólo podrán efectuarse a través de las Delegaciones de la Administración Nacional de Aduanas autorizadas a tal efecto por la Secretaría de Salud.”

Art. 8° – Inclúyase como nuevo artículo 18 de la Resolución Conjunta al siguiente:

“Art. 18: Dispónese que la Secretaría de Salud, a efectos de desarrollar adecuadamente las actividades de contralor en materia de importación de especialidades medicinales y farmacéuticas, podrá convenir la implantación de acciones a través de la Administración Nacional de Aduanas y sus Delegaciones.”

Art. 9° – Modificase la numeración de los anteriores artículos 16 y 17 de la Resolución Conjunta, que pasarán a numerarse como nuevos Artículos 19 y 20 respectivamente.

Art. 10° – Aprúebase el nuevo texto ordenado de la Resolución Conjunta del Ministerio de Economía y Obras y Servicios Públicos N° 470/92 y del Ministerio de Salud y Acción Social N° 268/92, reglamentaria del Decreto N° 150/92, incorporándose las modificaciones dispuestas y que forma parte de la presente Resolución como Anexo A.

Art. 11° – Comuníquese, publíquese, dése a la Dirección Nacional del Registro Oficial y archívese

RESOLUCIÓN N° 988 ME y OSP

ANEXO A

Texto ordenado de las resoluciones conjuntas del Ministerio de Economía y Obras y Servicios Públicos N° 470/92 y del Ministerio de Salud y

Acción Social N° 268/92, reglamentarias del decreto 150/92

Artículo 1° – Las especialidades medicinales autorizadas a la fecha de vigencia del Decreto N° 150/92 serán incorporadas al Registro Especial al que se refiere el Artículo 2° del mencionado Decreto mediante la presentación por parte del titular del certificado vigente del formulario que como Anexo I forma parte de la presente Resolución. La incorporación será automática. Cualquiera fuera el número de formas farmacéuticas que estén actualmente autorizadas para una especialidad medicinal les corresponderá un único certificado.

El plazo de incorporación será de quince (15) días a partir de la vigencia de la presente Resolución. La Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social determinará posteriormente otros plazos para la incorporación de las especialidades medicinales para las que no se haya efectuado presentación dentro del plazo indicado.

Las excepciones a la prohibición a las que se refiere el Artículo 2° del Decreto mencionado son las especialidades medicinales que:

- a) Estén destinadas a los estudios e investigaciones clínicas que hayan sido autorizadas de acuerdo con las normas vigentes,
- b) Determine el Ministerio de Salud y Acción Social para afrontar situaciones de emergencia sanitaria y aceptar donaciones internacionales.
- c) Importen los particulares para su uso personal sobre la base de una receta médica específica.
- d) Traigan, en cantidades razonables, los viajeros del exterior para su uso personal.

Art. 2° – Quedan comprendidas en los alcances del Artículo 3° del Decreto N° 150/92 las especialidades medicinales constituidas por un único principio activo o asociaciones de dos o más principios activos internacionalmente reconocidos para las que exista previamente registrados en el país un producto similar o que no constituya una novedad en los términos del Artículo 5° del citado Decreto.

Para cumplimentar la información requerida por el referido Artículo 3° las solicitudes de inscripción en el Registro deberán estar acompañadas por la documentación técnica establecida en la Resolución N° 3.784 del 4 de setiembre de 1991 del Ministerio

de Salud y Acción Social o la que en su reemplazo disponga la Secretaría de Salud de dicho Ministerio.

El plazo a que hace referencia el Artículo 3° será interrumpido en todos los casos en que, a requerimiento de un funcionario de jerarquía no inferior a Director, el solicitante deba incorporar información adicional y hasta tanto la misma se considere debidamente cumplimentada. En todos los casos la suspensión de los plazos deberá estar fundamentada. Una vez vencido el mismo y no existiendo objeciones, la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social, deberá extender el certificado en un plazo no mayor a veinte (20) días.

A las solicitudes de registro en trámite a la fecha de vigencia del Decreto N° 150/92 que correspondan al régimen del Artículo 3° se le aplicará el procedimiento establecido en el párrafo anterior.

En caso de existir motivos fundados que así lo justifiquen, la Secretaría de Salud podrá requerir al Ministro de Salud y Acción Social, el otorgamiento de una prórroga por única vez, del plazo que dispone para expedirse, que no podrá exceder de un periodo de sesenta (60) días desde la fecha en que hubiera correspondido resolver la solicitud.

Art. 3° – La certificación de origen a la que se refiere el Artículo 4° del Decreto N° 150/92, correspondiente a medicamentos autorizados en al menos uno de los países que integran el Anexo I, deberá estar conformada de acuerdo con las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud para el comercio internacional de productos farmacéuticos (Resolución WHA 41.18.1988) y documentación probatoria de su consumo en el país del Anexo I, con indicación de los datos de formulación y de control de calidad.

Los rótulos deberán reproducir en idioma nacional, las indicaciones, contraindicaciones, efectos adversos, posología, advertencias y recomendaciones de uso autorizadas en el país del Anexo I.

Los prospectos deberán reproducir en el siguiente orden y en idioma nacional: las inscripciones no variables de los rótulos y etiquetas, la acción o acciones farmacológicas y terapéuticas que se atribuyen al producto con sus indicaciones clínicas precisas; los efectos adversos; advertencias, precauciones y contraindicaciones, las interacciones medicamentosas; cuando corresponda antagonismos y antidotismo; posología habitual; dosis máximas y mínimas; formas de administración; presentaciones.

Cuando se trate de solicitudes de registro presentadas por solicitantes que no sean los titulares o representantes del titular del Registro en alguno

de los países del Anexo I del Decreto N° 150/92, la certificación oficial vigente de medicamentos a que se refiere el Artículo 4° del Decreto N° 150/92, podrá reemplazarse por una evidencia de comercialización para su consumo interno en cualquiera de los países mencionados en el Anexo I del referido Decreto, a la que deberá agregarse también la documentación a que se refieren los apartados *a)* y *b)* del Artículo 3° del Decreto N° 150/92. Igual posibilidad asistirá a los titulares del registro o sus representantes.

Para el Registro de productos elaborados y a importarse de países que no figuren en el Anexo I del Decreto N° 150/92, pero que sí se encuentran registrados a nombre de su productor o importador para ser comercializados en el consumo interno de algún país de dicho Anexo, la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social a través del organismo competente, requerirá al importador la presentación de un certificado de producto farmacéutico conforme al modelo recomendado por la Organización Mundial de la Salud (Resolución WHA 41.18.1988) otorgado en el país de procedencia y documentación probatoria de su consumo en el mercado interno del país que integra la nómina del Anexo I; como así también la información técnica establecida por la Resolución N° 3.784/91 del Ministerio de Salud y Acción Social.

A los efectos del registro automático que establece el Artículo 4° del Decreto N° 150/92 la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social, dispondrá de cuarenta (40) días para la verificación de la documentación presentada.

Vencido el plazo y no existiendo objeciones, el certificado de inscripción será expedido en un plazo máximo de veinte (20) días.

Dichos plazos podrán ser interrumpidos, en todos los casos en que, a requerimiento de un funcionario de jerarquía no inferior a Director, el solicitante deba completar la información prescripta en el Decreto N° 150/92 y en la presente Resolución, y hasta tanto la misma sea debidamente completada. En todos los casos la suspensión de los plazos deberá estar fundamentada.

Igual procedimiento se aplicará a las solicitudes de registro en trámite a la fecha de vigencia de esta Resolución, que a requerimiento del solicitante puedan considerarse amparadas en el Artículo 4° del Decreto N° 150/92.

La solicitud de registro de un producto será denegada, cuando se compruebe que una solicitud similar fue denegada, o el registro del producto se haya suspendido o cancelado en alguno de los países del Anexo I.

Las condiciones del registro podrán ser modificadas o ampliadas, así como también suspendidas o canceladas, cuando tales cambios o medidas se hayan producido en el registro de alguno de los países del Anexo I.

El titular del registro queda obligado a notificar a la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social cualquier novedad de este tipo.

Para la realización de los controles que sean necesarios el Instituto Nacional de Medicamentos dependiente de la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social, podrá requerir los métodos de control y demás datos técnicos para tal fin.

Art. 4° – Las solicitudes de registro de especialidades medicinales a que se refiere el Artículo 5° del Decreto N° 150/92, deberán incluir los datos identificatorios del producto indicados en el Artículo 3° del Decreto mencionado y suficiente información química, farmacéutica, de control de calidad, estabilidad y elaboración, así como documentación farmacológica, toxicológica y clínica que demuestre su eficacia e inocuidad requeridas por las Normas Técnicas establecidas por la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social.

Quedan comprendidas en los alcances de este Artículo las nuevas indicaciones de especialidades medicinales ya inscriptas.

Art. 5° – La Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social y la Secretaría de Industria y Comercio del Ministerio de Economía y Obras y Servicios Públicos, publicarán el Listado Terapéutico por clasificación farmacológica e índice alfabético de nombres genéricos con sus correspondientes marcas comerciales en las distintas formas farmacéuticas agrupadas según dosis y concentración, indicando cuando corresponda, las advertencias sobre las respectivas bioequivalencias. En el caso de tratarse de una asociación o combinación de tres o más componentes o drogas, la Secretaría de Salud establecerá la forma de rotulación.

Dicho Listado se actualizará trimestralmente y contendrá los precios sugeridos de venta al público.

Esta información deberá estar disponible en todos los lugares donde se dispensen medicamentos y al alcance de todos los profesionales autorizados a prescribirlos.

Los laboratorios deberán comunicar, en las formas y plazos que establezca la Secretaría de Salud, los productos que no se comercializan directamente al público, los cuales no figurarán en los listados a publicarse para farmacias y

profesionales y que se exhibirán al público consumidor.

Art. 6° – La producción y fraccionamiento de medicamentos y especialidades medicinales a que se refiere el Capítulo III del Decreto N° 150/92 deberá realizarse bajo la dirección técnica de un profesional farmacéutico.

Las actividades relacionadas con drogas o principios activos de medicamentos podrán realizarse bajo la dirección técnica de un profesional farmacéutico, químico u otros profesionales con títulos habilitantes.

Las condiciones higiénico sanitarias de los procesos de producción, fraccionamiento, control de calidad, distribución, depósito y transporte se ajustarán como mínimo a las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud sobre buenas prácticas de fabricación o las que establezca la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social.

Art. 7° – En el caso del Artículo 10, inciso *d*) del decreto N° 150/92, el profesional autorizado a prescribir medicamentos, que considere que existan motivos fundados para que se utilicen productos de marca de laboratorios determinados, podrá agregar al nombre genérico, el nombre de uno o más laboratorios o marcas comerciales requiriéndose para esto una segunda firma del profesional.

El Ministerio de Salud y Acción Social hará conocer amplia y fehacientemente a la opinión pública y a todas las instituciones públicas y privadas involucradas, el alcance de las reglamentaciones que disponen el uso del nombre genérico a la prescripción médica. Para tal fin promoverá también acuerdos con las Universidades para sus uso en la enseñanza médica, odontológica y farmacéutica.

Art. 8°– El farmacéutico deberá dispensar una especialidad medicinal salvo que el profesional indique que se trata de una receta magistral.

El farmacéutico que dispense un medicamento a partir de la correspondiente receta deberá agregar a su rúbrica y sello el nombre comercial del medicamento entregado al usuario, excepto en aquellos casos que el profesional haya indicado una marca comercial o laboratorio. En los casos de recetas de la Seguridad Social se adosará el correspondiente troquel.

Art. 9° – El fraccionamiento en farmacias, tal como lo prevé el Artículo 13 del Decreto N° 150/92, sólo se permitirá a partir de productos registrados en el Ministerio de Salud y Acción Social para las formas farmacéuticas sólidas envasadas en *blister* o tiras conformadas de material

adecuado para su conservación, granulados o polvos en envases monodosis y ampollas o frascos ampollas.

En el rótulo del envase entregado al usuario deberá figurar el nombre del farmacéutico responsable del fraccionamiento y otros datos que permitan la identificación del medicamento y su uso correcto, según lo determine la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud.

El farmacéutico responsable del fraccionamiento deberá tener a disposición del paciente prospectos en cantidad suficiente para el caso de serle requeridos.

Art. 10° – Las actividades de comercio exterior previstas en el Capítulo V del Decreto N° 150/92 quedan sujetas a las estipulaciones del presente artículo.

A los efectos de las definiciones del 1er. párrafo del Artículo 14 del mencionado Decreto, se adoptarán las siguientes expresiones aclaratorias:

- a)* Se entiende por laboratorios a los que producen especialidades medicinales y se hallan debidamente autorizados,
- b)* Se entiende por entes prestadores de servicios de salud públicos y privados a los hospitales nacionales, provinciales y municipales y a los hospitales, sanatorios y clínicas privadas inscriptos en las respectivas jurisdicciones sanitarias.

Los establecimientos importadores contarán con un Director Técnico profesional farmacéutico.

Las actividades de importación de productos farmacéuticos están sujetas a los mismos requisitos higiénicos sanitarios que la autoridad sanitaria establezca para los productos elaborados y/o fraccionados en el país, siendo el importador responsable de la calidad del producto farmacéutico.

En todos los casos el control de calidad deberá realizarse en forma completa en el país, en laboratorios de control de calidad del importador o de terceros autorizados por la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social.

Deberán conservarse en el establecimiento importador muestras representativas en cantidad suficiente para su análisis por la autoridad sanitaria.

La importación de medicamentos se efectuará bajo el régimen de despacho a plaza sin autorización de uso.

La Administración Nacional de Aduanas intervendrá hasta un dos (2) por ciento de cada partida importada, la que debidamente lacrada e identificada, será despachada al depósito del

importador junto con el resto de la partida importada.

El importador deberá notificar en forma fehaciente a la Secretaría de Salud el ingreso de las partidas a depósito, disponiendo dicho Organismo de un plazo de diez (10) días para efectuar la verificación y/o toma de muestras.

La Secretaría de Salud deberá expedirse sobre la aptitud de las partidas, en el término de treinta (30) días corridos luego de retiradas las muestras.

Vencido dicho plazo, sin que la Secretaría de Salud se hubiese expedido, el importador podrá comercializar los productos importados, previa notificación a dicho organismo.

En los casos en que la Secretaría de Salud no efectuase la verificación y/o retiro de muestras en los depósitos del importador durante el plazo establecido a dicho efecto, el importador podrá comercializar los medicamentos importados notificando previamente a dicho organismo.

Cuando los controles de calidad efectuados, determinen que las partidas importadas carecen de aptitud suficiente para ser consumidos por la población, la Secretaría de Salud estará facultada para ordenar en forma inmediata, el decomiso y destrucción de dichas partidas, o bien su reexportación a cargo del importador.

Existiendo razones fundadas que así lo justifiquen, tales como importaciones de productos destinados al tratamiento de determinadas patologías críticas, productos de vida útil breve, o que requieren de condiciones especiales de almacenamiento y otros casos que requieran similar consideración, la Secretaría de Salud a requerimiento del importador, podrá autorizar el despacho a plaza con derecho a uso de los medicamentos o la inmediata liberación de las partidas en los depósitos del importador.

Cuando el importador se provea de un vendedor que no sea el fabricante del producto, deberá acreditar mediante documentación fehaciente el origen de fabricación. La autoridad sanitaria verificará que la partida importada corresponde a un registro vigente.

En los rótulos de los productos importados deberá indicarse el nombre del laboratorio productor y del importador, su dirección y nombre del Director Técnico. Se aceptará la sobreimpresión de los datos del importador.

Art. 11° – El rótulo de la unidad de reempaque a la que se refiere el Artículo 15 del Decreto N° 150/92 deberá contener los datos indicados en el inciso c) del Artículo 3° del mismo Decreto.

Art. 12° – A efectos del ejercicio de las actividades conjuntas que determina el Artículo 20 del Decreto N° 150/92 se establece que:

- a) La Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social remitirá mensualmente a la Secretaría de Industria y Comercio del Ministerio de Economía y Obras y Servicios Públicos un listado que contenga los registros autorizados y denegados de medicamentos;
- b) La Secretaría de Industria y Comercio del Ministerio de Economía y Obras y Servicios Públicos remitirá quincenalmente a la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social un listado de los despachos a plaza de los medicamentos importados.

Art. 13° – La incorporación al registro de las especialidades medicinales a las que se refieren los Artículos 2° y 3° de la presente Resolución devengará un arancel de mil pesos (\$ 1.000).

La incorporación al registro de las especialidades medicinales a las que se refiere el Artículo 4° de la presente Resolución devengará un arancel de tres mil pesos (\$ 3.000).

Art. 14° – El mantenimiento en el registro de las especialidades medicinales a que se refiere la presente Resolución devengará un arancel anual de mil pesos (\$ 1.000) que se hará efectivo por año vencido.

Art. 15° – Los recursos provenientes de los aranceles establecidos en los Artículos 13 y 14 de la presente Resolución ingresarán al Fondo Nacional de la Salud con destino al Instituto Nacional de Medicamentos de la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social.

Art. 16° – Interpretase que, con relación a las actividades de importación referidas en el Artículo 14 del Decreto N° 150/92, también podrán ser realizadas por los representantes de laboratorios extranjeros que acrediten tal carácter.

Art. 17° – Establécese que las actividades de importación de las actividades medicinales y farmacéuticas, sólo podrán efectuarse a través de las Delegaciones de la Administración Nacional de Aduanas autorizadas a tal efecto por la Secretaría de Salud (Buenos Aires-Córdoba-Mendoza).

Art. 18° – Dispónese que la Secretaría de Salud, a efectos de desarrollar adecuadamente las actividades de contralor en materia de importación de especialidades medicinales y farmacéuticas,

podrá convenir la implementación de acciones a través de la Administración Nacional de Aduanas y sus Delegaciones.

Art. 19° – Deróganse los ítems 1.2, 1.5, 1.13, 1.18 y 1.19 del Anexo I de la Resolución N° 3.480

del 26 de agosto de 1991 del Ministerio de Salud y Acción Social.

Art. 20° – Comuníquese, publíquese, dése a la Dirección Nacional del Registro Oficial y archívese.

DECRETO 177/93

Medicamentos - Registro, elaboración, fraccionamiento, prescripción, expendio, comercialización, exportación e importación - Modificación del dec. 150/92.

Fecha: 09 de febrero 1993.

Publicación: B.O. 17/02/93

Citas legales: D. 150/92: LII-A, 363; D.1890/92: Bol. 30/92,28; ley 16.463: XXIV-B, 968.

Artículo 1° - Sustitúyese el art. 3° del dec. 150/92, modificado por su similar 1890/92 por el siguiente:

"Art. 3°: Las solicitudes de inscripción al Registro de Especialidades Medicinales o farmacéuticas autorizadas, deberán incluir la siguiente información con carácter de declaración jurada:

- a) Del producto: Nombre propuesto para el mismo; fórmula (definida y verificable); forma o formas farmacéuticas en que se presentará; clasificación farmacológica, haciendo referencia al número de código -si existiere- de la clasificación internacional de medicamentos de la Organización Mundial de la Salud (OMS); condición de expendio;
- b) Información técnica: Método de control; período de vida útil; método de elaboración en conformidad con las prácticas adecuadas de fabricación vigentes; datos sobre la biodisponibilidad del producto;
- c) Proyectos de rótulos y etiquetas que deberán contener las siguientes inscripciones: Nombre del laboratorio, dirección del mismo, nombre del director técnico, nombre del producto y nombre genérico en igual tamaño y realce, fórmula por unidad de forma farmacéutica o porcentual, contenido por unidad de venta; fecha de vencimiento, forma de conservación y condición de venta, número de partida y serie de fabricación; y leyenda "Medicamento autorizado por el Ministerio de Salud y Acción Social, certificado N°:";
- d) Proyectos de prospectos que reproducirán: Las inscripciones no variables de los rótulos y etiquetas; la acción o acciones farmacológicas y terapéuticas que se atribuyen al producto con indicaciones clínicas precisas y con

advertencias, precauciones y, cuando corresponda, de antagonismos, antidotismos e interacciones medicamentosas y de los efectos adversos que puedan llegar a desencadenar, posología habitual y dosis máximas y mínimas, forma de administración, presentaciones;

- e) En el caso de especialidades medicinales o farmacéuticas importadas de los países incluidos en el anexo II que forma parte integrante del presente, además de la información requerida en los incisos precedentes, deberá acompañarse un certificado de la autoridad sanitaria del país de origen, emitido de conformidad a la res. W.H.A.41.18.1988 de la Asamblea Mundial de la Salud, o la que la sustituya.

Asimismo la elaboración de dichas especialidades medicinales o farmacéuticas deberán ser realizadas en laboratorios farmacéuticos cuyas plantas resulten aprobadas por entidades gubernamentales de países consignados en el anexo I del dec. 150/92 o por la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social y que cumplan los requisitos de normas de elaboración y control de calidad, exigidos por la autoridad sanitaria nacional. La verificación de las plantas elaboradas será efectuada por la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social dentro de los Sesenta (60) días de presentada la solicitud de inscripción respectiva. Los gastos que insuman las inspecciones de las plantas serán sufragados en su totalidad por la citada Secretaría con el fondo correspondiente a los aranceles del Registro de Especialidades Medicinales. Los medicamentos a importarse desde países incluidos en el anexo II al presente deberán estar autorizados y comercializándose en los países de origen, en forma previa a su solicitud de registro o importación ante la autoridad sanitaria nacional. La integración de los países en la nómina de dicho anexo, no habilitará a terceros países a solicitar su inclusión dentro del mismo, en virtud de la existencia de cláusulas de Nación más favorecida, instituida por convenios internacionales suscriptos por nuestro país.

A partir de la presentación de la solicitud de inscripción de la especialidad medicinal, el Ministerio de Salud y Acción Social tendrá un plazo de ciento veinte (120) días corridos para expedirse,

con excepción de los casos encuadrados en los regímenes de los arts. 4° y 5° del presente decreto.

En el caso de solicitudes de registro de importación de especialidades medicinales elaboradas en los países incluidos en el anexo II al presente, dicho plazo será considerado a partir de la verificación de la planta elaboradora.

El régimen del presente artículo será comprensivo para:

- I) Las solicitudes de registro de especialidades medicinales a elaborarse en nuestro país y aquellas a importarse de países incluidos en el anexo II que resulten similares a otras ya inscriptas en el Registro; y
- II) Las solicitudes de registro de especialidades medicinales a elaborarse en nuestro país, autorizadas para su consumo público en al menos uno de los países que integran el anexo I del dec. 150/92 aun cuando se tratara de una novedad dentro del registro de la autoridad sanitaria.

El plazo de vigencia de la autorización de acuerdo al art. 7° de la ley 16.463, podrá ser prorrogado a su término, cuando se otorgara la reinscripción del producto, mediando solicitud del interesado a tal efecto."

Art. 2° – Sustitúyese el art. 5° del dec. 150/92 el que quedará redactado de la siguiente forma: "Art. 5°: Tratándose de solicitudes de inscripción de especialidades medicinales que se presenten al Registro, para:

- a) Elaborarse por la industrial local y que fueran una novedad en nuestro país, salvo la excepción prevista en el art. 3° para aquellas especialidades autorizadas en algún/os de los países del dec. 150/92;
- b) Importarse de un país del anexo II al presente y cuando la especialidad, si bien autorizada y consumida en el país de origen, no tuviera similares inscriptos en el Registro de la autoridad sanitaria nacional;
- c) Importarse siendo productos manufacturados en países no incluidos en el anexo I del dec. 150/92 ni en el anexo II del presente y no estuviesen autorizados para ser consumidos en alguno de los países del anexo I del dec. 150/92;

Deberán acompañar para su tramitación la información requerida por el art. 3° y la

documentación que acredite la eficacia e inocuidad del producto para el uso propuesto."

Art. 3° – Sustitúyese el texto del art. 10 del dec. 150/92, por el siguiente:

"Art. 10 Declárase obligatorio el uso de los nombres genéricos:

- a) En todos los textos normativos, inclusive registros y autorizaciones relativos a la elaboración, fraccionamiento, comercialización o importación de medicamentos;
- b) En rótulos, prospectos o cualquier documento utilizado por la industria farmacéutica para información médica o promoción de las especialidades medicinales;
- c) En las adquisiciones que sean realizadas por o para la Administración pública nacional.

Los profesionales autorizados a prescribir medicamentos, podrán optar libremente por hacerlo por el nombre genérico o la marca comercial del producto. "

Art. 4° – Sustitúyese el art. 14 del dec. 150/92 que quedará redactado de la siguiente forma:

"Art. 14 – Autorízase a laboratorios, droguerías, farmacias, obras sociales con farmacias propias y a organismos públicos de salud que los soliciten, a importar aquellas especialidades medicinales o farmacéuticas inscriptas en el registro de la autoridad sanitaria nacional.

El importador deberá contar con laboratorios de control de calidad propios debidamente equipados y con un Director técnico universitario farmacéutico con título habilitante, quien asegurará las condiciones higiénico-sanitarias, de calidad y acondicionamiento, eliminando los productos que no reúnan las cualidades exigibles por la autoridad sanitaria.

El importador y el Director técnico serán igual y solidariamente responsables.

La importación de especialidades medicinales sólo podrá efectuarse a través de la delegación de la Capital Federal de la Administración Nacional de Aduanas. La Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social podrá autorizar, a tal efecto, a otras delegaciones del referido Organismo."

Art. 5° – Facúltase a la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social y la Secretaría de Industria y Comercio del Ministerio de Economía y Obras y Servicios Públicos para introducir modificaciones a la nómina de países

prevista en el anexo I del dec. 150/92 y en el anexo II del presente decreto.

Art. 6° – Establécese que lo dispuesto en los incs. *a)*, *b)* y *c)* del art. 10 del dec. 150/92, texto ordenado por el presente decreto, regirá a partir del 15 de marzo de 1993.

Art. 7° – Comuníquese, etc. – Menem. – Aráoz.
– Cavallo.

Anexo II

Commonwealth de Australia
Estados Unidos de México
República Federativa de Brasil
República de Cuba
República de Chile
República de Finlandia
República de Hungría
Irlanda
República Popular China
Gran Ducado de Luxemburgo
Reino de Noruega
Nueva Zelanda

DECRETO 1490/92

Salud Pública - Declaración de Interés nacional a las acciones dirigidas a la prevención, resguardo y atención de la salud de la población - Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. - Creación.

Fecha: 20 de Agosto de 1992.

Publicación: B.O. 27/8/92.

Citas Legales: Constitución Nacional: 1.852 - 1.890,68 y XVII - A, 1; D. 166/91: LI - C, 3.084; D. 993/91: LI - C, 2592; D. 277/91: LI - A, 351; D. 23.354/56 (ley de contabilidad): XVII - A, 155; D. 1.269/92: v.p. 3061.

VISTO el Decreto N° 1.269/92 y el expediente N° 2020-16.628/92-1 del registro de la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social, y

CONSIDERANDO:

Que el Gobierno Nacional se encuentra abocado a la revisión y adecuación de las funciones básicas que debe prestar el Estado Nacional y que en idéntico sentido se enmarcan las disposiciones del Decreto N° 1.269/92.

Que, a través de la sanción de dicho Decreto, el Poder Ejecutivo nacional ha establecido explícitamente los objetivos y prioridades en materia de Políticas Nacionales de Salud.

Que el citado decreto establece como un objetivo prioritario de la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social el ejercicio de una función rectora y protagónica, desempeñando en forma eficiente las funciones que le competen (dec. N° 1.269/92, política sustantiva 4).

Que, a través del Decreto de referencia, se determina que corresponde adecuar la estructura de la Secretaría de Salud a fin de posibilitar a dicho Organismo el desarrollo de las líneas estratégicas de transformación propuestas, favoreciéndose así la conformación de un ente técnico con capacidad para liderar la salud en el desarrollo con equidad, implementar la planificación estratégica en normatización, en fiscalización y conducción superior, y garantizar una efectiva acción sanitaria en todo el ámbito nacional, poniéndose énfasis en el desarrollo de las acciones de promoción y protección (Decreto N° 1.269/92, punto 4.1.1).

Que, asimismo, dicha norma dispone que deberán implementarse mecanismos adecuados de autorización, registro, normatización, control epidemiológico y de vigilancia y fiscalización de drogas, medicamentos y alimentos, con el fin de

proteger la salud de la población, (Decreto N° 1.269/92, punto 4.1.6.).

Que dicho Decreto subraya la conveniencia de fomentar el desarrollo y administración del conocimiento científico técnico y la investigación (Decreto N° 1.269/92, punto 4.1.7.).

Que, como soporte instrumental de los objetivos propuestos, el referido Decreto establece la necesidad de diseñar modelos alternativos de organización y administración de los Institutos Nacionales de Investigación, Docencia y Producción dependientes de la Secretaría de Salud, con la finalidad de mejorar el proceso técnico-administrativo de gestión, la eficiencia en la utilización de los recursos y el nivel de calidad institucional (Decreto N° 1.269/92, punto 1.1.5.).

Que es de interés del Gobierno Nacional promover y garantizar las acciones del Sector Público dirigidas a la prevención, resguardo y atención de la salud de la población.

Que en razón de lo expuesto y en función de fortalecer el rol protagónico que cabe cumplir al Sector Público Nacional, es necesario arbitrar las disposiciones conducentes para permitir a la Secretaría de Salud ejercer en las condiciones más adecuadas las funciones de contralor y vigilancia sobre importantes materias que se encuentran sujetas a la órbita de su competencia.

Que adquieren singular relevancia para los objetivos propuestos las acciones referidas al control y fiscalización de la calidad y sanidad de los productos, sustancias, elementos, procesos, tecnologías y materiales que se consumen o utilizan en la medicina, alimentación y cosmética humanas.

Que dichas acciones configuran un campo de acción muy específico, caracterizado por un elevado nivel de complejidad y diversidad, tanto técnico como científico.

Que, asimismo, dichas materias y competencias se encuentran sujetas a un conjunto importante de normas, reglamentos y disposiciones.

Que estas circunstancias determinan como una condición indispensable para llevar a cabo su conducción y operación, contar con instrumentos y mecanismos institucionales adecuados para responder a las exigencias que se plantean en el ejercicio de las funciones que debe desempeñar la Secretaría de Salud.

Que tal como surge de los requerimientos expuestos, resulta conveniente crear dentro del ámbito de la Secretaría de Salud un organismo que

reúna las competencias en materia de control y fiscalización sobre los productos, substancias, elementos, tecnologías y materiales que se consumen o utilizan en la medicina, alimentación y cosmética humanas, y del contralor de las actividades y procesos que median o están comprendidos en estas materias.

Que dadas las funciones a desempeñar por el referido organismo y las características y modalidades de las actividades que habrá de desarrollar, dicho organismo debe tener la capacidad institucional adecuada para permitirle actuar con eficiencia y eficacia frente a tales requerimientos, por lo cual es necesario y conveniente atribuirle el carácter de organismo descentralizado.

Que dicho nivel de autonomía, y sin perjuicio de las facultades que sobre su gestión mantendrá la Secretaría de Salud, favorecerá la celeridad en la toma de decisiones, la adecuación en tiempo y forma de sus respuestas ante las demandas a satisfacer y un funcionamiento más ágil y práctico, factores determinantes para la eficiencia de las acciones.

Que la reubicación y concentración en un organismo descentralizado de las actuales dependencias de la Secretaría de Salud, Dirección de Drogas, Medicamentos y Alimentos, los Institutos Nacionales de Medicamentos y de Alimentos y otras áreas, favorecer la gestión que desempeñan los niveles de conducción, técnicos, operativos y de administración, a partir de contar con un manejo gerencial y de administración más autónomo, facilitándose por esta vía una organización y ejecución más dinámicas de sus actividades y la agilización de los trámites administrativos.

Que, asimismo, se prevé que a través del funcionamiento de este organismo podrán facilitarse articulaciones institucionales y sociales capaces de potenciar y aprovechar la participación de distintos actores sociales – públicos, privados y no gubernamentales– , en función de ampliar las bases de interacción y cooperación que todo proceso sanitario requiere para ser efectivo.

Que dado el tipo de actividades que desempeñará este organismo, se plantean adecuadas condiciones para generar sus propios ingresos, sin perjuicio de los recursos que le correspondan por parte del Tesoro Nacional.

Que corresponderá a la Secretaría de Salud la determinación de las políticas sanitarias y criterios científicos a que deberá sujetarse dicho organismo,

estimándose la conveniencia y oportunidad, en base a los motivos expuestos, de disponer su creación y establecer su carácter descentralizado.

Que la Dirección General de Asuntos Jurídicos del Ministerio de Salud y Acción Social ha tomado la intervención de su competencia.

Que el Poder Ejecutivo nacional se halla facultado para el dictado del presente por el artículo 86, incisos 1) y 2) de la Constitución Nacional.

Por ello, el presidente de la Nación Argentina decreta:

CAPITULO I *Declaración de Interés*

Artículo 1° – Decláranse de interés nacional las acciones dirigidas a la prevención, resguardo y atención de la salud de la población que se desarrollen a través del control y fiscalización de la calidad y sanidad de los productos, substancias, elementos y materiales que se consumen o utilizan en la medicina, alimentación y cosmética humanas, y del contralor de las actividades, procesos y tecnologías que medieren o estuvieren comprendidos en dichas materias.

CAPITULO II *Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica*

Art. 2° – Créase en el ámbito de la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social, la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT).

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) actuará como Organismo Descentralizado de la Administración Pública Nacional, dependiendo técnica y científicamente de las normas y directivas que le imparta la Secretaría de Salud, con un régimen de autarquía económica y financiera, con jurisdicción en todo el territorio de la Nación.

Art. 3° – Establécese que la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) tendrá competencia en todo lo referido a:

- a) El control y fiscalización sobre la sanidad y calidad de las drogas, productos químicos, reactivos, formas farmacéuticas, medicamentos, elementos de diagnóstico, materiales y tecnologías biomédicos y todo otro producto de uso y aplicación en la medicina humana;
- b) El control y fiscalización sobre la sanidad y calidad de los alimentos acondicionados, incluyendo los insumos

específicos, aditivos, colorantes, edulcorantes e ingredientes utilizados en la alimentación humana, como también de los productos de uso doméstico y de los materiales en contacto con los alimentos;

- c) El control y fiscalización sobre la sanidad y calidad de los productos de higiene, tocador y cosmética humana y de las drogas y materias primas que los componen;
- d) La vigilancia sobre la eficacia y la detección de los efectos adversos que resulten del consumo y utilización de los productos, elementos y materiales comprendidos en los incisos a), b) y c) del presente artículo, como también la referida a la presencia en los mismos de todo tipo de sustancias o residuos, orgánicos e inorgánicos, que puedan afectar la salud de la población;
- e) El contralor de las actividades, procesos y tecnologías que se realicen en función del aprovisionamiento, producción, elaboración, fraccionamiento, importación y/o exportación, depósito y comercialización de los productos, sustancias, elementos y materiales consumidos o utilizados en la medicina, alimentación y cosmética humanas;
- f) La realización de acciones de prevención y protección de la salud de la población, que se encuadren en las materias sometidas a su competencia;
- g) Toda otra acción que contribuya al logro de los objetivos establecidos en el artículo 1° del presente decreto.

Art. 4° – Dispónese que la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) será el órgano de aplicación de las normas legales que rigen las materias sujetas a su competencia, las que en el futuro se sancionen y las que en uso de sus atribuciones dicten el Ministerio de Salud y Acción Social y la Secretaría de Salud, en referencia al ámbito de acción de la Administración.

Art. 5° – Dispónese que pasen a formar parte de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) la Dirección de Drogas, Medicamentos y Alimentos dependiente de la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y acción Social, y las áreas que dependen de dicha Dirección –conforme a su estructura orgánica aprobada por el Decreto N° 1.667/91–, el Instituto Nacional de Medicamentos, el Instituto

Nacional de Alimentos y los departamentos de Registro y Asuntos Reglamentarios y Legales y de Psicotrópicos y Estupefacientes.

Art. 6° – Establécese que el Instituto Nacional de Medicamentos (INAME) de la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social, funcionará con tal carácter dentro de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), manteniendo todas las atribuciones, competencias y funciones establecidas al presente por distintas normas y disposiciones y continuará actuando conforme a las mismas, a lo dispuesto en el presente decreto y a las normas que en el futuro se establezcan con relación a su ámbito de competencia.

Art. 7° – Dispónese que el Instituto Nacional de Alimentos (INAL) de la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social, funcionará con tal carácter dentro de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), manteniendo todas las atribuciones, competencias y funciones establecidas al presente por distintas normas y disposiciones, -y continuará actuando conforme a las mismas, a lo dispuesto en el presente Decreto y a las normas que en el futuro se establezcan con relación a su ámbito de competencia.

Art. 8° – Establécese que la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) tendrá las siguientes atribuciones y obligaciones:

- a) Elaborar y proponer a la Secretaría de Salud las normas técnicas que podrán aplicarse en función de la adecuación, sanidad y calidad relativas al aprovisionamiento, producción, elaboración, fraccionamiento, importación y/o exportación, comercialización y depósito de los productos, sustancias, elementos, materiales y tecnologías y procesos referidos en el artículo 3° del presente.
- b) Diseñar y proponer a la Secretaría de Salud la implementación de Sistemas y/o Programas que favorezcan el desarrollo de sus acciones, observando la normativa nacional y los acuerdos internacionales celebrados o a celebrarse. Dichas propuestas deberán contener las normas dispositivas que serán de aplicación, las previsiones para la coordinación de acciones con los organismos públicos y privados que

- participen y los mecanismos e instrumentos que posibiliten la organización, ejecución y fiscalización de las actividades.
- c) Elaborar y proponer a la Secretaría de Salud los Regímenes de tipo científico, técnico y operativo que resultaren pertinentes para el cumplimiento de sus funciones.
 - d) Elaborar y elevar a la Secretaría de Salud el presupuesto anual y el cálculo de recursos para su funcionamiento, así como el Programa anual de Actividades y Trabajos.
 - e) Analizar y proponer a la Secretaría de Salud la celebración de acuerdos y convenios con organismos públicos nacionales, provinciales y municipales, entidades privadas y organizaciones no gubernamentales de nuestro país, como también con organismos internacionales, organismos gubernamentales, no gubernamentales y entidades privadas extranjeras.
 - f) Convocar por intermedio de la Secretaría de Salud a los diferentes sectores públicos y privados, para establecer modalidades de interacción y cooperación, como también constituir Comités o Comisiones o Grupos de Trabajo para actividades específicas.
 - g) Desarrollar la planificación, programación, organización, ejecución, evaluación y comunicación de sus planes, programas y acciones.
 - h) Implementar acciones de investigación, asistencia técnica, docencia, capacitación, promoción, comunicación, difusión y toda otra actividad orientada a prevenir y resguardar la salud de la población.
 - i) Aplicar y velar por el cumplimiento de las disposiciones legales, científicas, técnicas y administrativas comprendidas dentro del ámbito de sus competencias.
 - j) Proponer a la Secretaría de Salud, en función de la normativa aplicable, la creación de Registros y otros dispositivos y procedimientos que se considere necesarios, reglamentado e instrumentando su funcionamiento.
 - k) Autorizar; certificar, inscribir y registrar en cumplimiento de las disposiciones pertinentes, los productos, sustancias, elementos y materiales comprendidos en el artículo 3° del presente.
 - l) Fiscalizar adecuada y razonablemente el cumplimiento de las normas de sanidad y calidad establecidas para los productos, sustancias, elementos, materiales, tecnologías y proceso referidos en el artículo 3° de la presente.
 - m) Proceder al registro y/o autorización y/o habilitación –conforme a las disposiciones aplicables– de las personas físicas o jurídicas que intervengan en las acciones de aprovisionamiento, producción, elaboración, fraccionamiento, importación y/o exportación, depósito y comercialización de los productos, sustancias, elementos y materiales referidos en el artículo 3° del presente, fiscalizando o supervisando la ejecución de dichas actividades.
 - n) Determinar y percibir los aranceles y tasas retributivas correspondientes a los trámites y registros que se efectúen congo también por los servicios que se presten.
 - o) Disponer, en base a sus competencias, la realización de todo tipo de controles, verificaciones e inspecciones que se considere adecuados, recabando cuando ello sea necesario, el auxilio de la Fuerza Pública y/o la cooperación de todo otro organismo público.
 - p) Adoptar, ante la detección de cualquier factor de riesgo relacionado con la calidad y sanidad de los productos, sustancias, elementos o materiales comprendidos en el artículo 3° del presente decreto, las medidas más oportunas y adecuadas para proteger la salud de la población, conforme a la normativa vigente.
 - q) Establecer en todos los casos que correspondiere, los apercibimientos sanciones y penalidades previstos por la normativa aplicable.
 - r) Desarrollar, en el marco de su competencia, toda otra acción que contribuya al logro de los objetivos planteados por el artículo 1° del presente decreto.

CAPITULO III

Dirección, Administración y Representación

Art. 9° — La dirección, administración y representación de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

(ANMAT) estará a cargo de un funcionario con la jerarquía y rango de Director Nacional.

Junto al Director Nacional actuará un funcionario en calidad de Subdirector, quien asistirá al titular y lo reemplazará en caso de ausencia o enfermedad.

Los cargos de Director Nacional y Subdirector serán cubiertos mediante el régimen de concurso, aprobado por Decreto N° 993/91.

Art. 10. – El Director Nacional de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) tendrá, a los efectos de desarrollar las acciones previstas por el artículo 8° del presente Decreto, las siguientes atribuciones y obligaciones:

- a) Representar legalmente a la Administración.
- b) Cumplir y hacer cumplir las normas vigentes en las materias de competencia de la Administración.
- c) Asesorar a la Secretaría de Salud en las materias que se encuentran sujetas a la competencia de la Administración.
- d) Dirigir las acciones que implemente la Administración, pudiendo requerir al Secretario de Salud, en los casos en que lo considere necesario, el refrendo de sus actos.
- e) Establecer, con el acuerdo del Secretario de Salud, las delegaciones de funciones que correspondan, atendiendo a las competencias y responsabilidades atribuidas a las áreas y funcionarios que integran la Estructura Orgánica de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT).
- f) Elaborar, y proponer a la Secretaría de Salud el presupuesto anual de erogaciones y cálculo de recursos y sus modificaciones, así como el Programa anual de Actividades y Trabajos.
- g) Celebrar, a través de la Secretaría de Salud, convenios de cooperación técnica y científica con organismos y entidades públicas y privadas de nuestro país y del exterior.
- h) Disponer la implementación de los Sistemas, Programas y Proyectos aprobados por la Secretaría de Salud.
- i) Dictar las resoluciones que posibiliten desarrollar las acciones del Organismo.
- j) Dirigir, coordinar y supervisar las acciones, promoviendo la articulación y la participación de otros organismos

públicos y privados, nacionales o del exterior.

- k) Programar e implementar actividades de docencia, investigación, capacitación y asistencia técnica en relación con las materias sujetas a la competencia del Organismo, así como otorgar becas para estudios, investigaciones y especializaciones, según régimen aprobado por el Poder Ejecutivo Nacional.
- l) Convocar, con el acuerdo del Secretario de Salud, a organismos públicos y entidades privadas, para la formación de Comités o Comisiones Asesoras o Grupos de Trabajo ad-hoc, u otras modalidades de trabajo y cooperación que se considere adecuadas.
- m) Conducir la administración y dictar los reglamentos, normas internas y disposiciones administrativas necesarios para el funcionamiento del Organismo, estableciendo las delegaciones de funciones en las áreas y funcionarios correspondientes.
- n) Celebrar contratos y convenios de distinto tipo y finalidad, con adecuación a las normas vigentes.
- o) Mantener actualizado y sistematizado el texto ordenado y compilado de las normas legales cuya aplicación corresponda al Organismo.
- p) Proponer a las autoridades de la Secretaría de Salud los aranceles y tasas retribuidas correspondientes a los trámites y registros que se efectúen, como también por los servicios que se presten.
- q) Designar, trasladar, promover y remover al personal, conforme a las normas vigentes en la materia, y proponer a la Secretaría de Salud las modificaciones a la estructura orgánica del Organismo.
- r) Requerir al Secretario de Salud, en los casos extremos que lo justificaren, la declaración del estado de emergencia. Establecida dicha emergencia, podrá contratar locaciones de obras, personal y equipamientos y efectuar todo otro gasto necesario para hacer frente a las necesidades urgentes y a las que pudieren asociarse o derivarse de dicho estado.
- s) Disponer la realización de todo tipo de controles, verificaciones e inspecciones que se considere adecuados, en función

de las competencias atribuidas al Organismo, recabando cuando ello sea necesario el auxilio de la Fuerza Pública, así como la cooperación de todo otro organismo público.

- t) Establecer los apercibimientos, sanciones y penalidades que correspondieran en virtud de las normas aplicables.
- u) Disponer la destrucción, cesión o venta de los bienes que fuesen decomisados por infracciones a la normativa de rigor o por carecer de condiciones de aptitud para ser consumidos por la población o bien, en el caso de que fueran de origen importado, ordenar su reexportación a cargo del importador.
- v) Delegar por causa de enfermedad o ausencia prolongada, el ejercicio de sus funciones en el Subdirector.

CAPITULO IV *Recursos*

Art. 11. – Dispónese que para el desarrollo de sus acciones la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) dispondrá de los siguientes recursos, los que serán depositados a su orden en las cuentas que se abran a tal efecto:

- a) Los aportes provenientes del Presupuesto Nacional de la Administración Pública y los aportes extraordinarios que realice el Tesoro Nacional;
- b) Los provenientes de las tasas y aranceles que aplique conforme a las disposiciones adoptadas;
- c) Los fondos provenientes de convenios y/o acuerdos que celebre con organismos e instituciones nacionales y/o internacionales, públicas y privadas;
- d) Los provenientes de donaciones y legados;
- e) Los resultantes de las multas y sanciones que se apliquen y de la venta de bienes decomisados;
- f) Los recargos establecidos por la mora en el pago de las tasas, multas y aranceles que perciba;
- g) Los intereses y rentas que devenguen las - inversiones de los recursos obtenidos; y
- h) Todo otro tipo de recursos que se determine a través de las leyes y

disposiciones que se establezcan con tal finalidad.

CAPITULO V: *Disposiciones Generales*

Art. 12. – Dispónese que el personal profesional de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) estará comprendido en el régimen de la Carrera del Personal Profesional de los Institutos de Investigación y Producción dependientes de la Secretaría de Salud del Ministerio de Salud y Acción Social, que fuera dispuesto por el Decreto N° 277/91.

Art. 13. – Establécese que el personal de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) estará alcanzado por un régimen especial de incompatibilidades, por el cual se establece que la misma alcanza a quienes se encuentren en la circunstancia de:

- a) Mantener relación de dependencia, permanente o eventual;
- b) Prestar directa o indirectamente servicios profesionales o de otro tipo; y
- c) Ser propietario, accionista, socio o director de empresas o sociedades; siempre que dicha actividad o carácter se presente con empresas, sociedades o establecimientos que actúen en el aprovisionamiento, producción, elaboración, fraccionamiento, importación y/o exportación, y depósito y comercialización de los productos, sustancias, elementos y materiales consumidos o utilizados en la medicina, alimentación y cosmética humana.

Art. 14 – Determínase que el Director Nacional, en los casos en que actúe en su reemplazo, el Subdirector estarán facultados para autorizar y aprobar los gastos conformes con el artículo 60 de la Ley de Contabilidad y con el alcance establecido para los Ministros por el artículo 57 de dicha Ley.

El Director Nacional dictará las resoluciones que determinen los funcionarios facultados para autorizar contrataciones cualquiera sea su monto y para aprobar las que no excedan el monto establecido por el artículo 58 de la Ley de Contabilidad, dando razón de ello al Tribunal de Cuentas de la Nación.

En cuanto a los pagos directos la Tesorería de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) podrá efectuarlos hasta la suma fijada como límite de

aprobación para los Directores de organismos descentralizados.

CAPITULO VI

Disposiciones Transitorias

Art. 15. – La Secretaría de Salud dispondrá las medidas conducentes para proponer al Poder Ejecutivo Nacional, dentro de los ciento ochenta (180) días del presente, el Organigrama, Objetivos, Responsabilidades Primarias y Acciones, Planta Permanente y de Gabinete, Presupuesto y la realización de las transferencias administrativas - contables a fin de poner en funcionamiento a la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT).

Art. 16. – Hasta tanto se efectivice la puesta en funcionamiento de la Estructura Orgánica de la (Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), los organismos y áreas referidos en el artículo 5° del presente continuarán desarrollando sus acciones con

sus actantes estructuras, responsabilidades y funciones.

Art. 17 – Facúltase al Secretario de Salud a efectuar, por única vez, la designación de los profesionales que cubrirán los cargos a que se hace referencia en el artículo 9° del presente, los que serán considerados cargos con Funciones Ejecutivas correspondiente a los Índices de ponderación I y II, en los términos del Sistema Nacional aprobado por el Decreto N° 993/91 y sus normas complementarias.

Dentro del término improrrogable de ciento ochenta (180) días contados a partir de la entrada en vigencia del presente, deberá procederse a la cobertura de dichos cargos con estricta sujeción a los procedimientos de selección previstos en el Sistema Nacional mencionado en el párrafo anterior.

Art. 18. – Comuníquese, etc. – Menem. – Aráoz.

RESOLUCION DEL MINISTERIO DE SALUD Y ACCION SOCIAL 297/96

VISTO el Expediente N° 1-47-3291-95-8 del registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica, y

CONSIDERANDO:

Que la Farmacopea Nacional Argentina es el libro oficial donde se publican los tipos de Drogas y medicamentos necesarios o útiles para el ejercicio de la medicina y la farmacia especificando lo concerniente al origen, preparación, identificación, pureza, valoración, dosis y demás condiciones que aseguran la uniformidad y calidad de las propiedades de los mismos.

Que la versión actualmente vigente de tal obra es su Sexta Edición, la que fuera editada en el año 1978 sin merecer hasta la fecha actualización alguna.

Que el transcurso del tiempo operado y la prolifera actividad evidenciada en las áreas de investigación y fabricación de la industria farmacéutica han desnaturalizado el objeto para el cual la Farmacopea Nacional Argentina fuera creada, tornando necesario encarar la incorporación a la obra de las novedades farmacológicas hasta hoy existentes, así como revisar y actualizar las monografías allí incluidas a la luz de los nuevos métodos y tecnologías disponibles para el control de calidad de drogas y medicamentos.

Que tales fines resulta prioritario activar y agilizar el funcionamiento de la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina que fuera conformada por el Decreto N° 21.886/56 con dependencia directa de este Ministerio.

Que la Dirección General de Asuntos Jurídicos ha tomado la intervención de su competencia.

Que se actúa en uso de las facultades otorgadas por el Art. 23, inc. 1 y 15 de la Ley de Ministerios (t.o. Decreto N° 438/92).

Por ello; el Ministro de Salud y Acción Social

RESUELVE:

Art. 1° – Encomiéndase a la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (A.N.M.A.T.) la integración y reactivación del funcionamiento de la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina, la cual tendrá su sede en dicho organismo, atento a las facultades otorgadas al mismo por el Decreto N° 1.490/92.

Art. 2° – Las actividades de la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina serán coordinadas por el Director Nacional de la A.N.M.A.T., el que queda facultado para disponer todas las medidas necesarias a los fines del cumplimiento del artículo 1° de la presente.

Art. 3° – La A.N.M.A.T. proveerá los recursos necesarios para el normal desenvolvimiento de la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina y de las Subcomisiones Redactoras.

Art. 4° – Regístrese, comuníquese, publíquese en el Boletín Informativo. Dése a la Dirección Nacional del Registro Oficial para su publicación. Cumplido, archívese.

PERMANENTE.

RESOLUCION N° 1-47-3291-95-8.

DISPOSICION ANMAT 1535/02

VISTO el Decreto N° 197/02, la Resolución del ex Ministerio de Salud y Acción Social N° 297/96, Disposición A.N.M.A.T. N° 4793/01, la Disposición A.N.M.A.T. N° 146/02; y

CONSIDERANDO:

Que con el dictado del Decreto N° 197/02 se reemplazó la Comisión Interventora designada por Decreto N° 847/00 por un Interventor, con el fin de efectuar un reordenamiento estratégico que permita aumentar la efectividad y celeridad en la acción de Gobierno en áreas que tienen competencia en el contralor y fiscalización de productos y sustancias en continuo cambio a consecuencia del desarrollo tecnológico.

Que por Resolución N° 297/96 el entonces Ministerio de Salud y Acción Social encomendó a esta A.N.M.A.T. la integración y reactivación de la Comisión de la Farmacopea Argentina.

Que en consecuencia se dictó la Disposición A.N.M.A.T. N° 4793/01 por la cual se determinaron las condiciones para el funcionamiento de la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina, designando sus integrantes.

Que por Disposición A.N.M.A.T. N° 146/02 se integraron las Subcomisiones de la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina, y se designaron los coordinadores de cada una de ellas.

Que en atención a la necesidad de continuar y agilizar la tarea emprendida por la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina, resulta imprescindible establecer un cronograma de tareas para la incorporación gradual a su texto de los distintos capítulos de temáticas indispensables.

Que a tales fines deviene conveniente la reestructuración de su integración y reorganización de su funcionamiento.

Que la Dirección de Asuntos Jurídicos ha tomado la intervención de su competencia.

Que se actúa en virtud de las facultades conferidas por el Decreto N° 1.490/02 y el Decreto N° 197/02.

Por ello, el interventor de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

DISPONE:

Art. 1° – Intégrese la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina con los siguientes miembros: un Presidente, un Director Ejecutivo, un Secretario Ejecutivo, Coordinación Técnica, un

Secretario Técnico y 13 Vocales, todos ellos con carácter "ad honorem". Los vocales serán profesionales de reconocida capacidad y experiencia técnico-científica.

Art. 2° – Designase a los siguientes profesionales como miembros de la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina:

PRESIDENTE: Dr. Manuel R. Limeres

DIRECTOR EJECUTIVO: Dr. Carlos Chiale

COORDINADOR TECNICO: Dra. Hela Beltramini

SECRETARIO TECNICO: Dra. Karina A. Manco

VOCALES:

Dr. Pablo Mario Bazerque

Dr. Arnaldo Luis Bandoni

Dra. María Teresa Pizzorno

Dra. María Guillermina Volonté

Dr. Teodoro S. Kaufman

Dr. Mario A. Copello

Dr. Rubén Manzo

Dr. Eloy Mandrile

Dr. Modesto Rubio

Dr. Edgardo Poskus

Dr. Sem M. Albonico

Dr. Juan M. Dellacha

Dr. Norberto A. Terragno

Art. 3° – Los miembros de la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina serán designados por un período de cinco (5) años, pudiéndose renovar o confirmar sus integrantes por un nuevo período. Las designaciones se harán por períodos completos, pero por renuncia o muerte de uno de sus miembros antes del vencimiento del período correspondiente, se designará un nuevo miembro por el tiempo que faltare para completar éste.

Art. 4° – La Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina propondrá al Interventor de la A.N.M.A.T. la formación de Subcomisiones y sus integrantes dentro del plazo de 30 días contados a partir de la 1° convocatoria. Asimismo podrá solicitar al Interventor de la A.N.M.A.T. la asignación de los empleados administrativos que resulten necesarios para el cumplimiento de sus funciones.

Art. 5° – El Presidente de la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina podrá conformar con carácter ad honorem un Comité Consultor Externo, que estará integrado por representantes de instituciones educacionales, profesionales, industriales y científicas cuya

participación se considere relevante por su trayectoria científico-técnica en las temáticas relacionadas con la farmacopea. Las instituciones convocadas deberán designar su representante.

Art. 6° – Serán atribuciones de la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina:

- a) Redactar y someter a la autorización de esta Intervención su propio Reglamento Interno, debiendo determinar la periodicidad y el "quórum" necesario para sesionar y el régimen de mayoría para aprobar sus dictámenes.

- b) Efectuar, teniendo en cuenta el dictamen de las respectivas subcomisiones, la propuesta del contenido técnico de la Farmacopea y de las publicaciones autorizadas que de ella dependan.

Art. 7° – Derógase la Disposición A.N.M.A.T. N° 4793/01 y la Disposición A.N.M.A.T. N° 146/02.

Art. 8° – Comuníquese a quienes corresponda. Publíquese en el Boletín Informativo. Dése a la Dirección Nacional del Registro Oficial para su publicación. Oportunamente, archívese.

DISPOSICION N° 1.892/02

VISTO, la Disposición A.N.M.A.T. N° 1535 del 19 de abril de 2002, el expediente N° 1-47-9562-98-8 y

CONSIDERANDO:

Que por Disposición A.N.M.A.T. N° 1535/02 se integró la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina, como así también se establecieron las pautas para su funcionamiento.

Que en el artículo 1° de la aludida Disposición se deslizaron errores, consignándose como integrante de la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina a un Secretario Ejecutivo, figura que no se encuentra prevista dentro de la nómina oportunamente propuesta, como así también en la mención del Coordinador Técnico.

Que tratándose de errores materiales, los mismos se consideran subsanables, sustituyendo el artículo 1° de la Disposición A.N.M.A.T. N° 1.535/02, en los términos del artículo 101 del Decreto N° 1.759/72 (t.o. 1991).

Que la Dirección de Asuntos Jurídicos ha tomado la intervención de su competencia.

Que se actúa en virtud de las facultades conferidas por el Decreto N° 1490/92 y el Decreto N° 197/02.

Por ello; el interventor de la Administración nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

DISPONE:

Artículo 1° – Sustitúyese el artículo 1° de la Disposición A.N.M.A.T. N° 1.535/02 por el siguiente texto: "artículo 1°: Intégrese la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina con los siguientes miembros: un Presidente, un Director Ejecutivo, un Coordinador Técnico, un Secretario Técnico y 13 Vocales, todos ellos con carácter "ad honorem". Los vocales serán profesionales de reconocida capacidad y experiencia técnico-científica".

Artículo 2° – Comuníquese a quienes corresponda. Publíquese en el Boletín Informativo.

Dése a la Dirección Nacional del Registro Oficial para su publicación. Oportunamente, archívese. – Dr. MANUEL R. LIMERES, Interventor, A.N.M.A.T.

DISPOSICION ANMAT 3165/02

VISTO la Disposición A.N.M.A.T. N° 1.535/02, el Acta N° 1 de la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina del 30 de Mayo de 2002, el expediente N° 1-47-9562-98-8 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología médica (A.N.M.A.T.), y

CONSIDERANDO: Que por el art. 6° inciso a) de la Disposición A.N.M.A.T. N° 1.535/02 se atribuyó a la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina la facultad de redactar y someter a la autorización de esta Intervención su propio Reglamento Interno.

Que la Comisión de la Farmacopea Argentina de acuerdo al Acta de Reunión del día 30 de Mayo de 2002, sometió a consideración de sus miembros el proyecto de Reglamento Interno, elevando el texto definitivo para su aprobación.

Que la Dirección de Asuntos Jurídicos ha tomado la intervención de su competencia.

Que el suscripto se encuentra facultado en virtud de las atribuciones otorgadas por los Decretos N° 1.490/92 y N° 197/02

Por ello; el interventor de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología médica

DISPONE:

Art. 1° — Apruébese el Reglamento Interno de la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina que establece sus funciones, conformación, organización y régimen de funcionamiento, el que se agrega como Anexo a la presente Disposición y forma parte integrante de la misma.

Artículo 2° – Regístrese, notifíquese a quienes corresponda. Cumplido, archívese.

Expediente N° 1-47-9562-98-8

Disposición N° 3.165

ANEXO

REGLAMENTO INTERNO DE LA COMISION PERMANENTE DE LA FARMACOPEA ARGENTINA

I. - Objetivos:

Es objetivo prioritario de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología médica (A.N.M.A.T.) el mantener permanentemente actualizada la Farmacopea Argentina.

A tal fin, la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina deberá revisar y elaborar cada una de las ediciones que se publiquen, incluyendo sus respectivos volúmenes, conforme los plazos establecidos al respecto.

Adicionalmente, deberá aprobar y poner en conocimiento público el Informe Anual con la Memoria de las actividades desarrolladas por la Comisión Permanente durante el período que se informa.

II. - Conformación e Integración:

La Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina estará conformada de acuerdo a lo dispuesto por la Disposición N° 1.535/02 o la norma que lo reemplace.

Las **Subcomisiones Técnicas** que prestarán apoyo técnico y científico a la Comisión Permanente, estarán conformadas por profesionales del área de la Salud, especialistas en los temas específicos de cada una, con un número de integrantes que podrá variar entre 8 y 10. Uno de sus miembros debería pertenecer al Instituto Nacional de Medicamentos.

Cada una de las Subcomisiones estará a cargo de un Coordinador, cuyos conocimientos científicotécnicos, como así su trayectoria, lo habiliten para llevar a cabo el desarrollo del proyecto de la Farmacopea Argentina de que se trate.

Asimismo, la Comisión Permanente deberá proponer las Instituciones que se convocarán para la integración del **Comité Consultor Externo**, que estará conformado por expertos de distinguidas instituciones educativas, profesionales, industriales y científicas, elegidos por su trayectoria y conocimiento científico-técnicos.

III. - Funciones:

El **Presidente** de la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina tendrá las siguientes funciones:

- a) Definir las políticas, estrategias y metodología que deberá implementar la Comisión Permanente en la materia de su competencia, en concordancia con las políticas de Salud fijadas por el Gobierno Nacional.
- b) Cubrir las vacantes que eventualmente se produjeran en la Comisión Permanente y designar y/o reemplazar a sus integrantes previo aval de la misma.

- c) Designar, y reemplazar cuando fuese necesario o conveniente, el Coordinador de cada una de las Subcomisiones Técnicas y a los miembros que integrarán cada una de ellas, con el aval de la Comisión Permanente.
- d) Presidir las reuniones de la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina y emitir su voto a fin de aprobar o rechazar los dictámenes emanados de la misma. En caso de empate emitirá un segundo voto.
- e) Aprobar el texto de cada una de las ediciones de la Farmacopea Argentina y de sus volúmenes, antes de su publicación.

El **Director Ejecutivo** de la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina tendrá las siguientes funciones:

- a) Presidir las reuniones de la Comisión Permanente en ausencia del Presidente, con sus mismas atribuciones, pudiendo en estas oportunidades, tener un doble voto en caso de empate.
- b) Conducir y supervisar la coordinación general, nacional e internacional, para la elaboración y puesta en vigencia de la Farmacopea Argentina.
- c) Dirigir la gestión técnico-administrativa de las actividades relacionadas con la elaboración y publicación de la Farmacopea Argentina.
- d) Supervisar las actividades de la Coordinación y Secretaría Técnica, como así también de todo el personal que conforma la Comisión Permanente.
- e) Mantener reuniones con el Presidente de la Comisión Permanente para evaluar las actividades futuras de dicha Comisión.
- f) Supervisar la tarea desarrollada por las Subcomisiones Técnicas y mantener reuniones mensuales con sus respectivos Coordinadores.
- g) Elaborar el Informe Anual con la Memoria de las actividades realizadas por la Comisión Permanente, el cual será presentado para su tratamiento y aprobación por parte de esta última.

La **Coordinación Técnica** de la Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina, quien recibirá instrucciones y reportará al Director Ejecutivo, tendrá las siguientes funciones:

- a) Velar por el normal funcionamiento de las actividades relativas a la

implementación de la Farmacopea de acuerdo a lo establecido en el presente Reglamento.

- b) Supervisar la remisión para su publicación al Boletín Oficial de la Nación de toda ampliación, modificación o derogación de las normas referentes a la Farmacopea Argentina.
- c) Organizar y coordinar con el Presidente y el Director Ejecutivo la oportunidad de las reuniones de la Comisión Permanente, convocando a sus miembros.
- d) Proponer la redacción del orden del día de cada reunión y remitirlo para su previa consideración, por vía electrónica o en soporte papel cuando fuera necesario, a todos los miembros convocados, con suficiente antelación para posibilitar la solicitud de datos ampliatorios y/o realizar observaciones.
- e) Tener voz pero no voto en las reuniones de la Comisión Permanente.
- f) Labrar el acta correspondiente al temario tratado en cada reunión y ponerlo a consideración del Director Ejecutivo. Remitir copia del acta a cada uno de los miembros de la Comisión Permanente que participaron de la reunión, para su consideración y posterior aprobación.
- g) Coordinar el material recibido de la Secretaría Técnica para su revisión por la Comisión Permanente.
- h) Convocar, previa aprobación de la Comisión Permanente, a los expertos necesarios del Comité Consultor Externo para el estudio de temas específicos.

La **Secretaría Técnica** recibirá instrucciones y reportará al Director Ejecutivo y tendrá las siguientes funciones:

- a) Recopilar, redactar, corregir y/o editar las monografías y capítulos en general para su posterior entrega a las Subcomisiones Técnicas y Coordinadores.
- b) Remitir a las distintas Subcomisiones y sus respectivos Coordinadores las pertinentes monografías para su evaluación.
- c) Recolectar y evaluar las correcciones, adecuaciones, aclaraciones y/o comentarios realizados por las Subcomisiones Técnicas y/o sus

integrantes, y/o los Coordinadores, para su incorporación en las respectivas monografías.

- d) Presentar las monografías técnicamente revisadas al Director Ejecutivo para su tratamiento por la Comisión Permanente.
- e) Realizar los informes técnicos para la organización general, nacional e internacional, en el marco de la elaboración redacción, revisión, armonización y edición de la Farmacopea Argentina.
- f) Atender las necesidades de la Comisión Permanente relativas a la obtención de información técnica y científica.
- g) Tener voz pero no voto en las reuniones de la Comisión Permanente.

Los **Vocales** de la Comisión Permanente tendrán las siguientes funciones:

- a) Asistir a las reuniones de la Comisión Permanente, no debiendo registrar más de un 20% de inasistencia anual injustificables.
- b) Revisar y corregir los borradores de las monografías y capítulos en general.
- c) Elaborar informes en tiempo y forma referidos a los temas sometidos a su análisis remitiéndolos al Director Ejecutivo.
- d) Expresar mediante voto su conformidad o disconformidad para la aprobación y posterior edición de las monografías y capítulos en general, para aquellos temas que hubieren evaluado y/o supervisado. En caso de disconformidad, deberán fundamentar su decisión por escrito.
- e) Proponer la inclusión de nuevos artículos en la Farmacopea Argentina.

Cada **Subcomisión Técnica** - será responsable de emitir el informe correspondiente a los artículos de la Farmacopea en los que hubiere participado, pudiendo sus miembros ser consultados por los mismos en el futuro.

Los **integrantes de cada Subcomisión**, que actuarán en forma individual y no en representación de instituciones públicas o privadas tendrán como funciones:

- a) Revisar los artículos encomendados por el Coordinador y responder a sus requerimientos.
- b) Participar en la elaboración del informe de la Subcomisión y/o elaborar en tiempo y forma, su informe particular

sobre el tema, el que será puesto a disposición del Coordinador para su incorporación al informe de la Subcomisión.

El **Coordinador** de cada Subcomisión será citado como mínimo una vez al mes por el Coordinador Técnico de la Comisión Permanente a una reunión conjunta con el Director Ejecutivo y la Secretaria Técnica, para evaluar el desempeño de la Subcomisión a su cargo, como así también para agilizar y optimizar la actividad de la misma.

El **Coordinador** tendrá como función:

- a) Organizar y coordinar las reuniones con los integrantes de la Subcomisión que fuesen necesarias para el adecuado tratamiento de los temas encomendados.
- b) Asegurar el cumplimiento de las tareas encomendadas en los plazos previstos, generando los informes de la Subcomisión y/o agregando los elaborados por cada uno de los integrantes, para su remisión a la Secretaría Técnica de la Comisión Permanente.
- c) Informar en las reuniones mensuales sobre el avance en las actividades de la Subcomisión a su cargo y efectuar observaciones y sugerencias con el fin de optimizar el desarrollo de la actualización de la Farmacopea Argentina.

El **Comité Consultor Externo** tendrá como funciones colaborar con la Comisión Permanente, a su requerimiento, evacuando consultas y formulando opiniones y/o recomendaciones que contribuyan a los objetivos de la Farmacopea Argentina.

IV. - Funcionamiento:

La Comisión Permanente se reunirá mensualmente en sesión ordinaria.

Se convocarán sesiones extraordinarias cuantas veces lo considere necesario el Presidente y/o el Director Ejecutivo, ya sea por iniciativa propia o por solicitud de la mayoría de los Vocales.

La Comisión Permanente podrá pedir a través de la Coordinación Técnica, la colaboración y asistencia a sus reuniones, de miembros de las Subcomisiones Técnicas y/o miembros del Comité Consultor Externo.

En las reuniones de la Comisión Permanente, el quórum requerido será de la mitad más uno de sus miembros y las decisiones se tomarán por simple mayoría de los presentes.

Los temas a ser tratados en las reuniones de la Comisión Permanente requerirán la inclusión de un temario previo, el que deberá ser puesto en conocimiento de sus miembros y de los participantes invitados, con antelación suficiente para posibilitar su análisis y recolección de información.

Las actuaciones correspondientes a cada una de las reuniones de la Comisión Permanente se registrarán en actas, las que deberán ser firmadas por la totalidad de los miembros y asistentes que hubiesen participado de la reunión.

LEY N° 25.649

ESPECIALIDADES MEDICINALES

Promoción de la utilización de medicamentos por su nombre genérico

Sancionada: Agosto 28 de 2002.

Promulgada Parcialmente: Septiembre 18 de 2002.

El Senado y Cámara de Diputados de la Nación Argentina reunidos en Congreso, etc.

sancionan con fuerza de Ley:

Artículo 1° – La presente ley tiene por objeto la defensa del consumidor de medicamentos y drogas farmacéuticas y su utilización como medio de diagnóstico en tecnología biomédica y todo otro producto de uso y aplicación en la medicina humana.

Art. 2° – Toda receta o prescripción médica deberá efectuarse en forma obligatoria expresando el nombre genérico del medicamento o denominación común internacional que se indique, seguida de forma farmacéutica y dosis/unidad, con detalle del grado de concentración.

La receta podrá indicar además del nombre genérico el nombre o marca comercial, pero en dicho supuesto el profesional farmacéutico, a pedido del consumidor, tendrá la obligación de sustituir la misma por una especialidad medicinal de menor precio que contenga los mismos principios activos, concentración, forma farmacéutica y similar cantidad de unidades.

El farmacéutico, debidamente autorizado por la autoridad competente, es el único responsable y capacitado para la debida dispensa de especialidades farmacéuticas, como así también para su sustitución. En este último caso deberá suscribir la autorización de sustitución en la prescripción.

La libertad de prescripción y de dispensa está garantizada por la elección del principio activo y no sobre especialidades de referencia o de marca.

Art. 3° – Toda receta o prescripción médica que no cumpla con lo establecido en el primer párrafo del artículo 2° de la presente ley se tendrá por no prescrita, careciendo de valor alguno para autorizar el expendio del medicamento de que se trate.

Art. 4° — **A los fines de la presente ley se entiende por:**

a) Medicamento: toda preparación o producto farmacéutico empleado para la prevención, diagnóstico o tratamiento de una enfermedad o estado patológico, o para modificar

sistemas fisiológicos en beneficio de la persona a quien se le administra;

b) Principio activo o monodroga: toda sustancia química o mezcla de sustancias relacionadas, de origen natural, biogénético, sintético o semisintético que, poseyendo un efecto farmacológico específico, se emplea en medicina humana;

c) Nombre genérico: denominación de un principio activo, monodroga, o de una asociación de principios activos a dosis fijas, adoptada por la autoridad sanitaria, o en su defecto la denominación común internacional de un principio activo o combinación de los mismos recomendada por la Organización Mundial de la Salud;

d) Especialidad medicinal: todo medicamento de composición cualitativa y cuantitativamente definida, declarada y verificable, de forma farmacéutica estable y de acción terapéutica comprobable debidamente autorizada por la autoridad sanitaria;

e) Especialidad medicinal genérica: especialidad medicinal identificada por el nombre genérico que corresponda a su composición;

f) Especialidad medicinal de referencia: es aquel medicamento debidamente habilitado como tal por la autoridad sanitaria nacional, cuya eficacia y seguridad terapéutica ha sido científicamente comprobada por su uso clínico y comercializado en el país por un laboratorio innovador. Cuando un producto reúna estas características no se comercialice en el país, podrá utilizarse como especialidad medicinal de referencia a fin de comparar la especialidad medicinal genérica, aquella avalada por la Organización Mundial de la Salud por haberse comprobado su acción terapéutica mediante su liderazgo en el mercado farmacéutico internacional.

Art. 5° – Será obligatorio el uso del nombre genérico: **a) En todo envase primario, secundario,**

rótulo, prospecto o cualquier documento utilizado por la industria farmacéutica para información médica o promoción de las especialidades medicinales; *b)* En todos los textos normativos, inclusive registros y autorizaciones relativas a la elaboración, fraccionamiento, comercialización, exportación e importación de medicamentos; *c)* **En toda publicidad o propaganda dirigida al público en general.**

Art. 6° – En los rótulos y prospectos de los medicamentos registrados ante la autoridad sanitaria, se deberán incorporar los nombres genéricos en igual tamaño y realce que el nombre comercial. Cuando se trate de medicamentos constituidos por dos o más nombres genéricos, el tamaño de la tipografía para cada uno de ellos podrá ser reducido en forma proporcional.

Art. 7° – En el expendio de medicamentos, los establecimientos autorizados deberán informar al público todas las especialidades medicinales que contengan el mismo principio activo o combinación de ellos que la prescrita en la receta médica que se les exhiba y los distintos precios de esos productos. En caso de incumplimiento serán de aplicación las sanciones previstas por la ley 24.240, de defensa del consumidor.

Art. 8° – El Poder Ejecutivo Nacional, a través del Ministerio de Salud, será el organismo encargado de controlar el cumplimiento de la presente ley, sin perjuicio de lo dispuesto en el artículo anterior. En este marco deberá especialmente diseñar campañas de difusión masiva respecto de los beneficios que reviste el uso de las denominaciones genéricas en las prescripciones médicas.

Art. 9° – **La autoridad sanitaria nacional deberá elaborar, dentro de los 60 días de promulgada la presente ley, un vademécum, el que deberá ser actualizado en forma periódica, en el que se ordenarán las especialidades medicinales genéricas o formas comerciales autorizadas en base a su contenido de principio activo, monodroga o nombre genérico y un listado de combinaciones de monodrogas identificadas por su nombre genérico que hayan sido recomendadas por la Organización Mundial de la Salud o autorizadas por la Autoridad**

Sanitaria Nacional, los cuales deberán estar a disposición de los profesionales del arte de curar y del público en general en todas las farmacias de la República.

Art. 10. – **El Poder Ejecutivo Nacional promoverá en forma conjunta, con las organizaciones médicas, farmacéuticas y odontológicas y todas aquellas reconocidas en el arte de curar, los mecanismos que aseguren amplia comunicación, información y educación sobre los medicamentos genéricos. Asimismo, deberán realizar las acciones que sean pertinentes a los efectos de que en todas las universidades del país y en las áreas vinculadas a la formación de conocimiento en ciencias de la salud sea incorporado dentro de las respectivas currícula el estudio de la investigación y transferencia de conocimientos sobre la temática abordada en la presente ley.**

Art. 11. – El Poder Ejecutivo Nacional propenderá, en materia de medicamentos, a una política de progresiva sustitución de importaciones.

Art. 12. – Invítase a las provincias a adherir a la presente ley. **Asimismo el Poder Ejecutivo Nacional queda facultado a suscribir convenios con las provincias y con el Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires a fin de delegar facultades de fiscalización.**

Art. 13. – Comuníquese al Poder Ejecutivo Nacional.

Dada en la sala de sesiones del Congreso Argentino, en Buenos Aires, a las 28 ago 2002

– REGISTRADO BAJO EL N° 25.649 –

*Eduardo O. Camaño. – Marcelo E. López Arias –
Eduardo D. Rollano. – Juan C. Oyarzún.*

NOTA: Los textos en negrita fueron observados. RECOPIACION DE NORMAS *

Dirección de Asuntos Jurídicos:

*Dra. Nora Adela Donato
Dra. Enriqueta Pearson
Dra. Laura Docarmo*

* Cabe aclarar que las normas transcriptas en la presente recopilación de textos legales, constituyen el marco jurídico general, no agotando la totalidad del plexo normativo vigente en la materia en nuestro país.

CONSIDERACIONES GENERALES

FARMACOPEA ARGENTINA SÉPTIMA EDICIÓN

CONSIDERACIONES GENERALES

La Farmacopea es el texto oficial que codifica los principios activos, excipientes y productos farmacéuticos y contiene las especificaciones que éstos deben cumplir para demostrar su calidad y resguardar la salud de la población.

Generalidades

La Farmacopea Argentina en su Séptima Edición, a diferencia de las anteriores, está compuesta por cuatro volúmenes, cada uno de los cuales se publicará anualmente, siendo oficial el primero a partir del año 2003. El título de la obra puede abreviarse como FA 7 y reemplaza a las ediciones anteriores. Cuando se emplea la sigla FA, sin ningún otro agregado, la misma se refiere a la FA 7 durante el tiempo que esta Farmacopea permanezca en vigencia. Estas consideraciones generales se aplicarán a las monografías, capítulos generales u otros textos incluidos en esta Farmacopea.

La expresión “Oficial” significa “de la Farmacopea Argentina” y se refiere a cualquier título, sustancia, preparación o ensayo incluido en las monografías y capítulos.

Las iniciales FA, acompañando al nombre oficial en el rótulo de un producto, indica que el mismo cumple con las especificaciones de la Farmacopea Argentina, aunque esto no constituye una certificación por parte de la misma.

El uso del título de una monografía supone que la sustancia, preparación o producto así designado se ajusta a las especificaciones de la monografía correspondiente. Tales referencias en los textos de la Farmacopea se indican mediante el título de la monografía en letra cursiva.

Tanto las monografías como los capítulos generales pueden contener excepciones a estas Consideraciones Generales, las mismas serán señaladas explícitamente, al igual que el procedimiento a seguir en cada caso. Para destacar la existencia de excepciones, se agregará la expresión: “A menos que se especifique de otro modo”. Asimismo, en caso de ausencia de una excepción explícita, las expresiones deberán interpretarse como se indica en este documento.

Los ensayos y valoraciones descriptos son los métodos oficiales sobre los cuales se fundamentan las especificaciones de la Farmacopea.

Para evitar repetir instrucciones comunes a un ensayo determinado, en las monografías, se establecen los requisitos en forma abreviada, indicando el nombre del capítulo correspondiente con un número de orden asignado entre los símbolos <y>, como por ej. <100>. *Cromatografía*, que luego es apropiadamente desarrollado en la sección *Métodos Generales de Análisis*.

Todas las declaraciones contenidas en las monografías, con las excepciones dadas más adelante, constituyen normas para las sustancias oficiales. Una sustancia es de calidad Farmacopea Argentina cuando cumple con todos los requisitos establecidos en la monografía respectiva.

Los requisitos establecidos en las monografías no son suficientes para asegurar la ausencia de todas las impurezas posibles. Los ensayos elegidos se han ideado para detectar o determinar las impurezas más significativas y para fijar el contenido límite de aquéllas. Queda a criterio del analista efectuar ensayos Adicionales a los indicados en las respectivas monografías para detectar otras impurezas no consideradas.

Definiciones

Medicamento: toda preparación o producto farmacéutico empleado para la prevención, diagnóstico y/o tratamiento de una enfermedad o estado patológico, o para modificar sistemas fisiológicos en beneficio de la persona a quien se le administra.

Principio activo o droga farmacéutica: toda sustancia química o mezcla de sustancias relacionadas, de origen natural o sintético, que poseyendo un efecto farmacológico específico, se emplea en medicina humana.

Especialidad medicinal o farmacéutica: todo medicamento, designado por un nombre convencional, sea o no una marca de fábrica o comercial, o por el nombre genérico que corresponda a su composición y contenido, preparado y envasado uniformemente para su distribución y expendio, de composición cuantitativa definida declarada y verificable, de forma farmacéutica estable y acción terapéutica comprobable.

Nombre genérico: denominación de un principio activo o droga farmacéutica o, cuando corresponda, de una asociación o combinación de principios

activos a dosis fijas, adoptada por la Autoridad Sanitaria Nacional o, en su defecto, la denominación común internacional de un principio activo recomendada por la Organización Mundial de la Salud.

Excipiente: es toda sustancia de origen natural o sintética presente en una preparación farmacéutica incorporada sin propósito terapéutico.

Producto farmacéutico: es un preparado que contiene uno o varios principios activos y excipientes, formulados bajo una determinada forma farmacéutica. Suele emplearse “preparación farmacéutica” como sinónimo de “producto farmacéutico”, para referirse tanto al producto a granel como al producto terminado.

Interpretación de los requisitos

Las normas farmacopeicas definen las características de un producto y establecen los ensayos que permiten demostrar que el mismo satisface los requisitos elementales de calidad, exigidos por la Autoridad Sanitaria.

Estas normas se aplican en cualquier momento de la vida útil del producto, desde la elaboración hasta su fecha de vencimiento.

No debe entenderse que el cumplimiento de las especificaciones establecidas en la monografía a muestras de un lote de producción asegure el cumplimiento de las normas farmacopeicas de todos los componentes del lote.

Los datos obtenidos a partir de estudios de validación del proceso de fabricación y de controles efectuados durante el proceso pueden dar mayores garantías del cumplimiento de los requisitos de una monografía en particular, que la información obtenida a partir del examen de un número determinado de unidades de ese lote.

Las tolerancias y límites expresados en las definiciones de las monografías son para compensar las variaciones inevitables durante la preparación del producto y el deterioro normal que se produce durante la vida útil del mismo.

Cuando se expresan límites en forma numérica, los límites superior e inferior de un intervalo incluyen esos dos valores y todos los valores intermedios. Los límites expresados en las definiciones de las monografías y en las especificaciones de los ensayos, independientemente de que éstos estén expresados en porcentajes o valores absolutos, son valores significativos hasta el último dígito.

En los procedimientos volumétricos, se establece el peso de la sustancia analizada que equivale a cada mililitro del valorante estandarizado. En estos casos, se entiende que el número de cifras significativas en la concentración

del valorante corresponde al número de cifras significativas en el peso de la sustancia analizada. Se deberán hacer las correcciones con respecto al blanco para todas las valoraciones volumétricas según corresponda (ver 780. *Volumetría*).

Cuando el resultado deba calcularse con referencia a la *sustancia seca*, se hará uso de las condiciones de secado que se indiquen en el ensayo *Pérdida por secado* en la monografía. Cuando el resultado se calcule con referencia a la *sustancia anhidra*, el contenido de agua será determinado por el método descrito en la monografía bajo el subtítulo *Agua*.

Agua

La expresión agua, empleada sin otra calificación significa Agua purificada y Agua libre de dióxido de carbono, es *Agua purificada* que ha sido calentada a ebullición durante al menos 5 minutos y enfriada en forma tal de evitar la absorción de dióxido de carbono atmosférico.

Agua purificada estéril - Es el Agua purificada esterilizada. Se emplea en la preparación de formas farmacéuticas líquidas no parenterales en las que se requiera una forma estéril de *Agua purificada*.

Agua para inyectables - La fuente de agua es agua potable, previamente purificada y sometida a destilación u ósmosis inversa. Debe cumplir con todos los requisitos de *Agua purificada* y, además, los requisitos para el ensayo de endotoxinas bacterianas (ver 330. *Ensayo de endotoxinas bacterianas*).

Agua estéril para inyectables - Es *Agua para inyectables* esterilizada. Se emplea principalmente como solvente de productos parenterales.

Agua bacteriostática para inyectables - Es *Agua estéril para inyectables* a la cual se le ha agregado uno o varios conservantes apropiados. Se utiliza como solvente de preparados parenterales. Puede envasarse en envases monodosis o multidosis de un tamaño no mayor a 30 ml.

Agua estéril para irrigación - Es *Agua para inyectables* esterilizada en envases monodosis de más de 1 litro destinados a una rápida descarga del contenido. No necesita cumplir con el ensayo <650>. *Particular en inyectables*.

Agua estéril para inhalación - Es *Agua para inyectables* envasada en envases monodosis no mayores a 20 ml y esterilizada. Se emplea en nebulizadores y en la preparación de soluciones para nebulizar.

Solución fisiológica

Cuando en las monografías o capítulos generales se indique *Solución fisiológica* emplear una solución de cloruro de sodio al 0,9% en agua purificada.

Solución fisiológica estéril - Es una solución de cloruro de sodio al 0,9% en agua para inyectables que cumple con los requisitos de <370>. *Ensayo de Esterilidad*.

Solución fisiológica para nebulizar - Es una solución de cloruro de sodio al 0,90 % en agua purificada preparada sin el agregado de conservantes, conservada en envases monodosis de hasta 20 ml, con ausencia de gérmenes revivificables en un mililitro y en cuyo rótulo se indica "Solución fisiológica para nebulizar. No inyectable".

Expresión de concentraciones

Los porcentajes de concentración se expresan de la siguiente manera:

Porcentaje peso en peso (% p/p): expresa el número de gramos de un soluto en 100 g de solución o mezcla.

Porcentaje peso en volumen (% p/v): expresa el número de gramos de un soluto en 100 ml de solución, y se utiliza prescindiendo de que el diluyente en cuestión sea agua u otro líquido.

Porcentaje volumen en volumen (% v/v): expresa el número de mililitros de un soluto en 100 ml de solución.

La expresión *porcentaje* empleada sin otro calificativo significa: porcentaje peso en peso para mezclas de sólidos y semisólidos, porcentaje peso en volumen para soluciones o suspensiones de sólidos en líquidos, porcentaje volumen en volumen para soluciones de líquidos en líquidos y porcentaje peso en volumen para soluciones de gases en líquidos.

Sustancias auxiliares

Se denomina *Sustancia auxiliar* a cualquier sustancia incorporada a las preparaciones oficiales, tales como colorantes, conservantes, saborizantes. La misma deberá ser inocua o agregada en una proporción que garantice la inocuidad, no tener influencia adversa sobre la seguridad y eficacia terapéutica de los principios activos y no interferir en los ensayos y valoraciones.

Sustancia oficial es aquella que no contiene sustancias auxiliares agregadas salvo que se permita específicamente en la monografía correspondiente. En este caso, el rótulo deberá indicar los nombres y las cantidades de las sustancias auxiliares agregadas.

Colorantes: son sustancias auxiliares incorporadas a las preparaciones oficiales

exclusivamente para dar color. Deberán satisfacer las especificaciones establecidas (ver 50. *Colorantes de uso farmacéutico*).

Conservantes: son sustancias auxiliares que se agregan a las preparaciones oficiales para protegerlas de la contaminación microbiana. La expresión "*conservante antimicrobiano apropiado*" implica que puede agregarse al preparado una sustancia auxiliar, siempre que cumplan con las especificaciones establecidas (ver 80. *Conservantes*).

Reactivos

La realización correcta de ensayos y valoraciones de esta Farmacopea, así como la obtención de resultados reproducibles y confiables, depende de la calidad de los reactivos empleados.

Todos los reactivos requeridos para los ensayos y valoraciones se definen en *Reactivos y Soluciones*.

Abreviaturas

La sigla *SR-FA* corresponde a *Sustancia de referencia de la FA*.

Las siglas (*SC*) y (*SR*) corresponden a *Solución Colorimétrica* y *Solución de Reactivo*, respectivamente indicadas en *Reactivos y Soluciones*.

La sigla (*SV*) corresponde a *Solución Volumétrica* e indica que tal solución está estandarizada de acuerdo con las instrucciones dadas en la monografía respectiva o bajo el título *Soluciones volumétricas* en *Reactivos y Soluciones*.

MONOGRAFÍAS

Fórmula Química

Cuando se conoce la composición química de una sustancia oficial, se especifica a título informativo la fórmula molecular y desarrollada, el peso molecular y el número CAS (Chemical Abstracts Service). Esta información se refiere a la sustancia químicamente pura y no se considera un indicador de la pureza del material oficial.

Cuando se especifica la configuración estereoquímica absoluta, se emplean los sistemas de designación propuestos por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) *R/S* y *E/Z*.

El nombre químico será otorgado según las reglas propuestas por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC).

Caracteres Generales

Las afirmaciones comprendidas bajo el subtítulo *Caracteres generales* referidas a términos como inodoro, prácticamente inodoro, con un débil olor característico o expresiones semejantes, se aplican

al examen después de la exposición al aire durante 15 minutos de un envase recientemente abierto del producto (envases que contengan no más de 25 g) o de una porción de aproximadamente 25 g del producto (en caso de envases más grandes) que haya sido trasladada de su envase a un cristizador, con una capacidad de aproximadamente 100 ml.

Solubilidad

El término parcialmente soluble se emplea en el caso de una mezcla en la que sólo una parte de sus componentes se disuelve. El término miscible se emplea para describir un líquido que es miscible en todas las proporciones con el solvente indicado.

Las indicaciones de solubilidad que figuran bajo el epígrafe *Caracteres generales* se expresan en términos cuyo significado, referido a una temperatura entre 15 y 30 °C, es el siguiente:

<i>Término descriptivo</i>	<i>Volúmenes aproximados de solvente en mililitros por gramo de sustancia</i>
Muy soluble	Inferior a 1
Fácilmente soluble	De 1 a 10
Soluble	De 10 a 30
Moderadamente soluble	De 30 a 100
Poco soluble	De 100 a 1.000
Muy poco soluble	De 1.000 a 10.000
Prácticamente insoluble	Más de 10.000

Identificación

Los ensayos de la Farmacopea que figuran después del subtítulo *Identificación* no están destinados a proporcionar una confirmación completa de la estructura química o composición del producto; su objeto es confirmar que el producto se ajusta a la descripción dada en el rótulo del envase. Cuando un producto no satisface los requisitos de un ensayo de identificación descripto, indica que el mismo no cumple con las especificaciones. Otros ensayos o especificaciones en la monografía a menudo contribuyen a establecer o confirmar la identidad del producto ensayado.

Ensayos y valoraciones

Los ensayos y las valoraciones descriptas en esta Farmacopea constituyen los métodos oficiales de análisis. El analista podrá emplear ensayos alternativos, previamente validados, si demuestran otorgar ventajas desde el punto de vista de la exactitud, precisión, sensibilidad, selectividad o simplifican el procedimiento sin modificar los atributos anteriores. Sin embargo, en caso de indecisión o litigio, los ensayos descriptos en esta Farmacopea serán los definitivos.

La concentración de impurezas establecida en ciertos ensayos se expresa entre paréntesis como porcentaje o partes por millón (ppm). En el caso que corresponda, el cumplimiento de este ensayo será necesario para establecer la conformidad de un producto.

Los materiales volumétricos, pesas y balanzas deberán ajustarse a las especificaciones establecidas en los capítulos <620>. *Materiales volumétricos* y <690>. *Pesas y balanzas*.

Cuando en un ensayo o valoración se indique que se debe examinar una cierta cantidad de sustancia o un número exacto de unidades de dosificación, la cantidad especificada representa un número mínimo que se elige únicamente para facilitar la manipulación analítica. Esto de ninguna manera limita la cantidad total de material a emplear.

Procedimientos

En todos los ensayos descriptos en esta Farmacopea, se deberá cumplir estrictamente con las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL).

La utilización de las siguientes expresiones se refieren a:

Blanco: cuando se indique que se deben hacer las correcciones necesarias por medio de una determinación con un control, tal determinación se hará empleando las mismas cantidades de los reactivos tratados de igual manera que la solución o mezcla que contiene la sustancia bajo valoración o ensayo, pero omitiendo dicha sustancia.

Baño de agua: cuando se indique el empleo de *baño de agua*, se empleará un baño de agua a ebullición salvo que se indique una temperatura distinta.

Baño de vapor: cuando se indique el empleo de *baño de vapor*, podrá emplearse la exposición al

vapor vivo fluente u otra forma de calor regulado, a una temperatura equivalente a la del vapor fluente.

Cepas microbianas: cuando se cita una *cepa microbiana* y se la identifica por el número de catálogo ATCC (American Type Culture Collection) o de otra colección similar, la cepa específica se empleará directamente o, si se subcultiva, se emplearán no más de cinco pasajes a partir de la cepa original.

Comparación de color: cuando se indique una *comparación visual de color o de turbidez*, deberán emplearse tubos de comparación de fondo plano (tubos de Nessler) cuyas medidas internas se correspondan lo más estrechamente posible. Para la comparación del color, los tubos en posición vertical deberán ser observados longitudinalmente a lo largo del tubo con una fuente de luz difusa sobre un fondo blanco, mientras que para la comparación de turbidez deberán ser observados transversalmente, colocados sobre un fondo oscuro, con ayuda de una fuente luminosa que los ilumine lateralmente.

Cuantitativamente y en etapas: cuando se indique que una solución debe ser diluida cuantitativamente y en etapas, una porción medida con exactitud será disuelta en agua u otro solvente en la proporción indicada en uno o más pasos. La elección del material volumétrico a emplearse deberá tener en cuenta los errores relativamente grandes que generalmente se asocian a materiales volumétricos de volumen pequeño (ver 620. *Materiales volumétricos*).

Densidad relativa: cuando no se indique lo contrario, la densidad relativa se calculará como la relación entre el peso de un volumen determinado de una sustancia en el aire a 25 °C y el peso de un volumen igual de agua a esa misma temperatura.

Desecador: la expresión *en un desecador* específica el empleo de un recipiente perfectamente cerrado, de tamaño y forma apropiados, que mantenga una atmósfera de bajo contenido de humedad mediante gel de sílice u otro desecante apropiado.

Filtrar: cuando se indique filtrar, sin otra calificación, se entenderá que el líquido debe ser filtrado a través de papel de filtro apropiado o con un medio equivalente de modo que el filtrado sea claro.

Ignición hasta peso constante: significa que deberá continuarse la ignición a 800 ± 25 °C a menos que se indique de otro modo, hasta que dos pesadas consecutivas no difieran en más de 0,50 mg por gramo de sustancia ensayada, haciendo la segunda pesada después de un período de 15 minutos de ignición adicional.

Indicador: cuando una solución de reactivo se utilice como indicador, se agregarán aproximadamente 0,2 ml o 3 gotas de la solución, generalmente cerca del punto final, a menos que se indique de otro modo.

Medidas de presión: el término *mm Hg* empleado en referencia a mediciones de presión se refiere al uso de un manómetro apropiado o un barómetro calibrado en términos de la presión ejercida por una columna de mercurio de la altura indicada.

Pesar y medir exactamente: las expresiones *pesar exactamente alrededor de* o *medir exactamente alrededor de* indican que se debe tomar una cantidad dentro de 100 ± 10 % del peso o volumen especificado. Sin embargo, el peso o volumen que se tome deberá ser determinado con exactitud y el resultado calculado sobre la base de la cantidad que se haya tomado. Se pueden tomar cantidades proporcionalmente mayores o menores que los pesos y volúmenes especificados, tanto para la Sustancia de Referencia como para la sustancia en ensayo, siempre que la medida se tome con exactitud y que se ajusten a los pasos siguientes, para proporcionar concentraciones equivalentes a las descritas. Expresiones tales como *25,0 ml* y *25,0 mg* se emplean en relación a medidas de volumen o de peso e indican que la cantidad debe ser *medida o pesada exactamente* dentro de los límites establecidos en los capítulos <620>. *Materiales volumétricos* o <690>. *Pesas y balanzas*.

Pipetas: cuando se indique el uso de una pipeta para medir un volumen, aquélla deberá cumplir con los requisitos establecidos en el capítulo <620>. *Materiales volumétricos* y deberá emplearse de manera que el error no exceda el límite establecido para una pipeta del tamaño especificado. Cuando se especifica el empleo de una pipeta, ésta puede sustituirse por una bureta apropiada que cumpla con los requisitos especificados en <620>. *Materiales volumétricos*.

Secado hasta peso constante: significa que deberá continuarse el secado a menos que se indique de otro modo, hasta que dos pesadas consecutivas no difieran en más de 0,50 mg por gramo de sustancia ensayada, haciendo la segunda pesada después de una hora adicional de secado; según la metodología establecida en la monografía correspondiente.

Soluciones: la expresión *1 en 10* significa que 1 parte en volumen de un líquido debe diluirse con, o 1 parte *en peso* de un sólido debe disolverse en suficiente solvente para que el volumen de la solución final sea de 10 partes en *volumen*.

La expresión *10:6:1* significa que los números respectivos de partes, en volumen, de los líquidos señalados deberán mezclarse, a menos que se indique de otro modo.

La expresión partes por millón (ppm) sin otra precisión, se refiere a peso con respecto a un millón de partes en peso.

Solventes: cuando no se menciona explícitamente el solvente, se entiende que la muestra es disuelta en agua.

Temperaturas: todas las temperaturas en esta Farmacopea se expresan en grados centígrados (Celsius) y todas las mediciones se hacen a 25 °C, a menos que se especifique de otro modo.

Tiempo límite: al efectuar ensayos y valoraciones se guardará 5 minutos para que se produzca la reacción, a menos que se especifique de otro modo.

Vacío: el término *al vacío* especifica la exposición a una presión menor de 20 mm Hg, a menos que se indique de otro modo. Cuando se especifique en la monografía correspondiente la desecación al vacío sobre un desecante, se deberá emplear un desecador al vacío, una pistola para desecar al vacío u otro instrumento apropiado para este fin.

MÉTODOS GENERALES DE ANÁLISIS

Cada capítulo general es designado por un número de orden seguido del nombre del mismo. Estos capítulos que incluyen los requerimientos generales para ensayos y valoraciones son numerados de 1 a 990 y los capítulos que forman los textos de información general son numerados a partir de 1000.

UNIDADES DE POTENCIA BIOLÓGICA

Para las sustancias que no puedan ser caracterizadas completamente por medios químicos o físicos, podrá ser necesario expresar la actividad en unidades de potencia biológica.

Las unidades de potencia biológica definidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) a través de Estándares Biológicos Internacionales y Preparaciones Biológicas de Referencia Internacionales son denominadas Unidades Internacionales (UI). Las unidades definidas en la *FA* son Unidades Internacionales y las monografías correspondientes se refieren a éstas.

Para los antibióticos cuya potencia se expresa en unidades, éstas son definidas por las correspondientes *Sustancias de referencia SR-FA*. Cada unidad es en general establecida, basada en la

definición de la Unidad Internacional de la OMS. Sin embargo, para la mayoría de los antibióticos no son necesarias las unidades biológicas de potencia y su actividad se expresa en unidades métricas (microgramos o miligramos) en función de sustancias químicamente definidas descritas en las monografías correspondientes.

ELABORACIÓN DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS

La elaboración de productos farmacéuticos deberá realizarse observando los principios de <1020>. *Buenas Prácticas de Fabricación y Control* y el producto resultante deberá cumplir con los requisitos técnicos establecidos en esta Farmacopea.

ENVASES

Los requisitos farmacopeicos para el empleo de envases se especifican en las monografías correspondientes.

El empleo de las siguientes expresiones descritas en esta Farmacopea se refieren a:

Envase con cierre inviolable: es aquél provisto de un dispositivo especial que revela inequívocamente si ha sido abierto.

Envase inactivo: es aquél que protege el contenido de los efectos de la luz, gracias a las propiedades específicas de los materiales con que está compuesto.

Envase bien cerrado: es el que evita el ingreso de sólidos extraños y la pérdida del contenido bajo las condiciones usuales de manejo, almacenamiento, distribución y transporte.

Envase de cierre perfecto: es aquél que protege el contenido de la contaminación con sustancias extrañas y evita la entrada de humedad, impidiendo la efervescencia, deliquesencia o evaporación bajo las condiciones usuales de manejo, almacenamiento, transporte, manteniendo su condición de cierre perfecto después de su manipulación.

Envase hermético: es aquel que no permite la entrada de sólidos, líquidos o gases en las condiciones usuales de manejo, almacenamiento, distribución y transporte.

Envase seguro para niños: es aquel que posee un mecanismo tal que dificulta su apertura directa. Dichos envases sólo pueden ser abiertos luego de recibir las instrucciones pertinentes.

Envase monodosis: es aquel que está diseñado para contener una cantidad de sustancia destinada a administrarse en una única dosis, inmediatamente después de abierto.

Envase multidosis: es aquel que permite la extracción de porciones sucesivas del contenido sin cambios en la potencia, calidad o pureza de la porción remanente.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

Las sustancias y las preparaciones descritas en la FA deberán almacenarse a temperatura ambiente, a menos que se especifique de otro modo.

El empleo de las siguientes expresiones descritas en esta Farmacopea se refieren a:

Almacenar en un freezer: corresponde al almacenamiento del producto a una temperatura establecida entre - 25 y - 10 °C.

Almacenar en un sitio frío: corresponde al almacenamiento del producto a una temperatura que no exceda los 8 °C. Una *heladera/refrigerador* es un sitio frío con una temperatura que se mantiene termostáticamente entre 2 y 8 °C.

Almacenar en un sitio fresco: corresponde al almacenamiento del producto a temperatura entre 8 y 15 °C. Las cámaras frías permiten obtener estas condiciones.

Almacenar a temperatura ambiente: corresponde al almacenamiento a la temperatura predominante en el área de trabajo.

Almacenar a temperatura ambiente controlada: corresponde al almacenamiento de un producto a temperatura termostáticamente controlada entre 20 y 25 °C.

Cálidos: cualquier temperatura entre 30 y 40 °C.

Calor excesivo: cualquier temperatura superior a 40 °C.

Evitar la congelación: cuando el congelamiento de un producto ocasionara la pérdida de potencia o cambio en las características fisicoquímicas del mismo, se incluirá en el rótulo del envase la instrucción: "Proteger al producto de la congelación".

ROTULADO

El rótulo de cada producto deberá establecer el contenido del o de los principios activos expresados en las monografías.

Cantidad de principio activo por unidad de dosificación: la potencia de un producto se expresa en el rótulo del envase como microgramos, miligramos, gramos, porcentaje del ingrediente, o unidad internacional terapéuticamente activa presente en la preparación.

Las formas farmacéuticas como cápsulas, comprimidos u otras formas de dosificación deberán rotularse de modo que expresen la cantidad de cada principio activo contenido en cada unidad de dosificación.

En el caso de líquidos de administración oral o sólidos para reconstituir, deberán rotularse en términos, como por ej., *cada 5 mililitros* del líquido o del preparado resultante.

Rotulado de electrolitos: la concentración y dosificación de electrolitos para terapias de reposición deberá especificarse en miliequivalentes-gramo (mEq).

Rotulado del contenido alcohólico: el contenido de alcohol en una preparación líquida deberá especificarse como % v/v de etanol.

Fecha de vencimiento: la fecha de vencimiento identifica el fin del período de vida útil del producto, durante el cual el mismo deberá cumplir con los requisitos establecidos en la presente Farmacopea, siempre que se conserve en las condiciones de almacenamiento establecidas.

Todos los productos deberán exhibir la fecha de vencimiento en el rótulo y en su envase primario, la cual es asignada a través de estudios de estabilidad realizados para esa formulación en un envase predefinido y autorizado por la Autoridad Sanitaria.

UNIDADES DEL SISTEMA INTERNACIONAL (SI) Y EQUIVALENCIA CON OTRAS UNIDADES DE MEDIDA

Los nombres y símbolos empleados en la *Farmacopea Argentina* para las unidades de medición son los del Sistema Internacional de Unidades (SI), establecido por la Conferencia General de Pesas y Medidas. Comprende tres clases de unidades: unidades básicas, unidades derivadas y unidades complementarias.

Cantidad		Unidad	
Nombre	Símbolo	Nombre	Símbolo
Longitud	<i>l</i>	metro	M
Masa	<i>m</i>	kilogramo	Kg
Tiempo	<i>t</i>	segundo	S
Corriente eléctrica	<i>I</i>	amperio	A
Temperatura termodinámica	<i>T</i>	kelvin	K
Cantidad de sustancia	<i>n</i>	mol	Mol
Intensidad luminosa	<i>I_v</i>	candela	Cd

Unidades utilizadas con el SI

Cantidad	Unidad		Valor en unidades SI
	Nombre	Símbolo	
Tiempo	Minuto	<i>min</i>	1 min = 60 s
	Hora	<i>h</i>	1 h = 60 min = 3.600 s
	Día	<i>d</i>	1d = 24 h = 86.400 s
Ángulo plano	Grado	°	1° = (π/180) rad
Volumen	Litro	<i>l</i>	1 l = 1 dm ³ = 10 ⁻³ m ³
Masa	Tonelada	<i>t</i>	1 t = 10 ³ kg
Frecuencia de giro	revolución por minuto	<i>rpm</i>	1 rpm = (1/60) s ⁻¹

Múltiplos y submúltiplos decimales de las unidades

Factor	Prefijo	Símbolo	Factor	Prefijo	Símbolo
10 ¹⁸	exa	<i>E</i>	10 ⁻¹	deci	<i>d</i>
10 ¹⁵	peta	<i>P</i>	10 ⁻²	centi	<i>c</i>
10 ¹²	tera	<i>T</i>	10 ⁻³	mili	<i>m</i>
10 ⁹	giga	<i>G</i>	10 ⁻⁶	micro	<i>μ</i>
10 ⁶	mega	<i>M</i>	10 ⁻⁹	nano	<i>n</i>
10 ³	kilo	<i>k</i>	10 ⁻¹²	pico	<i>p</i>
10 ²	hecto	<i>h</i>	10 ⁻¹⁵	femto	<i>f</i>
10 ¹	deca	<i>da</i>	10 ⁻¹⁸	atto	<i>a</i>

Unidades SI utilizadas en la *Farmacopea Argentina* y su equivalencia con otras unidades

Cantidad		Unidad				Conversión de otras unidades en unidades SI
Nombre	Símbolo	Nombre	Símbolo	Expresión en unidades SI básicas	Expresión en otras unidades SI	
Número de onda	<i>ν</i>	uno por metro	1/m	m ⁻¹		
Longitud de onda	<i>λ</i>	micrómetro	μm	10 ⁻⁶ m		
		nanómetro	Nm	10 ⁻⁹ m		
Frecuencia	<i>ν</i>	hertz	Hz	s ⁻¹		
Área	<i>A, S</i>	metro cuadrado	m ²	m ²		
Volumen	<i>V</i>	metro cúbico	m ³	m ³		1 ml = 1 cm ³ = 10 ⁻⁶ m ³
Densidad (concentración de masa)	<i>ρ</i>	kilogramo por metro cúbico	kg/m ³	kg m ⁻³		1 g/ml = 1 g/cm ³ = 10 ³ kg/m ³
Velocidad	<i>v</i>	metro por segundo	m/s	m s ⁻¹		
Fuerza	<i>F</i>	newton	N	m kg s ⁻²		1 dina = 1 g cm s ⁻² = 10 ⁻⁵ N
						1 kp = 9,80665 N
Presión	<i>P</i>	pascal	Pa	m ⁻¹ kg s ⁻²	N m ⁻²	1 dina/cm ² = 10 ⁻¹ Pa = 10 ⁻¹ N m ⁻²
						1 atm = 101.325 Pa = 101,325 kPa
						1 bar = 105 kPa = 0,1 Mpa
						1 mmHg = 133,322387 Pa
						1 Torr = 133,322368 Pa
						1 psi = 6,894757 kPa

Viscosidad absoluta	η	pascal segundo	Pa s	$\text{m}^{-1} \text{kg s}^{-1}$	N s m^{-2}	$1 \text{ P} = 10^{-1} \text{ Pa s} = 10^{-1} \text{ N s m}^{-2}$ $1 \text{ cP} = 1 \text{ mPa s}$
Viscosidad cinemática	ν	metro cuadrado por segundo	m^2/s	$\text{m}^2 \text{ s}^{-1}$	$\text{Pa s m}^3 \text{ kg}^{-1}$ N m s kg^{-1}	$1 \text{ St} = 1 \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1} = 10^{-4} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$
Energía	W	joule	J	$\text{m}^2 \text{ kg s}^{-2}$	N m	$1 \text{ erg} = 1 \text{ cm}^3 \text{ g s}^{-2} = 1 \text{ dina cm} = 10^{-1} \text{ J}$ $1 \text{ cal} = 4,1868 \text{ J}$
Potencia (flujo de radiación)	P	watio	W	$\text{m}^2 \text{ kg s}^{-3}$	N m s^{-1} J s^{-1}	$1 \text{ erg/s} = 1 \text{ dina cm s}^{-1} = 10^{-7} \text{ W} =$ $10^{-7} \text{ N m s}^{-1} = 10^{-7} \text{ J s}^{-1}$
Dosis absorbida (energía radiante)	D	gray	Gy	$\text{m}^2 \text{ s}^{-2}$	J kg^{-1}	$1 \text{ rad} = 10^{-2} \text{ Gy}$
Potencial eléctrico (fuerza electromotriz)	U	volt	V	$\text{m}^2 \text{ kg s}^{-3} \text{ A}^{-1}$	W A^{-1}	
Resistencia eléctrica	R	ohm	Ω	$\text{m}^2 \text{ kg s}^{-3} \text{ A}^{-2}$	V A^{-1}	
Cantidad de electricidad	Q	coulomb	C	A s		
Actividad de un radionucleído	A	becquerel	Bq	s^{-1}		$1 \text{ Ci} = 37 \times 10^9 \text{ Bq} = 37 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$
Concentración molar	M	molaridad	mol/dm^3	10^3 mol m^{-3}		$1 \text{ mol/l} = 1 \text{ M} = 1 \text{ mol/dm}^3 = 10^3 \text{ mol m}^{-3}$

MÉTODOS GENERALES DE ANÁLISIS

MÉTODOS GENERALES DE ANÁLISIS

- <10> - Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos
- <20> - Análisis térmico
- <30> - Capacidad neutralizante de ácido
- <40> - Carbono orgánico total
- <50> - Colorantes de uso farmacéutico
- <60> - Combustión en erlenmeyer con oxígeno
- <70> - Conductividad
- <80> - Conservantes
- <90> - Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles
- <100> - Cromatografía
- <110> - Determinación de aflatoxinas
- <120> - Determinación de agua
- <130> - Determinación de alcohol
- <140> - Determinación de aluminio
- <150> - Determinación de cinc
- <160> - Determinación de la densidad relativa
- <170> - Determinación de la rotación óptica
- <180> - Determinación de la temperatura de solidificación
- <190> - Determinación de la viscosidad
- <200> - Determinación de nitrógeno
- <210> - Determinación del contenido extraíble del envase
- <220> - Determinación del contenido neto del envase
- <230> - Determinación del índice de refracción
- <240> - Determinación del intervalo de destilación
- <250> - Determinación del pH
- <260> - Determinación del punto de fusión
- <270> - Determinación del residuo de ignición
- <280> - Disolución completa
- <290> - Distribución del tamaño de partícula en polvos
- <300> - Electroforesis
- <310> - Ensayo de disgregación
- <320> - Ensayo de disolución
- <330> - Ensayo de endotoxinas bacterianas
- <340> - Ensayo de piretógenos
- <350> - Ensayo de sustancias fácilmente carbonizables
- <360> - Ensayo de toxicidad anormal
- <370> - Ensayos de esterilidad
- <380> - Ensayos de reactividad biológica
- <390> - Ensayos farmacotécnicos para aerosoles
- <400> - Ensayos farmacotécnicos para supositorios
- <410> - Ensayos generales de identificación
- <420> - Envases primarios de plástico
- <430> - Envases de vidrio
- <440> - Espectrofotometría de absorción y emisión atómica
- <450> - Espectrofotometría de fluorescencia
- <460> - Espectrofotometría infrarroja
- <470> - Espectrofotometría ultravioleta y visible
- <480> - Grasas y aceites fijos
- <490> - Identificación de bases orgánicas nitrogenadas
- <500> - Identificación de tetraciclinas
- <510> - Impurezas comunes
- <520> - Impurezas orgánicas volátiles
- <530> - Liberación de principios activos
- <540> - Límite de arsénico
- <550> - Límite de calcio, potasio y sodio
- <560> - Límite de cloruro y sulfato
- <570> - Límite de dimetilnilina
- <580> - Límite de hierro
- <590> - Límite de metales pesados
- <600> - Límite de plomo
- <610> - Límite de selenio
- <620> - Materiales volumétricos

- <630> - Métodos de farmacognosia
- <640> - Osmolalidad y Osmolaridad
- <650> - Partículas en inyectables
- <660> - Partículas metálicas en ungüentos oftálmicos
- <670> - Pérdida por calcinación
- <680> - Pérdida por secado
- <690> - Pesas y balanzas
- <700> - Polarografía
- <710> - Sales de bases orgánicas nitrogenadas
- <720> - Termómetros
- <730> - Titulación con nitrito
- <740> - Uniformidad de unidades de dosificación
- <750> - Valoración de esteroides
- <760> - Valoración iodométrica de antibióticos beta-lactámicos
- <770> - Valoración microbiológica de antibióticos
- <780> - Volumetría

20. ANÁLISIS TÉRMICO

Este análisis permite obtener información sobre propiedades y transformaciones físicas y/o químicas de una muestra cuando es sometida a variaciones de temperatura en una atmósfera específica, como ser: características de los cristales, estado, transformaciones polimórficas, transiciones vítreas, temperaturas y calores específicos de transición y de fusión, fenómenos de sublimación, interacciones sólido-sólido, etc. La medición instrumental de estos fenómenos tiene la ventaja de poseer alta sensibilidad, precisión y exactitud.

El análisis térmico permite la identificación, control de pureza y estabilidad de las sustancias, ya que las transiciones de estado ocurren a temperaturas características para cada una de ellas. Las técnicas de Análisis Térmico que se emplean con mayor frecuencia son: la Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB), el Análisis Térmico Diferencial (ATD), el Análisis Termogravimétrico (ATG) y el Análisis Termomecánico (ATM). Las propiedades medidas por estas técnicas se indican en la *Tabla 1*.

Tabla 1.

Técnica	Propiedad medida
CTB	flujo de calor, cambio de energía
ATD	diferencia de temperaturas
ATG	masa, peso
ATM	deformación

La información dada por las diferentes técnicas se resume en la *Tabla 2*, excepto para el Análisis Térmico Diferencial, cuyas aplicaciones varían según las características de los aparatos.

Tabla 2.

Información	CDB	ATG	ATM
Capacidad calorífica específica	SI		
Coefficiente lineal de expansión			SI
Comportamiento viscoelástico			SI
Temperatura de fusión	SI		
Calor de fusión, cristalinidad	SI		SI
Evolución de la fusión, fracción líquida	SI		
Identificación y pureza de cristales (material no polimérico)	SI	SI	
Evaporación, sublimación, desorción	SI	SI	
Polimorfismo	SI		SI
Pseudopolimorfismo	SI	SI	
Mesofases en cristales líquidos	SI		
Transiciones vítreas, suavizado	SI		
Descomposición térmica, pirólisis, despolimerización, estabilidad térmica	SI	SI	SI
Estabilidad/descomposición oxidativa	SI	SI	SI
Compatibilidad de sustancias entre sí y de sustancias con el material de empaque	SI		
Polimerización, curado	SI	SI	
Cinética de reacción	SI	SI	

Es necesario incluir en cada registro térmico una descripción completa de las condiciones empleadas, entre las que se encuentran: marca y modelo del aparato, registro de la última calibración, tamaño e identificación de la muestra, material, capacidad y estado del crisol empleado para contener la muestra, composición y caudal

del gas empleado, presión del sistema, programa de temperaturas y sensibilidad de las determinaciones.

Calorimetría diferencial de Barrido (CDB)

Este análisis mide la absorción o desprendimiento de calor producida durante el calentamiento o enfriamiento de una muestra

(procesos dinámicos), o durante el mantenimiento de la misma a una temperatura fija (proceso isotérmico), detectando cualquier fenómeno (transiciones físicas o reacciones químicas) acompañado por una entalpía. El calentamiento se produce en un horno provisto de un sensor altamente sensible, que permite medir la diferencia entre los flujos de calor de la muestra y un crisol de referencia.

Análisis de impurezas eutécticas -

La fusión de un compuesto cristalino puro debe producirse dentro de un intervalo de temperatura muy reducido. La presencia de *impurezas eutécticas* produce una expansión del intervalo de fusión de las mismas. Este fenómeno puede verificarse a través de los registros térmicos de muestras con diferentes porcentajes de impurezas, en los cuales el intervalo de fusión se amplía a medida que aumenta la concentración de éstas, disminuyendo a su vez la temperatura del pico de fusión. Un material con 99% de pureza funde aproximadamente en un 20% a una temperatura 3°C por debajo del punto de fusión del material puro. El fundamento de la determinación de pureza de una sustancia se basa en el mencionado fenómeno, que relaciona la disminución del punto de fusión con la cantidad de impurezas presentes en la misma.

Las características de las *impurezas eutécticas* es que son solubles en la fase líquida formada durante la fusión, pero no lo son en la fase sólida del componente principal. Son necesarias semejanzas químicas para que se produzca la solubilidad en el material fundido. Las impurezas de síntesis generalmente son similares al producto final y no presentan problemas de solubilidad en el material fundido.

La evaluación de la curva de fusión por Calorimetría Diferencial de Barrido, a través de la ley de Van't Hoff sobre la depresión del punto de fusión de sistemas eutécticos, en su forma simplificada [ver ecuación (1)], permite obtener los parámetros de fusión (temperatura, intervalo y calor de fusión, y cálculo de la pureza eutéctica) con muestras del orden del miligramo. La simplificación es apropiada, considerando que la expansión del intervalo de fusión es pequeña cuando la concentración de impurezas es baja.

Se obtiene así la siguiente relación entre la fracción molar de la impureza y la disminución del punto de fusión:

$$T_f = T_0 - x_2 \frac{RT_0^2}{\Delta H_f} \quad (1)$$

en la cual T_f la temperatura de la muestra en el proceso de fusión, en K, durante el equilibrio entre los cristales sólidos del componente principal y la fase líquida, T_0 es la temperatura de fusión, en K, del componente principal puro, x_2 es la fracción molar del componente minoritario (impureza) en la fase líquida, durante el proceso de fusión, ΔH_f es el calor molar de fusión del componente principal y R es la constante de los gases ($R = 8,134 \text{ J/K mol}$).

Analizando el proceso de calentamiento de una muestra con impurezas eutécticas, a través de un diagrama de fases, se observa que el total de la impureza funde a la temperatura eutéctica, por arriba de la cual la fase sólida consiste sólo en el componente principal puro. En tanto la temperatura se aproxima al punto de fusión T_f , la fracción molar de la impureza en la fase líquida x_2 disminuye constantemente ya que el componente principal puro se disuelve en la solución eutéctica durante este intervalo, verificándose la ecuación (2):

$$x_2 = x_0^* \frac{1}{F} \quad (2)$$

en la cual x_2 es la fracción molar de la impureza en la fase líquida en cualquier punto de equilibrio durante el proceso de fusión, x_2^* es la fracción molar de la impureza en la fase líquida de la sustancia completamente fundida o en la sustancia original y F es la fracción fundida.

En la ecuación (2) se observa que la concentración de la impureza en la fase líquida, a cualquier temperatura de equilibrio durante la fusión, es inversamente proporcional a la fracción fundida a esa temperatura.

En la temperatura de fusión, T_f , F es igual a 1, y x_2 es iguala x_2^* .

La combinación de las ecuaciones (1) y (2) da origen a la ecuación (3):

$$T_f = T_0 - \frac{x_2^* RT_0^2}{\Delta H_f} \frac{1}{F} \quad (3)$$

Según esta función, el gráfico de las temperaturas de equilibrio T_f de la muestra durante la fusión, en función de la inversa de la fracción fundida $1/F$, es una línea recta cuya pendiente es igual a la disminución del punto de fusión. El punto de fusión teórico de la sustancia pura se obtiene mediante la extrapolación a $1/F$ igual a cero. Las desviaciones de la linealidad de

esta recta son corregidas a través de factores que modifican los valores de ΔH_f obtenidos.

En esta expresión se observa que la disminución del punto de fusión es directamente proporcional a la fracción molar de la impureza.

Estas evaluaciones se aplican con exactitud cuando las impurezas no exceden el 2% en moles.

Las *impurezas no eutécticas* no son evaluables a través de CDB. Consisten en moléculas que presentan la misma forma, tamaño y carácter que el componente principal y se acomodan en la matriz del cristal del componente principal sin modificación de su estructura, situación, favorecida en cristales menos ordenados, cuyos valores de fusión son más bajos. En tales casos, las estimaciones de pureza arrojan valores más altos que los reales. Su efecto puede ser incluso el de aumentar el punto de fusión. Ejemplos de *impurezas no eutécticas* son los cristales mixtos y las soluciones sólidas.

A las sustancias que presentan *estados polimórficos* no se les determina la pureza, a menos que se conviertan completamente en una de las modificaciones estables durante la fusión.

Por otro lado, la CDB y el ATD son intrínsecamente útiles para detectar y controlar el polimorfismo.

El análisis de pureza no debe aplicarse a muestras que funden presentando simultáneamente fenómenos de evaporación y/o descomposición.

Análisis Térmico Diferencial (ATD)

Este análisis mide la diferencia de temperatura entre la muestra en ensayo y una referencia inerte, ambas calentadas bajo las mismas condiciones, mientras que la CDB permite cuantificar las absorciones y desprendimiento de calor. Actualmente, de los análisis de ATD también pueden obtenerse resultados calorimétricos cuantificables.

Análisis termogravimétrico (ATG)

Este análisis registra el peso de la muestra en función de la temperatura o del tiempo de calentamiento, mediante el empleo de una termobalanza. Incluye programas de calentamiento dinámico o de temperatura fija (proceso isotérmico). Suministra más información que la pérdida por secado a una temperatura determinada, ya que detecta las temperaturas a las que se desprenden las sustancias volátiles retenidas, además de cuantificar los respectivos desprendimientos.

Muchas sustancias tienen la capacidad de formar hidratos y/o solvatos. En los primeros, el

agua está presente no sólo en su superficie como humedad, sino también en el cristal. Esta propiedad, conocida como *pseudopolimorfismo*, puede conducir a complejos procesos de fusión.

Generalmente, la pérdida de solvente adsorbido en la superficie puede distinguirse de la pérdida de solvente ocluido en el cristal y de las pérdidas de masa producidas por descomposición de la sustancia.

Las mediciones se llevan a cabo bajo reflujo programado de un gas apropiado. El contenido porcentual de pérdida, G, se calcula por la fórmula siguiente:

$$G (\% \text{ de pérdida}) = 100 \Delta m/m_0$$

en la cual Δm es la pérdida de masa y m_0 es el peso inicial de la muestra.

Dado que el Análisis Termogravimétrico no identifica específicamente los productos de reacción, pueden analizarse los gases desprendidos con metodologías apropiadas. También se emplea para la caracterización de sustancias la combinación de CDB y ATG.

Aparato - Consta de una microbalanza asociada a una fuente de calor programable. Los aparatos difieren, principalmente, en el intervalo de masas aceptable para las muestras a analizar y la forma de detección de la temperatura de la muestra. Deben realizarse calibraciones periódicas de las determinaciones de masa, mediante el empleo de pesas patrón y de la escala de temperatura, empleando Sustancias de referencia apropiadas.

Análisis Termomecánico (ATM)

Este análisis mide los cambios dimensionales de una muestra bajo la acción de pequeñas cargas (modo dilatométrico), en función de la temperatura o el tiempo. Además de la detección de las transiciones vítreas, es importante el cálculo de los parámetros Coeficiente local de expansión, Conversión y Coeficiente medio de expansión.

30. CAPACIDAD NEUTRALIZANTE DE ÁCIDO

Este ensayo se emplea para la determinación de la capacidad neutralizante de ácido de aquellos medicamentos destinados a controlar los efectos de la acidez gástrica. [NOTA: todos los ensayos se realizan a 37 ± 3 °C].

Calibración del medidor de pH - Calibrar un medidor de pH empleando solución reguladora para calibración de biftalato de potasio 0,05 M y solución reguladora para calibración de tetraoxalato de potasio 0,05 M según se indica en <250>. *Determinación del pH.*

Agitador magnético - Transferir 100 ml de agua a un vaso de precipitados de 250 ml que contiene una barra de agitación magnética de 40 mm × 10 mm, recubierta con perfluorocarbono sólido y que tiene un anillo en su centro. Ajustar la velocidad de agitación a 300 ± 30 rpm cuando la barra se centra en el vaso, empleando un tacómetro óptico apropiado.

Preparación muestra -

Polvos - Transferir una porción exactamente pesada de la muestra, especificada en la monografía correspondiente, a un vaso de precipitados de 250 ml, agregar 70 ml de agua y mezclar en el *Agitador magnético* durante 1 minuto.

Sólidos efervescentes - Transferir una cantidad exactamente pesada, equivalente a la dosis mínima indicada en el rótulo, a un vaso de precipitados de 250 ml, agregar 10 ml de agua y agitar rotando suavemente el vaso de precipitados hasta que la efervescencia termine. Agregar otros 10 ml de agua y agitar por rotación. Lavar las paredes del vaso con 50 ml de agua y mezclar en el *Agitador magnético* durante 1 minuto.

Suspensiones y otras formas líquidas - Homogeneizar el contenido del envase y determinar la densidad. Transferir una cantidad exactamente pesada de la mezcla Homogénea, equivalente a la dosis mínima indicada en el rótulo, a un vaso de precipitados de 250 ml, agregar agua hasta obtener

un volumen total de aproximadamente 70 ml y mezclar en el *Agitador magnético* durante 1 minuto.

Comprimidos - Pesar no menos de veinte comprimidos y determinar el peso promedio. Moler los comprimidos a polvo fino, mezclar hasta obtener una mezcla uniforme y transferir una cantidad exactamente pesada del polvo, equivalente a la dosis mínima indicada en el rótulo, a un vaso de precipitados de 250 ml. Si se desea, se puede humedecer el polvo agregando no más de 5 ml de alcohol (neutralizado a un pH aparente de 3,5) y mezclar hasta humectar completamente. Agregar 70 ml de agua y mezclar en el *Agitador magnético* durante 1 minuto.

Cápsulas - Pesar exactamente no menos de veinte cápsulas. Retirar completamente el contenido de cada cápsula, con la ayuda de un hisopo de algodón si fuera necesario. Pesar exactamente las cápsulas vacías y determinar el peso promedio del contenido. Mezclar el polvo extraído de las cápsulas hasta obtener una mezcla uniforme y proceder según se indica en Comprimidos, comenzando donde dice "*transferir una cantidad exactamente pesada...*".

Procedimiento - Transferir 30,0 ml de ácido clorhídrico 1,0 N (SV) a la *Preparación muestra* correspondiente mientras se agita continuamente con un *Agitador magnético*. [NOTA: cuando la capacidad neutralizante de ácido de la muestra ensayada es mayor de 25 mEq, emplear 60,0 ml de ácido clorhídrico 1,0 N (SV)]. Agitar durante 15 minutos exactamente medidos luego de la adición del ácido, y en un período que no exceda los 5 minutos adicionales, titular el ácido clorhídrico en exceso con hidróxido de sodio 0,5 N (SV) hasta obtener un pH estable de 3,5 (durante 10 a 15 segundos). Calcular el número de mEq de ácido consumido y expresar el resultado en términos de miliequivalentes de ácido consumido por gramos de la sustancia ensayada. Cada mililitro de ácido clorhídrico 1,0 N equivale a 1 mEq de ácido consumido.

40. CARBONO ORGÁNICO TOTAL

Este ensayo se emplea para determinar la cantidad de carbono que forma parte de los compuestos orgánicos presentes en el agua. Normalmente, el carbono orgánico es oxidado a dióxido de carbono por combustión, por radiación ultravioleta o por la adición de agentes oxidantes. La cantidad de dióxido de carbono generada en el proceso de descomposición es medida empleando un método apropiado, como por ej., por medio de un analizador infrarrojo de gases, por medición de la conductividad eléctrica o de la resistividad. La cantidad de carbono orgánico presente en el agua puede calcularse a partir de la cantidad de dióxido de carbono medida por los métodos mencionados anteriormente.

El carbono presente en el agua puede tener dos orígenes: carbono orgánico y carbono inorgánico. La cantidad de carbono orgánico se mide por dos métodos: uno se basa en medir la cantidad de carbono total en el agua, a la cual finalmente se le resta la cantidad de carbono inorgánico; el otro se basa en extraer el carbono inorgánico del agua a ensayar, quedando finalmente una cantidad remanente de carbono que representa el carbono orgánico.

Aparato - Consta de un inyector para la muestra, un dispositivo de descomposición, un sistema de separación del dióxido de carbono, un detector y un procesador de datos o un registrador. Debe calibrarse según las instrucciones del fabricante y debe ser capaz de medir cantidades de carbono orgánico por debajo de 0,050 mg por litro.

El inyector está destinado a permitir la inyección de una cantidad específica de muestra por medio de una microjeringa u otro dispositivo de muestreo. El dispositivo de descomposición, empleado para la combustión, consta de un tubo de combustión y un horno eléctrico para calentar la muestra. Ambos dispositivos se ajustan para operar a temperaturas específicas. El dispositivo de descomposición para radiación ultravioleta o para la adición de agentes oxidantes puede constar, tanto de un compartimiento para la reacción de oxidación y una lámpara de rayos ultravioleta, o bien de la combinación de una lámpara ultravioleta con un inyector para el reactivo oxidante o de la combinación de un sistema de calentamiento con un inyector para el reactivo oxidante. El dispositivo de descomposición para ambos métodos, cuando se emplea una solución de dodecibencenosulfonato de sodio como muestra, debe generar no menos de 0,450 mg por litro de carbono orgánico (el valor teórico del carbono orgánico total en esta solución

es de 0,806 mg por litro). El sistema de separación de dióxido de carbono elimina el agua formada en el proceso de descomposición o separa dióxido de carbono de los productos de descomposición y demás componentes de la muestra. Para detectar dióxido de carbono se emplea un analizador infrarrojo de gases y un medidor de conductividad o de resistencia eléctrica, los cuales son capaces de convertir la concentración de dióxido de carbono en una señal eléctrica cuantificable. El procesador de datos calcula la concentración de carbono orgánico total en la muestra, basándose en la señal eléctrica originada por el detector.

Reactivos y soluciones estándar - [NOTA: alternativamente a los reactivos y soluciones descritos a continuación, pueden emplearse aquellos suministrados o recomendados por el fabricante del aparato].

Agua para realizar mediciones - Se emplea para preparar las soluciones estándar, las soluciones del reactivo oxidante o para lavar el equipo. La cantidad de carbono orgánico, cuando se recolecta dentro del envase de muestra, no debe ser mayor de 0,250 mg por litro.

Solución estándar de biftalato de potasio - La concentración de esta solución es determinada según las especificaciones del fabricante del aparato. Secar el biftalato de potasio a 105 °C durante 4 horas y dejar enfriar en un desecador con gel de sílice. Pesar exactamente la cantidad especificada de biftalato de potasio seco y disolver en *Agua para realizar mediciones*.

Solución estándar para medir carbono inorgánico - La concentración de esta solución es determinada según las indicaciones del fabricante del aparato. Secar bicarbonato de sodio en un desecador con ácido sulfúrico durante no menos de 18 horas. Secar, separadamente, carbonato de sodio entre 500 y 600 °C durante 30 minutos y dejarlo enfriar en un desecador con gel de sílice. Pesar exactamente las cantidades especificadas de los compuestos de modo que la relación de su contenido de carbono sea (1:1) y disolver en *Agua para realizar mediciones*.

Reactivo oxidante - Disolver la cantidad especificada de persulfato de potasio u otra sustancia que se pueda emplear con el mismo propósito, en *Agua para realizar mediciones*, para lograr la concentración sugerida para el aparato.

Gas para eliminar el carbono inorgánico o gas transportador - Si fuera necesario, emplear para dicho propósito nitrógeno, oxígeno u otros gases.

Acido para eliminar el carbono inorgánico - Acido clorhídrico diluido, ácido fosfórico o cualquier otro ácido que se pueda emplear para dicho propósito, en suficiente cantidad de *Agua para realizar mediciones*, para obtener la concentración especificada por el fabricante del aparato.

Procedimiento - Emplear el método, analítico apropiado según el aparato. Sumergir el recipiente para la muestra, antes de ser empleado en una mezcla de peróxido de hidrógeno al 30 % y ácido nítrico diluido (1:1), lavando finalmente con *Agua para realizar mediciones*. Lavar la microjeringa con una mezcla constituida por una solución de hidróxido de sodio (1 en 20) y etanol anhidro (1:1) o ácido clorhídrico diluido (1 en 4), lavando finalmente con *Agua para realizar mediciones*.

Calibrar el aparato con la *Solución estándar de bifalato de potasio* o la recomendada por el fabricante del aparato, emplear el procedimiento sugerido por el fabricante.

Es recomendable que el aparato se instale en la línea de producción del agua a ensayar. De no ser así, llevar a cabo este ensayo en un área libre de solventes orgánico u otras sustancias que afecten el resultado del ensayo. Realizar las mediciones inmediatamente después de la recolección de la muestra.

MEDICIÓN DEL CARBONO ORGÁNICO POR SUSTRACCIÓN DEL CARBONO INORGÁNICO DEL CARBONO TOTAL

De acuerdo con los procedimientos del ensayo establecidos por el fabricante del aparato, inyectar en el dispositivo de inyección un volumen de muestra apropiado en relación con la cantidad de carbono a determinar y descomponer el carbono orgánico e inorgánico presentes en la muestra. Detectar el dióxido de carbono generado y calcular la cantidad de carbono total, emplear para ello un procesador de datos o un registrador. Determinar exclusivamente la cantidad de carbono inorgánico del mismo modo en que se realizó la determinación de carbono total, modificando la configuración del aparato si fuera necesario. La cantidad de carbono orgánico se obtiene restando la cantidad de carbono inorgánico de la cantidad de carbono total.

MEDICIÓN DEL CARBONO ORGÁNICO DESPUÉS DE LA EXTRACCIÓN DEL CARBONO INORGÁNICO

Extraer el carbono inorgánico de la muestra por adición de *Acido para eliminar el carbono inorgánico* seguido por el burbujeo del *Gas transportador* (como por ej., nitrógeno) si fuera necesario. De acuerdo con los procedimientos del

ensayo establecidos por el fabricante del aparato, inyectar en el dispositivo de inyección un volumen de muestra apropiado en relación con la cantidad de carbono a determinar y descomponer la muestra. Detectar el dióxido de carbono generado por medio del detector y calcular la cantidad de carbono orgánico, empleando un procesador de datos o un registrador.

Para el caso de los aparatos que directamente extraen el carbono inorgánico, inyectar primero en el dispositivo de inyección un volumen de muestra apropiado en relación con la cantidad de carbono a determinar, de acuerdo con los procedimientos del ensayo establecidos por el fabricante del aparato. Extraer de la muestra el carbono inorgánico por adición de *Acido para eliminar el carbono inorgánico* en el dispositivo de descomposición y burbujear con *Gas transportador* para eliminar el carbono inorgánico.

Descomponer el carbono orgánico, detectar el dióxido de carbono generado y calcular la cantidad de carbono orgánico, empleando un procesador de datos o un registrador.

50. COLORANTES DE USO FARMACÉUTICO

En el presente capítulo se describen los métodos de análisis y los requisitos específicos para los colorantes sintéticos utilizados en la formulación de medicamentos. Además de los colorantes descritos en este capítulo, pueden emplearse aquellos colorantes naturales autorizados por el Código Alimentario Nacional.

Se pueden emplear sustancias agregadas exclusivamente para dar color a las preparaciones oficiales, excepto en aquellas destinadas a la administración parenteral u oftálmica. Cabe aclarar que las sustancias incorporadas a la formulación deben ser apropiadas en todos los otros aspectos (ver *Consideraciones generales*), como por ej., no tener influencia adversa sobre la eficacia terapéutica de los principios activos y no interferir con los ensayos y valoraciones, entre otros. Es recomendable no agregar colorantes a las preparaciones indicadas para tratamientos prolongados. Los medicamentos de uso oral que contengan tartrazina o eritrosina deben incluir en su prospecto una leyenda con el siguiente texto: "Este medicamento contiene tartrazina como colorante" o "Este medicamento contiene eritrosina como colorante", respectivamente.

MÉTODOS GENERALES DE ANALISIS

Identificación cromatográfica - (ver 100. *Cromatografía*).

[NOTA: proteger las soluciones de la luz. Proceder rápidamente empleando luz tenue o materiales de vidrio inactínico.]

Sistema A - Emplear una fase móvil constituida por una mezcla de *n*-butanol, etanol, agua y amoníaco (50:25:25:10). Sembrar las soluciones sobre una placa para cromatografía en capa delgada recubierta con celulosa de 0,1 mm de espesor. Desarrollar los cromatogramas en una cámara sin revestimiento interno y sin saturar.

Sistema B - Emplear una fase móvil constituida por una mezcla de metiletilcetona, acetona, agua y amoníaco (140:60:60:1). Sembrar las soluciones sobre una placa para cromatografía en capa delgada recubierta con gel de sílice 60 de 0,2 mm de espesor. Desarrollar los cromatogramas en una cámara revestida internamente con papel de filtro y saturada durante 2 horas.

Sistema C - Emplear una fase móvil constituida por una mezcla de acetonitrilo, alcohol isoamílico, agua, amoníaco y metiletilcetona (50:50:15:10:5). Sembrar las soluciones sobre una placa para cromatografía en capa delgada recubierta con gel de sílice 60 de 0,2 mm de espesor. Desarrollar los

cromatogramas en una cámara sin revestimiento interno y saturada durante 20 minutos. Desarrollar la placa al menos dos veces.

Procedimiento - Preparar una *Solución muestra* y una *Solución estándar* que contengan aproximadamente 1 mg por ml en metanol. Aplicar por separado 10 µl de cada una de las soluciones y desarrollar los cromatogramas.

Identificación espectrofotométrica - (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*).

[NOTA: proteger las soluciones de la luz. Realizar rápidamente los procedimientos bajo luz tenue, o empleando materiales de vidrio inactínico.] Todos los ensayos se realizan en solución de acetato de amonio 0,04 M (3,083 g por litro). Efectuar un barrido espectral entre 210 y 750 nm con un espectrofotómetro apropiado y empleando una solución de acetato de amonio 0,04 M como blanco.

Pérdida por secado <680> - Transferir aproximadamente 2,0 g de muestra, exactamente pesados, a un recipiente apropiado. Secar a 135 °C hasta peso constante. Calcular la pérdida de peso, en porcentaje, respecto del peso de la muestra.

Determinación de cloruro - Transferir aproximadamente 1,0 g de colorante, exactamente pesado, a un recipiente apropiado. Disolver en 100 ml de agua y acidificar con 5 ml de ácido nítrico 1,5 N. Determinar el contenido de cloruro de la solución por titulación, calcular el punto final potenciométricamente empleando un electrodo de plata-cloruro de plata y un electrodo de referencia de vidrio (ver 780. *Volumetría*). Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N (SV) equivale a 0,00585 g de cloruro de sodio.

Determinación de sulfato - Transferir aproximadamente 5,0 g del colorante, exactamente pesados, a un erlenmeyer de 250 ml y disolver en 100 ml de agua calentando en un baño de agua. Agregar 35 g de cloruro de sodio libre de sulfato, tapar el erlenmeyer y agitar por rotación a intervalos frecuentes durante 1 hora. Enfriar, transferir con solución saturada de cloruro de sodio a un matraz aforado de 250 ml y llevar a volumen con solución saturada de cloruro de sodio. Agitar el matraz y filtrar la solución a través de un papel de filtro seco. Transferir cuantitativamente 100 ml del filtrado a un vaso de precipitados de 500 ml, diluir a 300 ml con agua y acidificar con ácido clorhídrico agregando 1 ml de exceso. Calentar la solución a ebullición y agregar, gota a gota y con agitación, un exceso de cloruro de bario 0,125 M. Dejar la mezcla en reposo durante 4 horas sobre una placa

calefactora o durante toda la noche a temperatura ambiente y luego calentar a 80 °C. Dejar sedimentar el precipitado y filtrar. Lavar el precipitado con agua caliente hasta que los lavados den negativa la reacción para *Cloruro* (ver 410. *Ensayos generales de identificación*). Colocar el precipitado en un crisol, previamente pesado, y someter a calcinación hasta peso constante. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Expresar el resultado como porcentaje en peso de sulfato de sodio.

Materia insoluble en agua - Transferir aproximadamente 4,0 g de muestra, exactamente pesados a un recipiente apropiado. Disolver con agitación en 200 ml de agua caliente (entre 80 y 90 °C) y dejar enfriar a temperatura ambiente. Filtrar a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad fina; previamente pesado, lavar con agua fría hasta que las aguas de lavado sean incoloras. Secar a 135 °C hasta peso constante. Calcular el porcentaje de materia insoluble en agua.

Extracto etéreo - Emplear un aparato de extracción tipo soxhlet. Colocar un pequeño trozo de alambre de cobre suspendido en el refrigerante y aproximadamente 0,5 g del mismo alambre en el balón. Transferir aproximadamente 2,0 g del colorante, exactamente pesados, al aparato de extracción y extraer 150 ml de éter etílico o éter isopropílico durante 5 horas. Concentrar el extracto sobre un baño de vapor hasta aproximadamente 5 ml. Transferir a un cristizador previamente pesado, evaporar en un baño de agua y luego secar a 105 °C hasta peso constante. El aumento de peso expresado como porcentaje con respecto a la muestra tomada corresponde al extracto etéreo.

Contenido de colorante -

Titulación con tricoloruro de titanio -

METODO I - Preparar una solución al 1,0 % de la muestra en agua y colocar un volumen equivalente a 20 ml de tricoloruro de titanio en un erlenmeyer de boca ancha de 500 ml. Agregar 15 g de citrato de sodio y agua hasta obtener un volumen entre 150 y 200 ml. Calentar a ebullición y titular con tricoloruro de titanio 0,1 N (SV).

METODO II - Preparar una solución al 0,5 % de la muestra en alcohol. Proceder según se indica en *Método I* pero substituyendo el agua por alcohol al 50 %.

METODO III - Proceder según se indica en *Método I* pero substituyendo el citrato de sodio por 15 g de tartrato ácido de sodio.

[NOTA: para muchos colorantes el punto final de la titulación con tricoloruro de titanio está indicado por una marcada decoloración. Para otros, sin embargo, el cambio es tan gradual que se

requiere un exceso de tricoloruro de titanio (no más de 0,3 ml de solución 0,1 N) y se debe emplear una solución patrón conveniente de algún otro colorante, haciendo una titulación por retorno (en general se emplea el azul de metileno). En otros casos es mejor emplear un indicador que se reduzca luego que el colorante haya reaccionado con el tricoloruro de titanio. Se obtienen buenos resultados empleando una cantidad conocida de verde brillante como indicador en la titulación de tartrazina].

Valoración espectrofotométrica - [NOTA: proteger las soluciones de la luz. Proceder rápidamente empleando luz tenue o materiales de vidrio inactínico]. Preparar la *Solución muestra* y una *Solución estándar* en acetato de amonio 0,04 M, de modo que la concentración sea la indicada para cada colorante. Determinar la absorbancia de ambas soluciones a la longitud de onda especificada, con un espectrofotómetro apropiado, empleando una solución de acetato de amonio 0,04 M como blanco. El porcentaje de colorante total calculado sobre la muestra no debe ser inferior al porcentaje especificado para cada colorante.

ESPECIFICACIONES DE COLORANTES

AMARANTO (CI 16185)

$C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$
604,49

PM:

Definición - El Amaranto es esencialmente la sal trisódica del ácido 1-(4-sulfo-1,1-naftilazo)-2-naftol-3,6-disulfónico y colorantes subsidiarios, junto con cloruro de sodio y/o sulfato de sodio como principales componentes incoloros.

Caracteres generales - Polvo homogéneo o gránulos de color pardo rojizo a pardo rojizo oscuro. Expuesto a la luz ultravioleta no presenta fluorescencia apreciable. Soluble en agua.

Identificación cromatográfica - (ver *Identificación cromatográfica* en *Métodos generales de análisis*).

Sistema A: R_f aproximadamente 0,39.

Sistema B: R_f aproximadamente 0,24.

Identificación espectrofotométrica - (ver *Identificación espectrofotométrica* en *Métodos generales de análisis*). Una solución de 0,02 mg por ml en el visible presenta un máximo a 522 nm y en el ultravioleta presenta máximos a 218 y 331 nm, un mínimo a 311 nm y otro mínimo entre 359 y 389 nm.

Pérdida por secado, cloruro y sulfato - La suma de *Pérdida por secado*, *Cloruro* y *Sulfato* (calculados como sales sódicas) no es mayor de 15 %.

Materia insoluble en agua - No más de 0,2 %.

Extracto etéreo - No más de 0,2 %.

Plomo <600> - No más de 10 ppm.

Arsénico <540> - No más de 3 ppm.

Colorantes subsidiarios - [NOTA: proteger las soluciones de la luz. Proceder rápidamente empleando luz tenue o materiales de vidrio inactivo.]

Emplear una fase móvil constituida por una mezcla de metiletilcetona, acetona y agua (54:23:23).

Preparar una solución muestra que contenga 20 mg por ml y soluciones diluidas de la muestra de 0,05; 0,1 y 0,2 mg por ml, correspondientes al 0,25; 0,5 y 1 % respectivamente, empleando en todos los casos agua como solvente.

Aplicar por separado 3 µl de cada una de las soluciones sobre una placa para cromatografía en capa delgada recubierta con celulosa para cromatografía de aproximadamente 0,1 mm de espesor y desarrollar los cromatogramas en una cámara revestida internamente con papel de filtro y saturada durante 2 horas.

Realizar la estimación visual de las manchas secundarias de la muestra contra las manchas de las soluciones diluidas. Ninguna de las manchas secundarias debe ser mayor a 1 % y la suma de todas ellas no debe ser mayor a 3 %.

Contenido de colorante total -

Titulación con TiCl₃ - Método I. Cada mililitro de TiCl₃ 0,1 N equivale a 0,01511 g de C₂₀H₁₁N₂O₁₀S₃Na₃. Contiene no menos de 85,0 %.

Valoración espectrofotométrica -

Concentración: 0,02 mg por ml. Determinar la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente a 522 nm. Contiene no menos de 85,0 %.

AMARILLO DE QUINOLINA(CI 47005)

C₁₈H₉NO₈S₂Na₂ (componente principal)

PM: 477,4 (derivado disulfónico) y 375,3 (derivado monosulfónico)

Definición - El Amarillo de quinolina es esencialmente una mezcla de sales sódicas de disulfonatos (principalmente), monosulfonatos y trisulfonatos de quinoftalona y quinolinedandiona, junto con cloruro de sodio y sulfato de sodio como principales componentes incoloros.

Caracteres generales - Polvo homogéneo o gránulos de color amarillo verdoso. Expuesto a la luz ultravioleta presenta fluorescencia amarillo anaranjada viva. Moderadamente soluble en agua.

Identificación cromatográfica - (ver *Identificación cromatográfica en Métodos generales de análisis*).

Sistema A: R_f aproximadamente 0,44.

Sistema B: R_f aproximadamente 0,37.

Identificación espectrofotométrica - (ver *Identificación espectrofotométrica en Métodos generales de análisis*). Una solución de 0,015 mg por ml en el visible presenta un máximo a 414 nm y en el ultravioleta presenta máximos a 225, 236 (muy pequeño) y 289 nm y mínimos a 233 (muy pequeño), 269 y 336 nm.

Pérdida por secado, cloruro y sulfato - La suma de *Pérdida por secado, Cloruro y Sulfato* (calculados como sales sódicas) no es mayor de 30 %.

Materia insoluble en agua - No más de 0,2 %

Extracto etéreo - No más de 0,2 %.

Plomo <600> - No más de 20 ppm.

Arsénico <540> - No más de 2 ppm.

Contenido de colorante total -

Valoración espectrofotométrica -

Concentración: 0,015 mg por ml. Determinar la absorbancia a 414 nm. Contiene no menos de 70,0 %.

AMARILLO OCASO FCF (CI 15985)

C₁₆H₁₀O₇N₂S₂Na₂

PM:

452,37

Definición - El Amarillo ocaso es esencialmente la sal disódica del ácido 1-*p*-sulfenilazo-2-naftol-6-sulfónico y colorantes subsidiarios, junto con cloruro de sodio y sulfato de sodio como principales componentes incoloros.

Caracteres generales - Polvo homogéneo o gránulos de color anaranjado rojizo. Expuesto a la luz ultravioleta no presenta fluorescencia apreciable. Soluble en agua.

Identificación cromatográfica - (ver *Identificación cromatográfica en Métodos generales de análisis*).

Sistema A: R_f aproximadamente 0,61.

Sistema B: R_f aproximadamente 0,37.

Identificación espectrofotométrica - (ver *Identificación espectrofotométrica en Métodos generales de análisis*). Una solución de 0,02 mg por ml en el visible presenta un máximo a 482 nm y en el ultravioleta presenta máximos a 235 y 314 nm y mínimos a 288 y 347 nm.

Pérdida por secado, cloruro y sulfato - La suma de *Pérdida por secado, Cloruro y Sulfato*

(calculados como sales sódicas) no es mayor de 15 %.

Materia insoluble en agua - No más de 0,2 %.

Extracto etéreo - No más de 0,2 %

Plomo <600> - No más de 20 ppm.

Arsénico <540> - No más de 2 ppm.

Colorantes subsidiarios - [NOTA: proteger las soluciones de la luz. Proceder rápidamente empleando luz tenue o materiales de vidrio inactínico].

Emplear una fase móvil constituida por una mezcla de alcohol isoamílico, acetona, agua y amoníaco (65:50:20:5).

Preparar una solución muestra que contenga 20 mg por ml y soluciones diluidas de la muestra de 0,1; 0,2 y 0,5 mg por ml correspondientes al 0,5; 1 y 2,5 % respectivamente, empleando en todos los casos agua como solvente.

Aplicar por separado 3 µl de cada una de las soluciones sobre una placa para cromatografía en capa delgada recubierta con gel de sílice 60 para cromatografía de 0,2 mm de espesor. Desarrollar los cromatogramas en una cámara sin saturación.

Comparar visualmente las manchas secundarias de la muestra con las manchas de las soluciones diluidas, ninguna de las manchas secundarias debe ser mayor a 2 % y la suma de todas ellas no debe ser mayor a 5 %.

Contenido de colorante total -

Titulación con $TiCl_3$ - Método I. Cada mililitro de $TiCl_3$ 0,1 N equivale a 0,01132 g de $C_{16}H_{10}N_2O_7S_2Na_2$. Contiene no menos de 85,0 %.

Valoración espectrofotométrica -

Concentración: 0,02 mg por ml. Determinar la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente a 482 nm. Contiene no menos de 85,0 %.

AZUL BRILLANTE FCF (CI 42090)

$C_{37}H_{34}N_2Na_2O_9S_3$
792,84

PM:

PM: 792,84

Definición - El Azul brillante FCF es esencialmente la Sal disódica de α -[4-(*N*-etil-3-sulfonatobencilamino)-ciclohexa-2,5-dienililideno]-tolueno-2-sulfonato y sus isómeros y colorantes subsidiarios, junto con cloruro y/o sulfato de sodio como principales componentes incoloros.

Caracteres generales - Polvo homogéneo o gránulos de color violeta oscuro. Expuesto a la luz ultravioleta presenta color azul oscuro. Soluble en agua.

Identificación cromatográfica - (ver *Identificación cromatográfica en Métodos generales de análisis*).

Sistema A: R_f aproximadamente 0,72.

Sistema B: R_f aproximadamente 0,31.

Identificación espectrofotométrica - (ver *Identificación espectrofotométrica en Métodos generales de análisis*). Una solución de 0,006 mg por ml en el visible presenta máximos a 409 y 630 nm y un mínimo a 456 nm; y en el ultravioleta presenta un máximo 308 nm y mínimos a 270 y 348 nm.

Pérdida por secado, cloruro y sulfato - La suma de *Pérdida por secado, Cloruro y Sulfato* (calculados como sales sódicas) no es mayor de 15 %.

Materia insoluble en agua - No más de 0,2 %.

Extracto etéreo - No más de 0,2 %.

Plomo <600> - No más de 20 ppm.

Arsénico <540> - No más de 2 ppm.

Colorantes subsidiarios - [NOTA: proteger las soluciones de la luz. Proceder rápidamente empleando luz tenue o materiales de vidrio inactínico].

Emplear una fase móvil constituida por una mezcla de acetonitrilo, alcohol isoamílico, metiletilcetona, amoníaco y agua (50:50:15:5:5).

Preparar una solución muestra que contenga 20 mg por ml y una solución diluida que corresponda al 6 % de la muestra (1,2 mg por ml) que será empleada como estándar, empleando en ambos casos metanol como solvente.

Aplicar en banda 50 µl de la solución muestra sobre una placa para cromatografía en capa delgada recubierta con gel sílice 60 para cromatografía de 0,2 mm de espesor, reservando en la placa el espacio correspondiente a dos siembras para una posterior aplicación del estándar y realización del blanco. Desarrollar los cromatogramas en una cámara sin revestimiento interno y saturada durante 20 minutos. Retirar la placa de la cámara, secarla al reparo de la luz y repetir el desarrollo empleando la misma fase móvil.

Secar la placa al reparo de la luz y aplicar en banda 50 µl de la solución estándar.

En tres erlenmeyer de 50 ml con tapón de vidrio esmerilado colocar el raspado de las manchas secundarias de la muestra (excluyendo la mancha correspondiente al origen de siembra y la mancha inmediata superior a la principal), el raspado del estándar y un blanco constituido por el raspado de un sector limpio del cromatograma. Las tres áreas raspadas deben ser aproximadamente iguales.

A cada erlenmeyer agregar 6 ml de una mezcla de acetona y agua (1:1) y agitar durante 2 ó 3 minutos, luego agregar 18 ml de una solución bicarbonato de sodio 0,05 M y volver a agitar.

Recolectar cada solución con una jeringa de 50 ml, realizar una filtración por medio de un cabezal de filtración con membrana de celulosa regenerada de 13 mm de diámetro y 0,45 µm de porosidad.

Determinar la absorbancia de la solución muestra y la solución estándar a 630 nm, empleando la solución blanco como referencia. Calcular el porcentaje total de colorantes subsidiarios por la fórmula siguiente:

$$6(A_M / A_E)$$

en la cual A_M es la absorbancia de la solución muestra y A_E la absorbancia de la solución estándar. El porcentaje total de colorantes subsidiarios no debe ser mayor a 6 %.

Contenido de colorante total -

Titulación con $TiCl_3$ - Método III. Cada mililitro de $TiCl_3$ 0,1 N equivale a 0,03964 g de $C_{37}H_{34}N_2O_9S_3Na_2$. Contiene no menos de 85,0 %.

Valoración espectrofotométrica -

Concentración: 0,006 mg por ml. Determinar la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente a 630 nm. Contiene no menos de 85,0 %.

AZUL PATENTE V (CI 42051)

$C_{54}H_{62}N_4O_{14}S_4Ca$
1.159,4

PM:

Definición - Es esencialmente la sal cálcica del ácido disulfónico del anhídrido *m*-hidroxitetraacetildiamino trifenil-carbinol y colorantes subsidiarios, junto con cloruro de sodio y/o sulfato de sodio y/o cloruro de calcio y/o sulfato de calcio.

Caracteres generales - Polvo homogéneo o gránulos color azul violeta, oscuro. Expuesto a la luz ultravioleta no presenta fluorescencia apreciable. Poco soluble en agua.

Identificación cromatográfica - (ver *Identificación cromatográfica en Métodos generales de análisis*).

Sistema A: R_f aproximadamente 0,67.

Sistema B: R_f aproximadamente 0,39.

Identificación espectrofotométrica - (ver *Identificación espectrofotométrica en Métodos generales de análisis*). Una solución de 0,005 mg por ml en el visible presenta máximos a 412 y 638 nm y un mínimo a 455 nm; y en el ultravioleta

presenta máximos a 232 y 311 nm, un mínimo entre 254 y 269 nm y otro a 351 nm.

Pérdida por secado, cloruro y sulfato - La suma de *Pérdida por secado, Cloruro y Sulfato* (calculados como sales sódicas) no es mayor de 15 %.

Materia insoluble en agua - No más de 0,2 %.

Extracto etéreo - No más de 0,2 %.

Plomo <600> - No más de 20 ppm

Arsénico <540> - No más de 2 ppm.

Colorantes subsidiarios - [NOTA: proteger las soluciones de la luz. Proceder rápidamente empleando luz tenue o materiales de vidrio inactivo].

Emplear una fase móvil constituida por una mezcla de *n*-butanol, agua, etanol y amoníaco (600:264:135:6).

Preparar una solución muestra que contenga 20 mg por ml y soluciones diluidas de la muestra de 0,05; 0,1 y 0,2 mg por ml correspondientes al 0,25; 0,5 y 1 % respectivamente, empleando en todos los casos agua como solvente.

Aplicar por separado 3 µl de cada una de las soluciones sobre una placa para cromatografía en capa delgada recubierta con celulosa para cromatografía de 0,1 mm de espesor y desarrollar los cromatogramas en una cámara revestida internamente con papel de filtro y saturada durante 2 horas.

Realizar la estimación visual de las manchas secundarias de la muestra contra las manchas de las soluciones diluidas, sin tener en cuenta para tal fin la primera mancha de R_f inferior a la mancha principal. Ninguna de las manchas secundarias debe ser mayor a 0,5 % y la suma de todas ellas no debe ser mayor a 2 %.

Contenido de colorante total -

Titulación con $TiCl_3$ - Método III. Cada mililitro de $TiCl_3$ 0,1 N equivale a 0,02898 g de $C_{54}H_{62}N_4O_{14}S_4Ca$. Contiene no menos de 85,0 %.

Valoración espectrofotométrica -

Concentración: 0,005 mg por ml. Determinar la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente a 638 nm. Contiene no menos de 85,0 %.

ERITROSINA (CI 45430)

$C_{20}H_6I_4O_5Na_2$

PM: 879,87

Definición - La Eritrosina es esencialmente la sal disódica del ácido 2-(2,4,5,7-tetraiodo-3-oxo-6-oxoxanten-9-il) benzoico y colorantes

subsidiarios, junto con cloruro de sodio y/o sulfato de sodio como principales componentes incoloros.

Caracteres generales - Polvo homogéneo o gránulos de color rojo sangre. Expuesto a la luz ultravioleta no presenta fluorescencia apreciable. Soluble en agua y en alcohol.

Identificación cromatográfica - (ver *Identificación cromatográfica en Métodos generales de análisis*).

Sistema A: R_f aproximadamente 0,79.

Sistema B: R_f aproximadamente 0,54.

Identificación espectrofotométrica - (ver, *Identificación espectrofotométrica en Métodos generales de análisis*). Una solución de 0,009 mg por ml en el visible presenta un máximo a 527 nm y en el ultravioleta presenta máximos a 262 y 308 nm, un mínimo entre 338 y 383 nm y mínimos a 238 y 289 nm.

Pérdida por secado, cloruro y sulfato - La suma de *Pérdida por secado*, *Cloruro* y *Sulfato* (calculados como sales sódicas) no es mayor de 15 %.

Materia insoluble en agua - No más de 0,2%.

Extracto etéreo - No más de 0,2 %.

Plomo <600> - No más de 20 ppm.

Arsénico <540> - No, más de 2 ppm.

Iodo - Transferir una cantidad de muestra, exactamente pesada, que contenga el equivalente a 50 mg de iodo, a un vaso de precipitados de 500 ml. Disolver en 2 ml de solución de hidróxido de sodio al 30 %, diluir a 100 ml, agregar perlas de vidrio y 15 ml de solución de permanganato de potasio al 7 %. Cubrir con un vidrio de reloj y calentar a ebullición durante 5 minutos. Cuando cese la ebullición, agregar cuidadosamente 10 ml de ácido nítrico y hervir durante 5 minutos más. Lavar el vidrio de reloj y las paredes del vaso (puede haber exceso de permanganato de potasio). Agregar rápidamente 5 ml de nitrito de sodio al 10 % con agitación. Agregar nitrito de sodio, gota a gota, hasta que la suspensión se aclare, dejando que cada gota reaccione antes de agregar la siguiente. Si cuando la solución se decolora se observan partículas de dióxido de manganeso, no intentar destruirlas sino agregar inmediatamente solución de permanganato de potasio al 1 % en porciones de 1 ml hasta que la solución se torne rosada. [NOTA: si se requieren más de 2 ml o si aparece una coloración marrón, agregar primero 10 ml de solución diluida de permanganato de potasio y calentar a ebullición. Repetir la adición de nitrito de sodio, gota a gota, y agregar nuevamente

solución diluida de permanganato de potasio hasta que la solución se torne rosada]. Filtrar rápidamente con succión a través de una placa de vidrio sinterizado. Lavar la placa con agua. Agregar solución de nitrito de sodio, gota a gota y con agitación, hasta decoloración total. Agregar 5 ml de solución de ácido sulfámico al 10 % y lavar las paredes del frasco. Enfriar a temperatura ambiente. Agregar 2 ó 3 g de ioduro de potasio y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), empleando almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 0,002115 g de iodo. Contiene entre 56,8 y 58,5 %.

Ioduro de sodio - Transferir 5 g de muestra a un vaso de precipitados de 400 ml y agregar 150 ml de agua. Calentar a temperatura próxima a la ebullición y agregar 5 ml de ácido fosfórico concentrado. Digerir hasta que el precipitado coagule bien, enfriar a temperatura ambiente, transferir a un matraz aforado de 250 ml y llevar a volumen. Mezclar vigorosamente y filtrar. Descartar los primeros ml del filtrado. Transferir una alícuota de 100 ml del filtrado a un vaso de precipitados de 500 ml, agregar 2,5 ml de solución de hidróxido de sodio al 30 % y 15 ml de solución de permanganato de potasio al 7 %. Proceder según se indica en *Iodo* comenzando donde dice "*calentar a ebullición durante 5 minutos...*". Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 0,002498 g de ioduro de sodio. Contiene no más de 0,4 %.

Contenido de colorante total -

Valoración espectrofotométrica -

Concentración: 0,009 mg por ml. Determinar la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente a 527 nm. Contiene no menos de 85,0 %.

ÍNDIGO CARMÍN (CI 73015)

$C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$
466,36

PM:

Definición - Es esencialmente una mezcla de la sal disódica del ácido 3,3'-dioxo-2,2'-bisindolilideno-5,5'-disulfónico y la sal disódica del ácido 3,3'-dioxo-2,2'-bisindolilideno-5,7'-disulfónico y colorantes subsidiarios, junto con cloruro de sodio y/o sulfato de sodio como principales componentes incoloros.

Caracteres generales - Polvo homogéneo o gránulos de color azul marino fuerte. Expuesto a la luz ultravioleta no presenta fluorescencia apreciable. Poco soluble en agua.

Identificación cromatográfica - (ver *Identificación cromatográfica en Métodos generales de análisis*).

Sistema A: R_f aproximadamente 0,38.

Sistema B: R_f aproximadamente 0,32.

Identificación espectrofotométrica - (ver *Identificación espectrofotométrica en Métodos generales de análisis*). Una solución de 0,02 mg por ml en el visible presenta un máximo a 611 nm y un mínimo entre 401 y 478 nm; y en el ultravioleta presenta máximos a 252 y 287 nm y mínimos a 231 y 266 nm.

Pérdida por secado, cloruro y sulfato - La suma de *Pérdida por secado, Cloruro y Sulfato* (calculados como sales sódicas) no es mayor de 15 %.

Materia insoluble en agua - No más de 0,4 %.

Extracto etéreo - No más de 0,2 %.

Plomo <600> - No más de 10 ppm.

Arsénico <540> - No más de 3 ppm.

Contenido de colorante total -

Titulación con $TiCl_3$ - Método III. Cada mililitro de $TiCl_3$ 0,1 N equivale a 0,02332 g de $C_{16}H_8N_2O_8S_2Na_2$. Contiene no menos de 85,0 %.

Valoración espectrofotométrica -

Concentración: 0,02 mg por ml. Determinar la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente a 611 nm. Contiene no menos de 85,0 %.

NEGRO BRILLANTE BN (CI 28440)

$C_{28}H_{17}N_5O_{14}S_4Na_4$

PM:867,7

Definición - Es esencialmente la sal tetrasódica del ácido 4-acetamido-5-hidroxi-6-7-sulfonato-4-(4-sulfonatofenilazo)-1-naftilazo]-naftaleno-1,7-disulfónico y colorantes subsidiarios, junto con cloruro de sodio y sulfato de sodio como principales componentes incoloros.

Caracteres generales - Polvo homogéneo o gránulos de color negro grisáceo. Expuesto a la luz ultravioleta no presenta fluorescencia. Poco soluble en agua.

Identificación cromatográfica - (ver *Identificación cromatográfica en Métodos generales de análisis*).

Sistema A: R_f aproximadamente 0,24.

Sistema B: R_f aproximadamente 0,28.

Identificación espectrofotométrica - (ver *Identificación espectrofotométrica en Métodos generales de análisis*). Una solución de 0,02 mg

por ml en el visible presenta máximos a 414 y 573 nm y un mínimo a 460 nm; y en el ultravioleta presenta un mínimo a 373 nm.

Pérdida por secado, cloruro y sulfato - La suma de *Pérdida por secado, Cloruro y Sulfato* (calculados como sales sódicas) no es mayor de 20 %.

Materia insoluble en agua - No más de 0,2 %.

Extracto etéreo - No más de 0,2 %.

Plomo <600> - No más de 20 ppm.

Arsénico <540> - No más de 2 ppm.

Contenido de colorante total -

Titulación con $TiCl_3$ - Método III. Cada mililitro de $TiCl_3$ 0,1 N equivale a 0,01086 g de $C_{28}H_{17}N_5O_{14}S_4Na_4$. Contiene no menos de 80,0 %.

Valoración espectrofotométrica -

Concentración: 0,02 mg por ml. Determinar la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente a 573 nm. Contiene no menos de 80,0 %.

PUNZÓ 4R (CI 16225)

$C_{20}H_{11}N_2O_{10}S_3Na_3$

PM:604,5

Definición - El punzó 4R es esencialmente la sal trisódica del ácido 2-hidroxi-1-(4-sulfonato-1-naftilazo)-naftaleno-6,8-disulfónico y colorantes subsidiarios, junto con cloruro de sodio y sulfato de sodio como principales componentes incoloros.

Caracteres generales - Polvo homogéneo o gránulos de color rojo escarlata vivo. Expuesto a la luz ultravioleta presenta fluorescencia escarlata. Moderadamente soluble en agua.

Identificación cromatográfica - (ver *Identificación cromatográfica en Métodos generales de análisis*).

Sistema A: R_f aproximadamente 0,50.

Sistema B: R_f aproximadamente 0,30.

Identificación espectrofotométrica - (ver *Identificación espectrofotométrica en Métodos generales de análisis*). Una solución de 0,02 mg por ml en el visible presenta un máximo a 507 nm y en el ultravioleta presenta máximos a 217, 246 y 333 nm y mínimos a 238, 302 y 374 nm.

Pérdida por secado, cloruro y sulfato - La suma de *Pérdida por secado, Cloruro y Sulfato* (calculados como sales sódicas) no es mayor de 20 %.

Materia insoluble en agua - No más de 0,2 %.

Extracto etéreo - No más de 0,2 %.

Plomo <600> - No más de 20 ppm.

Arsénico <540> - No más de 2 ppm.

Contenido de colorante total -

Titulación con $TiCl_3$ - Método I. Cada mililitro de $TiCl_3$ 0,1 N equivale a 0,02511 g de $C_{20}H_{11}N_2O_{10}S_3Na_3$. Contiene no menos de 80 %.

Valoración espectrofotométrica -

Concentración: 0,02 mg por ml. Determinar la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción aproximadamente a 507 nm. Contiene no menos de 80,0 %.

ROJO ALLURA AC (CI 16035)

$C_{18}H_{14}N_2O_8S_2Na_2$

PM:496,42

Definición - El Rojo Allura AC es esencialmente la sal disódica del ácido 2-hidroxi-1-(2-metoxi-5-metil-4-sulfonato-fenilazo) naftaleno-6-sulfónico y colorantes subsidiarios, junto con cloruro de sodio y sulfato de sodio como principales componentes incoloros.

Caracteres generales - Polvo homogéneo o gránulos de color rojo oscuro. Soluble en agua, insoluble en alcohol.

Identificación cromatográfica - (ver *Identificación cromatográfica en Métodos generales de análisis*).

Sistema A: R_f aproximadamente 0,62.

Sistema B: R_f aproximadamente 0,36.

Identificación espectrofotométrica - (ver *Identificación espectrofotométrica en Métodos generales de análisis*). Una solución de 0,02 mg por ml en el visible presenta un máximo a 499 nm y en el ultravioleta presenta máximos a 214, 225 y 315 nm y mínimos a 231, 262 y 351 nm.

Pérdida por secado, cloruro y sulfato - La suma de *Pérdida por secado, Cloruro y Sulfato* (calculados como sales sódicas) no es mayor de 15 %.

Materia insoluble en agua - No más de 0,2 %.

Extracto etéreo - No más de 0,2 %.

Plomo <600> - No más de 10 ppm.

Arsénico <540> - No más de 3 ppm.

Colorantes subsidiarios - [NOTA: proteger las soluciones de la luz. Proceder rápidamente empleando luz tenue o materiales de vidrio inactivo.]

Emplear una fase móvil constituida por una mezcla de alcohol isoamílico, 1,4-dioxano, acetonitrilo, acetato de etilo, agua y amoníaco (10:10:10:10:2).

Preparar una solución muestra que contenga 20 mg por ml y soluciones diluidas de la muestra de 0,05; 0,1 y 0,2 mg por ml, correspondientes al 0,25; 0,5 y 1 % respectivamente, empleando en todos los casos agua como solvente.

Aplicar por separado 3 μ l de cada una de las soluciones sobre una placa para cromatografía en capa delgada recubierta con gel de sílice 60 para cromatografía de 0,2 mm de espesor y desarrollar los cromatogramas en una cámara sin saturación.

Realizar la estimación visual de las manchas secundarias de la muestra contra las manchas de las soluciones diluidas. Ninguna de las manchas secundarias debe ser mayor a 1 % y la suma de todas ellas no debe ser mayor a 3 %.

Contenido de colorante total -

Titulación con $TiCl_3$ - Método I. Cada mililitro de $TiCl_3$ 0,1 N equivale a 0,02511 g de $C_{18}H_{14}N_2O_8S_2Na_2$. Contiene no menos de 85,0 %.

Valoración espectrofotométrica -

Concentración: 0,02 mg por ml. Determinar la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente a 499 nm. Contiene no menos de 85,0 %.

TARTRAZINA (CI 19140)

$C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$

PM:534,4

Definición - La Tartrazina es esencialmente la sal trisódica del ácido 5-hidroxi-1-(4-sulfonatofenil)-(4-sulfofenilazo)-pirazol-3-carboxílico y colorantes subsidiarios, junto con cloruro de sodio y/o sulfato de sodio como principales componentes incoloros.

Caracteres generales - Polvo homogéneo o gránulos de color anaranjado. Expuesto a la luz ultravioleta presenta fluorescencia anaranjada intensa. Soluble en agua, moderadamente soluble en alcohol.

Identificación cromatográfica - (ver *Identificación cromatográfica en Métodos generales de análisis*).

Sistema A: R_f aproximadamente 0,29.

Sistema B: R_f aproximadamente 0,24.

Identificación espectrofotométrica - (ver *Identificación espectrofotométrica en Métodos generales de análisis*). Una solución de 0,02 mg por ml en el visible presenta un máximo a 426 nm y en el ultravioleta presenta un máximo a 258 nm y mínimos a 224 y 313 nm.

Pérdida por secado, cloruro y sulfato - La suma de *Pérdida por secado, Cloruro y Sulfato*

(calculados como sales sódicas) no es mayor de 15 %.

Materia insoluble en agua - No más de 0,2 %.

Extracto etéreo - No más de 0,2 %.

Plomo <600> - No más de 20 ppm.

Arsénico <540> - No más de 2 ppm.

Contenido de colorante total -

Titulación con $TiCl_3$ - Método III. Cada mililitro de $TiCl_3$ 0,1 N equivale a 0,01336 g de $C_{16}H_9N_4Na_2O_9S_2$. Contiene no menos de 85,0 %.

Valoración espectrofotométrica -

Concentración: 0,02 mg por ml. Determinar la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente a 426 nm. Contiene no menos de 85,0 %.

VERDE S (CI 44090)

$C_{27}H_{25}N_2O_7S_2Na$

PM:576,63

Definición - El Verde S es esencialmente la sal sódica del ácido 5-[4-dimetilamino- α -[4-dimetiliminio]Dohexa-2,5-dienilideno)bencil]-6-hidroxi-7-sulfonaftaleno-2-sulfónico y colorantes subsidiarios, junto con cloruro de sodio y de sulfato de sodio como principales componentes incoloros.

Caracteres generales - Polvo homogéneo o gránulos de color marrón oscuro. Expuesto a la luz ultravioleta presenta color pardo violáceo oscuro. Soluble en agua; poco soluble en etanol.

Identificación cromatográfica - (ver *Identificación cromatográfica en Métodos generales de análisis*).

Sistema A: R_f aproximadamente 0,61.

Sistema C: R_f aproximadamente 0,07 (aplicar 50 μ l en forma de banda).

Identificación espectrofotométrica - (ver *Identificación espectrofotométrica en Métodos generales de análisis*). Una solución de 0,007 mg por ml en el visible presenta un máximo a 635 nm y mínimos a 357 y 498 nm; y en el ultravioleta presenta máximos a 239 y 304 nm y un mínimo a 272 nm.

Pérdida por secado, cloruro y sulfato - La suma de *Pérdida por secado*, *Cloruro* y *Sulfato* (calculados como sales sódicas) no es mayor de 20 %.

Materia insoluble en agua - No más de 0,2 %.

Extracto etéreo - No más de 0,2 %.

Plomo <600> - No más de 20 ppm.

Arsénico <540> - No más de 2 ppm.

Valoración del colorante total -

Titulación con $TiCl_3$ - Método III. Cada mililitro de $TiCl_3$ 0,1 N equivale a 0,02883 g de $C_{27}H_{25}N_2O_7S_2Na$. Contiene no menos de 80,0 %.

Valoración espectrofotométrica -

Concentración: 0,007 mg por ml. Determinar la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente a 635 nm. Contiene no menos de 80,0 %.

VERDE SÓLIDO FCF (CI 42053)

$C_{37}H_{34}N_2Na_2O_{10}S_3$

PM:808,86

Definición - El Verde sólido FCF es esencialmente la sal disódica del ácido *N*-etil-*N*-[4-[[4-[etil-[(3-sulfofenil)metil]amino]fenil](4-hidroxi-2-sulfofenil)metileno]-2,5-ciclohexadien-1-ilidén]-3-sulfo benzometanamina, isómeros y colorantes subsidiarios, junto con cloruro de sodio y sulfato de sodio como principales componentes incoloros.

Caracteres generales - Polvo homogéneo o gránulos de color verde azulado. Expuesto a la luz ultravioleta presenta fluorescencia color verde. Soluble en agua; moderadamente soluble en etanol.

Identificación cromatográfica - (ver *Identificación cromatográfica en Métodos generales de análisis*).

Sistema A: R_f aproximadamente 0,61.

Sistema C: R_f aproximadamente 0,02 (aplicar 50 μ l en forma de banda).

Identificación espectrofotométrica - (ver *Identificación espectrofotométrica en Métodos generales de análisis*). Una solución de 0,006 mg por ml en el visible presenta máximos a 420 y 625 nm y un mínimo a 485 nm; y en el ultravioleta presenta un máximo a 302 nm, un mínimo entre 247 y 269 nm y otro a 356 nm.

Pérdida por secado, cloruro y sulfato - La suma de *Pérdida por secado*, *Cloruro* y *Sulfato* (calculados como sales sódicas) no es mayor de 15 %.

Materia insoluble en agua - No más de 0,2 %.

Extracto etéreo - No más, de 0,4 %.

Plomo <600> - No más de 20 ppm.

Arsénico <540> - No más de 2 ppm.

Colorantes subsidiarios - [NOTA: proteger las soluciones de la luz. Proceder rápidamente empleando luz tenue o materiales de vidrio inactivo].

Emplear una fase móvil constituida por una mezcla de acetonitrilo, alcohol isoamílico, metiletilcetona, agua y amoníaco (50:50:15:10:5).

Preparar una solución muestra que contenga 20 mg por ml y una solución diluida que corresponda al 6 % de la muestra (1,2 mg por ml) que será empleada como estándar, empleando en ambos casos metanol como solvente.

Aplicar en banda 50 µl de la solución muestra sobre una placa para cromatografía en capa delgada recubierta con gel de sílice 60 para cromatografía de 0,2 mm de espesor, reservando en la placa el espacio correspondiente a dos siembras para una posterior aplicación del estándar y realización del blanco. Desarrollar los cromatogramas en una cámara sin revestimiento interno y saturada durante 20 minutos. Retirar la placa de la cámara, secarla al reparo de la luz y repetir el desarrollo empleando la misma fase móvil.

Dejar secar la placa al reparo de la luz y aplicar en banda 50 µl de la solución estándar.

En tres erlenmeyer de 50 ml con tapón de vidrio esmerilado, colocar el raspado de las manchas secundarias de la muestra (excluyendo la mancha correspondiente al origen de siembra y la mancha inmediata superior a la principal), el raspado del estándar y un blanco constituido por el raspado de un sector limpio del cromatograma. Las tres áreas raspadas deben ser aproximadamente iguales.

A cada erlenmeyer agregar 6 ml de una mezcla de acetona y agua (1:1) y agitar durante 2 ó 3 minutos. Luego agregar 18 ml de una solución de bicarbonato de sodio 0,05 M y volver agitar.

Recolectar cada solución con una jeringa de 50 ml, filtrar por medio de un cabezal de filtración con membrana de celulosa regenerada de 13 mm de diámetro y 0,45 mm de porosidad.

Determinar la absorbancia de la solución muestra y de la solución estándar a 630 nm, empleando la solución blanco como referencia. Calcular el porcentaje total de colorantes subsidiarios por la fórmula siguiente:

$$6(A_M / A_E)$$

en la cual A_M es la absorbancia de la solución muestra y A_E la absorbancia de la solución estándar. El porcentaje total de colorantes subsidiarios no debe ser mayor a 6 %.

Contenido de colorante total -

Titulación con $TiCl_3$ - Método III. Cada mililitro de $TiCl_3$ 0,1 N equivale a 0,0404 g de $C_{37}H_{34}N_2Na_2O_{10}S_3$. Contiene no menos de 85 %.

Valoración espectrofotométrica -

Concentración: 0,006 mg por ml. Determinar la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente a 625 nm. Contiene no menos de 85,0 %.

60. COMBUSTION EN ERLENMEYER CON OXIGENO

Este ensayo se realiza como etapa preliminar para la determinación de bromo, cloro, iodo, selenio y azufre en productos farmacopeicos. La combustión del material a ensayar, generalmente orgánico, produce compuestos inorgánicos solubles en agua, en los que se analizan los elementos especificados en la monografía o el capítulo general correspondiente.

Aparato (ver *Figura*) - Consta de un erlenmeyer de 500 ml (a menos que se especifique uno de mayor volumen) de paredes gruesas, cuyo borde se eleva formando un reservorio alrededor del tapón. El tapón de vidrio esmerilado lleva soldado un soporte para la muestra que consiste en un alambre de platino y una pieza formada por una malla de platino soldada que mide aproximadamente 1,5 cm × 2 cm.

Procedimiento -

Precaución - Se debe trabajar con anteojos protectores y extremando las medidas de seguridad. El analista debe asegurarse que el erlenmeyer esté perfectamente limpio.

Pesar la sustancia, si es un sólido, en un cuadrado de papel de filtro libre de haluros, de aproximadamente 4 cm de lado; plegar el papel envolviendo la muestra. Las sustancias líquidas se pesan en cápsulas previamente pesadas para volúmenes menores de 200 μ l se emplean cápsulas de acetato de celulosa y para volúmenes mayores de 200 μ l son útiles las cápsulas de gelatina. [NOTA: las cápsulas de gelatina pueden contener cantidades significativas de haluros o azufre. Si se emplean tales cápsulas, se debe realizar una titulación empleando un blanco y hacer las correcciones necesarias]. Asegurar la muestra en la malla de platino junto con una tira de papel de filtro que, a modo de mecha, está destinada a provocar la combustión cuando se la enciende. Agregar en el erlenmeyer el líquido absorbente, especificado en la monografía o el

capítulo general correspondiente; humedecer con agua la junta esmerilada del erlenmeyer y desplazar el aire del mismo con una corriente de oxígeno, tapar provisoriamente el erlenmeyer con un tapón apropiado hasta que se encienda la mecha. Agitar por rotación el líquido para favorecer la absorción del oxígeno. [NOTA: la saturación del líquido con oxígeno es esencial para el éxito del procedimiento de combustión]. Encender la tira de papel y sumergir de inmediato el soporte de la muestra en el erlenmeyer. Mantener firmemente ajustado el tapón durante todo el proceso de combustión e invertir el erlenmeyer para que la solución de absorción forme un cierre hermético alrededor del mismo. Evitar que caiga en el líquido cualquier sustancia que no se haya quemado completamente. Una vez finalizada la combustión, agitar el erlenmeyer vigorosamente y dejar reposar durante no menos de 10 minutos con agitación intermitente. Luego proceder según se especifique en la monografía o el capítulo general correspondiente.

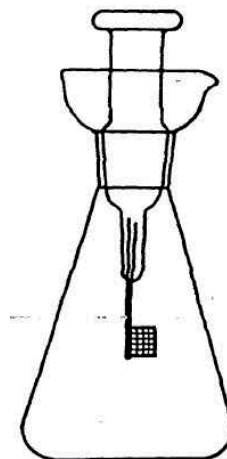


Figura. Aparato para combustión en erlenmeyer con oxígeno.

70. CONDUCTIVIDAD

La conductividad κ , de una solución es por definición la función inversa de la resistividad ρ . La resistencia R , de un conductor de sección transversal A , y longitud L , está dada por la siguiente expresión:

$$R = \rho \frac{L}{A}$$

o sea,

$$R = \frac{1}{\kappa} \frac{L}{A} \quad \text{ó} \quad \kappa = \frac{1}{R} \frac{L}{A}$$

La unidad de conductividad en el Sistema Internacional es el siemens por metro (S m^{-1}). En la práctica la conductividad eléctrica de una solución se expresa en siemens por centímetro (S cm^{-1}) o en microsiemens por centímetro (mS cm^{-1}). La unidad de resistividad en el Sistema Internacional es el ohm por metro (Ωm) y para el caso de la resistividad de soluciones es el ohm por centímetro (Ωcm). A menos que se especifique de otro modo, la temperatura para la expresión de la conductividad o la resistividad es de 20°C .

Aparato - Emplear un conductímetro o resistómetro, el cual mide la resistencia de una columna de líquido entre los electrodos de un dispositivo de medida sumergido (celda conductimétrica).

El aparato se provee con corriente alterna para evitar los efectos de polarización del electrodo y está equipado con un dispositivo de compensación de temperatura o un termómetro de precisión.

La celda conductimétrica contiene dos electrodos paralelos de platino, recubiertos con negro de platino, cada uno con un área A , y separados uno de otro por una distancia L . Ambos están generalmente protegidos por un tubo de vidrio que permite un buen intercambio entre la solución y los electrodos.

La constante C , de la celda conductimétrica se expresa en cm^{-1} de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$C = \alpha \frac{L}{A}$$

en la cual α es un coeficiente adimensional característico del diseño de la celda.

Preparación de soluciones estándar - Preparar tres soluciones estándar que contengan, 0,7455; 0,0746 y 0,0149 g, respectivamente de cloruro de potasio por cada 1 kg de solución, empleando agua, con una conductividad no mayor de $2 \mu\text{S cm}^{-1}$.

La conductividad y la resistividad de las tres soluciones de cloruro de potasio a 20°C se indican en la *Tabla*.

Tabla.

Concentración en g por cada 1 kg de solución	Conductividad $\mu\text{S cm}^{-1}$	Resistividad Ωm
0,7455	1.330	752
0,0746	133	7.519
0,0149	26,6	37.549

Si la determinación no se puede realizar a 20°C , emplear la siguiente ecuación para corregir la conductividad de las soluciones de cloruro de potasio indicadas en la *Tabla*. [NOTA: esta ecuación es válida sólo a temperaturas en el intervalo de $20 \pm 5^\circ\text{C}$]:

$$C_T = C_{20}[1 + 0,021(T - 20)]$$

en la cual T es la temperatura de medición, C_T es la conductividad de la solución a la temperatura T y C_{20} es la conductividad de la solución a 20°C .

Procedimiento -

Determinación de la constante de la celda - Elegir una celda conductimétrica apropiada para medir la conductividad de la solución muestra.

Cuanto mayor sea la conductividad esperada, mayor debe ser la constante de la celda elegida (baja D), para que el valor de R medido sea tan grande como sea posible para el aparato empleado. Las celdas conductimétricas comúnmente empleadas, tienen una constante del orden de 0,1; 1 y 10 cm^{-1} . Emplear una solución estándar de cloruro de potasio apropiada. Lavar varias veces la celda con agua libre de dióxido de carbono, y al menos dos veces con la solución estándar de cloruro de potasio empleada para determinar la constante de la celda conductimétrica. Medir la resistencia de la celda conductimétrica con la solución estándar de cloruro de potasio a $20,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ o a la temperatura especificada en la monografía correspondiente. La

constante de la celda conductimétrica C , en cm^{-1} , está dada por la expresión:

$$C = R_{KCl} K_{KCl}$$

en la cual R_{KCl} es la resistencia medida, en megaohms, y K_{KCl} es la conductividad de la solución estándar de cloruro de potasio empleada, expresada en $\mu\text{S cm}^{-1}$.

La medida de la constante de la celda conductimétrica C , deberá estar comprendida dentro del $\pm 2\%$ del valor indicado.

Determinación de la conductividad de la solución a ensayar - Luego de calibrar el aparato con una de las soluciones estándar, enjuagar la celda conductimétrica varias veces con agua libre de dióxido de carbono y al menos dos veces con la solución muestra a $20,0 \pm 0,1$ °C o a la temperatura especificada en la monografía correspondiente. Proceder con las sucesivas mediciones según como se especifique en la monografía correspondiente.

80. CONSERVANTES

Los conservantes son sustancias auxiliares que se agregan a las preparaciones oficiales para protegerlas de la contaminación microbiana.

Cualquier agente antimicrobiano puede exhibir propiedades conservantes, sin embargo, se debe tener en cuenta que todos los agentes antimicrobianos útiles son sustancias tóxicas. Para evitar efectos adversos, la concentración de los conservantes en el producto terminado debe ser la concentración mínima que presenta el efecto antimicrobiano buscado y considerablemente más baja que la concentración tóxica en seres humanos.

En ningún caso se debe emplear un conservante para prevenir contaminaciones debidas a malas prácticas de elaboración.

Se establecen a continuación los ensayos de *Eficacia y Contenido*.

EFICACIA

Los siguientes ensayos se emplean para demostrar la eficacia de los conservantes agregados a productos sean o no estériles, envasados en envases multidosis. En el caso de productos no estériles, se han agregado para inhibir el crecimiento de microorganismos que hubieran sido introducidos accidentalmente durante o después del proceso de elaboración, mientras que en los productos estériles, ya sean parenterales, óticos, nasales u oftálmicos, deben también inhibir el crecimiento de microorganismos que pudieran introducirse durante las extracciones repetidas de las dosis individuales.

Estos ensayos se aplican solamente al producto en el envase original antes de su empleo.

Microorganismos de ensayo - Emplear cultivos de los siguientes microorganismos [NOTA: pueden emplearse cultivos provenientes de otras colecciones que posean las mismas características]:

Candida albicans (ATCC N° 10231)

Aspergillus niger (ATCC N° 16404)

Escherichia coli (ATCC N° 8739)

Pseudomonas aeruginosa (ATCC N° 9027)

Staphylococcus aureus (ATCC N° 6538)

Además de los microorganismos mencionados, se pueden incluir otros, especialmente si dichos microorganismos pueden introducirse durante el empleo del producto.

Medios - Para el cultivo inicial de los microorganismos se debe seleccionar un medio

que favorezca el crecimiento del respectivo cultivo madre, como por ej., Agar Digerido de Caseína Soja (Ver 90. *Control higiénico de productos no obligatoriamente estériles*).

Preparación del inóculo - Antes de llevar a cabo el ensayo, inocular superficialmente sendas placas de Petri que contengan un volumen apropiado del medio seleccionado, con cultivos madre recientemente desarrollado de cada uno de los microorganismos especificados.

Incubar los cultivos bacterianos a una temperatura entre 30 y 35 °C durante 18 a 24 horas, los cultivos de *C. albicans* entre 20 y 25 °C durante 48 horas y los cultivos de *A. niger* entre 20 y 25 °C durante 1 semana.

Recolectar los cultivos bacterianos y de *C. albicans* empleando Solución fisiológica (SR) estéril. Transferir el líquido a un recipiente apropiado y agregar suficiente Solución fisiológica (SR) estéril para reducir la cantidad de microorganismos a 100 millones de microorganismos por ml, aproximadamente. Para recolectar el cultivo de *A. niger*, emplear Solución fisiológica (SR) estéril que contenga 0,05 % de Polisorbato 80 y ajustar el número de esporas a 100 millones por ml aproximadamente, agregando más Solución fisiológica (SR) estéril.

Alternativamente, los microorganismos del cultivo madre pueden desarrollarse en un medio líquido apropiado y las células recolectarse por centrifugación, lavarse y resuspenderse en Solución fisiológica (SR) estéril hasta llegar al número de esporas o microorganismos requerido.

Determinar en cada suspensión el número de unidades formadoras de colonias por ml (ufc/ml), este valor sirve para determinar el tamaño del inóculo a ser empleado en el ensayo. Si las suspensiones estandarizadas no se emplean en un lapso de tiempo razonable, es necesario controlarlas periódicamente, por el método de recuento en placa, para determinar la viabilidad de los cultivos.

Para el recuento en placa de las preparaciones de ensayo inoculadas, emplear el mismo medio empleado para el cultivo inicial del microorganismo correspondiente. Si hubiera un inactivador específico del agente conservante, agregar una cantidad apropiada del mismo al agar.

Procedimiento - Cuando el envase del producto se presenta con un tapón de goma, que permite acceder al contenido asépticamente por medio de una aguja y una jeringa, llevar a cabo el

ensayo en cinco envases originales del producto. Si el envase del producto no permite la extracción aséptica, transferir muestras de 20 ml del producto a cada uno de cinco tubos de ensayo de tamaño apropiado, estéril y cerrado. Inocular cada tubo o envase del producto con cada una de las suspensiones microbianas ya calibradas, en una proporción de 0,10 ml de inóculo por cada 20 ml de producto y mezclar. Se debe agregar una concentración apropiada del microorganismo de ensayo de modo tal que la concentración en la preparación a ensayar, inmediatamente después de la inoculación, sea entre 10^5 y 10^6 microorganismos por ml. Determinar el número de microorganismos viables en cada suspensión del inóculo y calcular la concentración inicial de microorganismos por ml del producto en ensayo, por el método de recuento en placa.

Incubar los envases o tubos inoculados a una temperatura entre 20 y 25 °C. Examinar los envases o tubos a los 7, 14, 21 y 28 días siguientes a la inoculación. Registrar cualquier cambio de aspecto y determinar, por recuento en placa, el número de microorganismos viables presentes en cada intervalo de tiempo. Calcular el porcentaje de cambio en la concentración de cada microorganismo durante el ensayo, empleando las concentraciones teóricas de los microorganismos presentes al comienzo del ensayo.

Interpretación - El agente conservante resulta eficaz para el producto ensayado cuando: (a) las concentraciones de bacterias viables se reducen a no más de 0,1 % de la concentración inicial al día 14, (b) las concentraciones de levaduras y hongos viables permanecen en la concentración inicial o por debajo de la misma durante los primeros 14 días y (c) la concentración de cada microorganismo de ensayo permanece en los niveles indicados o por debajo de los mismos durante los días restantes del periodo de ensayo.

CONTENIDO

Los métodos proporcionados aquí se emplean para demostrar que el conservante está presente y su concentración no excede en más de 20 % la cantidad declarada.

La concentración de un conservante agregado a una preparación parenteral, ótica, nasal u oftálmica, monodosis o multidosis puede disminuir durante la vida útil del producto. Debido a esto, el elaborador determinará la menor concentración a la cual el conservante es eficaz. En el momento de su elaboración, el producto debe contener la cantidad declarada de conservante (dentro de $\pm 20\%$, admitiendo las variaciones debidas al proceso de elaboración). La afirmación del rótulo en cuanto al contenido del conservante no significa que esa cantidad declarada se mantenga, durante la vida útil del producto, hasta más de 20 %.

Los agentes más comúnmente empleados incluyen, los cuatro ésteres homólogos del ácido *p*-hidroxibenzoico, fenol, alcohol bencílico, clorobutanol y dos derivados mercuriales, nitrato fenilmercurio y tiomersal. Para la determinación de los derivados mercuriales se emplean métodos polarográficos, mientras que la cromatografía de gases se emplea en la determinación de los otros agentes.

MÉTODO GENERAL POR CROMATOGRAFÍA DE GASES

Los procedimientos generales que se establecen a continuación son aplicables a la determinación cuantitativa del alcohol bencílico, clorobutanol, fenol y los ésteres metílico, etílico, propílico y butílico del ácido *p*-hidroxibenzoico, tratándose éstos: como un grupo, aunque el método puede emplearse para la determinación individual. Preparar la *Solución del estándar interno* y la *Preparación estándar* para cada agente según se indica a continuación para cada caso. A menos que se indique de otro modo, preparar la *Preparación muestra* con porciones exactamente medidas de la *Solución del estándar interno* y la muestra, de modo que la concentración del conservante y la composición del solvente sean similares a la concentración y a la composición de la *Preparación estándar*. Los parámetros operativos sugeridos para el cromatógrafo de gases se indican en la *Tabla*. Emplear un detector de ionización a la llama y helio o nitrógeno como gas transportador.

Tabla. Parámetros operativos sugeridos para el cromatógrafo de gases

	Fase estacionaria y soporte	Dimensiones de la columna	Caudal (ml/min)	Temperatura de la columna (°C)
Alcohol bencílico	Polietilenglicol al 5 % (peso molecular entre 15.000 y 20.000) sobre soporte de tierra silíceo calcinada y lavada con ácido.	1,8 m × 3 mm	50	140
Clorobutanol	Polietilenglicol al 5 % (peso molecular entre 15.000 y 20.000) sobre soporte de tierra silíceo calcinada y lavada con ácido.	1,8 m × 2 mm	20	110
Fenol	Polietilenglicol al 5 % (peso molecular entre 15.000 y 20.000) sobre soporte de tierra silíceo calcinada y lavada con ácido.	1,2 m × 3 mm	50	145
Parabenos	Dimetilpolisiloxano al 5 % sobre soporte de tierra silíceo calcinada y lavada con ácido.	1,8 m × 2 mm	20	150

Alcohol bencílico

Solución del estándar interno - Transferir aproximadamente 380 mg de fenol a un matraz aforado de 200 ml. Disolver en 10 ml de metanol, completar con agua a volumen y mezclar.

Preparación estándar - Transferir aproximadamente 180 mg de alcohol bencílico, exactamente pesados, a un matraz aforado de 100 ml. Disolver en 20,0 ml de metanol, completar a volumen con *Solución del estándar interno* y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 5 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos para el alcohol bencílico y el fenol en el cromatograma de la *Preparación estándar*, designándolas P_1 y P_2 , respectivamente. Del mismo modo, determinar los valores correspondientes p_1 y p_2 , para la *Preparación muestra*. Calcular el contenido de alcohol bencílico (C_7H_8O), en mg por ml, en la muestra, por la fórmula siguiente:

$$100(C/V)(p_1/p_2)(P_2/P_1)$$

en la cual C es la concentración, en mg por ml, de alcohol bencílico en la *Preparación estándar* y V es el volumen de muestra, en ml, empleado para preparar 100 ml de la *Preparación muestra*.

Clorobutanol

[NOTA: mantener el inyector a 180 °C y el detector a 220 °C].

Solución del estándar interno - Transferir aproximadamente 140 mg de benzaldehído a un matraz aforado de 100 ml, agregar 10 ml de metanol y agitar hasta disolución. Completar con agua a volumen y mezclar.

Preparación estándar - Transferir aproximadamente 125 mg de clorobutanol, exactamente pesados, a un matraz aforado de 25 ml. Agregar 2 ml de metanol, agitar hasta disolución, completar con agua a volumen y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución y 5,0 ml de *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 25 ml y mezclar. La solución así obtenida tiene una concentración conocida de aproximadamente 2,5 mg de clorobutanol por ml.

Preparación muestra - Diluir, si fuera necesario, un volumen exactamente medido de la muestra, cuantitativamente con metanol, hasta obtener una solución que contenga no más de 5,0 mg de clorobutanol por ml. Combinar 3,0 ml de esta solución con 3,0 ml de *Solución del estándar interno* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución, R , entre los picos del benzaldehído y el clorobutanol no es menor de 2,0; los tiempos de retención relativos son aproximadamente 0,8 para el benzaldehído y 1,0 para el clorobutanol y la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no es mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 1 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los

cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad, en mg, de clorobutanol ($C_4H_7Cl_3O$) en cada ml de la muestra, por la fórmula siguiente:

$$C(L/D)(R_M/R_E)$$

en la cual C es la concentración, en mg por ml, de clorobutanol, calculado sobre la sustancia anhidra, en la *Preparación estándar*, L es la cantidad declarada, en mg, de clorobutanol en cada ml de la muestra, D es la concentración, en mg por ml, de clorobutanol en la *Preparación muestra*, considerando el volumen de muestra tomado y el grado de dilución y R_M y R_E son los cocientes entre las respuestas de los picos de clorobutanol y benzaldehído obtenidos a partir de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, respectivamente.

Fenol

Solución del estándar interno - Transferir 1 ml de alcohol bencílico a un matraz aforado de 500 ml, completar con metanol a volumen y mezclar.

Preparación estándar - Transferir aproximadamente 75 mg de fenol, exactamente pesados, a un matraz aforado de 100 ml, disolver en 7,5 ml de metanol y agregar 20,0 ml de *Solución del estándar interno*. Completar con agua a volumen y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 3 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos de fenol y de alcohol bencílico en el cromatograma de la *Preparación estándar*, designándolos P_1 y P_2 , respectivamente. Del mismo modo, determinar los valores correspondientes a p_1 y p_2 , para la *Preparación muestra*. Calcular el contenido de fenol (C_6H_6O), en mg por ml, en la muestra, por la fórmula siguiente:

$$100(C/V)(p_1/p_2)(P_2/P_1)$$

en la cual C es la concentración, en mg por ml, de fenol en la *Preparación estándar* y V es el volumen de muestra, en ml, empleado para preparar 100 ml de la *Preparación muestra*.

Metilparabeno y propilparabeno

Solución del estándar interno - Transferir aproximadamente 200 mg de benzofenona a un matraz aforado de 250 ml, completar a volumen con éter y mezclar.

Preparación estándar - Transferir 100 mg de metilparabeno y 10 mg de propilparabeno, exactamente pesados, a un matraz aforado de 200 ml, diluir a volumen con *Solución del estándar interno* y mezclar. Transferir 10 ml de esta solución a un erlenmeyer de 25 ml y proceder según se indica para la *Preparación muestra*, comenzando donde dice "Agregar 3 ml de piridina...".

Preparación muestra - Transferir 10 ml de muestra y 10 ml de *Solución del estándar interno* a una ampolla de decantación. Agitar y dejar que las fases se separen. Transferir la fase acuosa a una segunda ampolla de decantación y la fase etérea a un erlenmeyer a través de un embudo que contenga sulfato de sodio anhidro. Extraer la fase acuosa con dos porciones de 10 ml de éter y filtrar los extractos a través de sulfato de sodio anhidro. Evaporar los extractos combinados bajo una corriente de aire seco hasta que el volumen se reduzca a 10 ml aproximadamente. Transferir el residuo obtenido a un erlenmeyer de 25 ml. Agregar 3 ml de piridina, completar la evaporación del éter y calentar a ebullición sobre una placa calefactora hasta que el volumen se reduzca a 1 ml aproximadamente. Enfriar y agregar 1,0 ml de un agente silanizante apropiado, como hexametildisilazano al cual se le ha agregado trimetilclorosilano, bis(trimetilsilil)acetamida, o bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida. Mezclar y dejar reposar durante no menos de 15 minutos.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 2 μ l) de la solución silanizada de la *Preparación estándar* y la solución silanizada de la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos de metilparabeno, propilparabeno y benzofenona, designándolas P_1 , P_2 y P_3 , respectivamente. Del mismo modo, determinar los valores correspondientes a p_1 , p_2 y p_3 , para la solución silanizada de la *Preparación muestra*. Calcular el contenido, en μ g por ml, de metilparabeno ($C_8H_8O_3$) en la muestra, por la fórmula siguiente:

$$10(C_M/V)(p_1/p_3)(P_3/P_1)$$

en la cual C_M , es la concentración, en μ g por ml, de metilparabeno en la *Preparación estándar* y V es el volumen de muestra tomado, en ml. Calcular el contenido, en μ g por ml, de propilparabeno ($C_{10}H_{12}O_3$) en la muestra, por la fórmula siguiente:

$$10(C_P/V)(p_2/p_3)(P_3/P_2)$$

en la cual C_p es la concentración, en μg por ml, de propilparabeno en la *Preparación estándar*. El etilparabeno y el butilparabeno pueden determinarse del mismo modo.

MÉTODO POLAROGRÁFICO

Nitrato fenilmercúrico

Preparación estándar - Transferir aproximadamente 100 mg de nitrato fenilmercúrico, exactamente pesados, a un matraz aforado de 1 litro, disolver en solución de hidróxido de sodio (1 en 250) y calentar, si fuera necesario para disolver. Completar a volumen con solución de hidróxido de sodio (1 en 250) y mezclar. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz aforado de 25 ml y proceder según se indica en *Preparación muestra*, comenzando donde dice "agregar 2 ml de solución de nitrato de potasio (1 en 100)...".

Preparación muestra - Transferir 10 ml de muestra a un matraz aforado de 25 ml, agregar 2 ml de solución de nitrato de potasio (1 en 100) y 10 ml de solución reguladora alcalina de borato pH 9,2 (ver *Soluciones reguladoras* en *Reactivos y Soluciones*) y ajustar a pH 9,2, si fuera necesario, con ácido nítrico 2 N. Agregar 1,5 ml de una solución de gelatina (1 en 1.000) recientemente preparada, completar a volumen con solución reguladora alcalina de borato pH 9,2 y mezclar.

Procedimiento (ver 700. *Polarografía*) - Transferir una porción de *Preparación muestra* a la celda polarográfica y desairear mediante el burbujeo de nitrógeno en la solución durante 15 minutos. Insertar el electrodo capilar de mercurio de un polarógrafo apropiado y registrar el polarograma de -0,6 a -1,5 voltios contra un electrodo de calomel saturado. Determinar la corriente de difusión de la *Preparación muestra*, $(i_d)_D$ como la diferencia entre la corriente residual y la corriente limitante. En forma similar y en sucesión inmediata determinar la corriente de difusión, $(i_d)_E$ de la *Preparación estándar*. Calcular la cantidad, en mg, de nitrato

fenilmercúrico ($\text{C}_6\text{H}_5\text{HgNO}_3$) en cada ml de muestra tomada, por la fórmula siguiente:

$$2,5C[(i_d)_D / (i_d)_E]$$

en la cual C es la concentración, en μg por ml de nitrato fenilmercúrico en la *Preparación estándar* y los otros términos son los definidos anteriormente.

Tiomersal

Preparación estándar - En el día del ensayo, transferir aproximadamente 25 mg de tiomersal, exactamente pesados, a un matraz aforado de 250 ml, completar a volumen con agua y mezclar. [NOTA: proteger esta solución de la luz.] Transferir 15 ml de esta solución a un matraz aforado de 25 ml, agregar 1,5 ml de solución de gelatina (1 en 1.000), completar a volumen con solución de nitrato de potasio (1 en 100) y mezclar.

Preparación muestra - Transferir 15 ml de muestra a un matraz aforado de 25 ml, agregar 1,5 ml de solución de gelatina (1 en 1000), completar a volumen con solución de nitrato de potasio (1 en 100) y mezclar.

Procedimiento (ver 700. *Polarografía*) - Transferir una porción de *Preparación muestra* a una celda polarográfica y desairear mediante el burbujeo de nitrógeno en la solución durante 15 minutos. Insertar el electrodo capilar de mercurio de un polarógrafo apropiado y registrar el polarograma de -0,2 a -1,4 voltios contra electrodo de calomel saturado. Determinar la corriente de difusión, $(i_d)_D$ como la diferencia entre la corriente residual y la corriente limitante. En forma similar y en sucesión inmediata determinar la corriente de difusión $(i_d)_E$ de la *Preparación estándar*. Calcular la cantidad, en mg, de tiomersal ($\text{C}_0\text{H}_9\text{HgNaO}_2\text{S}$) en cada ml de muestra tomada, por la fórmula siguiente:

$$1,667C[(i_d)_D / (i_d)_E]$$

en la cual C es la concentración, en mg por ml, de tiomersal en la *Preparación estándar* y los otros términos son los definidos anteriormente.

90. CONTROL HIGIENICO DE PRODUCTOS NO OBLIGATORIAMENTE ESTERILES

En este capítulo se especifican los ensayos necesarios para estimar el número de microorganismos aerobios viables presentes y para determinar la ausencia de ciertas especies microbianas en cualquier tipo de materia prima o producto farmacéutico.

A menos que se especifique de otro modo, el término *incubar* implica colocar el recipiente en aire termostáticamente controlado a una temperatura entre 30 y 35 °C durante un período de 24 a 48 horas.

Ensayos preliminares

La validez de los resultados de los ensayos incluidos en este capítulo depende, en gran medida, de que se demuestre apropiadamente que las muestras sometidas a las condiciones del ensayo no inhiben la multiplicación de los microorganismos que pudieran estar presentes.

Efectividad de los medios de cultivo y validez del método de recuento - Diluir, de acuerdo a la técnica a validar, la muestra en *Solución reguladora de fosfato pH 7,2*. Agregar separadamente diluciones de cultivos de 24 horas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella* de modo que, en las placas de recuento, siguiendo el método en estudio, el número de ufc hallado sea entre 30 y 300. Controlar el método de recuento, siguiendo el procedimiento correspondiente, en presencia y ausencia de la muestra a ensayar. El recuento de los microorganismos ensayados con la muestra no debe diferir en más de un factor de 5 con respecto al valor obtenido en ausencia de la misma.

Propiedades nutritivas y selectivas de los medios y validez del ensayo para los microorganismos especificados - Inocular separadamente las muestras diluidas del producto a ensayar con cultivos viables de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella*. Agregar 1 ml de una dilución no menor de 10^{-3} de un cultivo de 24 horas del microorganismo en *Solución reguladora de fosfato pH 7,2*, Caldo Digerido de Caseína-Soja o Caldo Lactosado, a la primera dilución del producto a ensayar y seguir el procedimiento seleccionado. La ausencia de crecimiento de alguno de los microorganismos ensayados en el medio correspondiente indica una inhibición del desarrollo por parte del producto y requiere una modificación en el procedimiento a través de: (1) un aumento en

el volumen del diluyente manteniéndose la misma cantidad del material a ensayar; (2) la incorporación de una cantidad suficiente de un agente inactivante apropiado en el diluyente, como por ej., lecitina de soja al 0,5 % y/o Polisorbato 20 al 4,0 %; (3) una combinación de las modificaciones (1) y (2) a fin de favorecer el desarrollo del inóculo.

Alternativamente, se puede repetir el ensayo anteriormente descrito empleando Caldo Digerido de Caseína-Soja-Polisorbato 20 para neutralizar conservantes u otros agentes antimicrobianos presentes en el producto a ensayar.

Si a pesar de la incorporación de agentes inactivantes apropiados y de un aumento considerable del volumen del diluyente, aun no fuera posible recuperar los cultivos viables o cuando el producto no resulta apropiado para el empleo del *Método de filtración por membrana* (ver 370. *Ensayos de esterilidad*), se podrá asumir que la falla en no aislar los microorganismos inoculados es atribuible a las propiedades inhibitorias del producto. Esta información indica que es probable que el producto no se contamine con los microorganismos ensayados. En estos casos se debe continuar efectuando ensayos con el fin de establecer el espectro de inhibición y la actividad bactericida del producto.

Solución reguladora y medios de cultivo

Los medios de cultivo pueden prepararse según se indica a continuación o pueden emplearse medios de cultivo deshidratados que al ser reconstituidos según las indicaciones del elaborador, produzcan medios comparables a los obtenidos por las fórmulas que aquí se indican. Determinar el pH a 25 ± 2 °C.

Al preparar el medio de cultivo con las fórmulas aquí indicadas, se deben disolver los sólidos solubles en agua, empleando calor si fuera necesario, para obtener la disolución total y agregar soluciones de ácido clorhídrico o hidróxido de sodio en cantidades suficientes hasta alcanzar el pH deseado.

Si en una fórmula se indica agar, emplear uno con un contenido de humedad menor o igual a 15%. Cuando se indica agua, emplear agua.

Solución reguladora de fosfato pH 7,2 - Transferir 34 g de fosfato monobásico de potasio a un matraz aforado de 1 litro y disolver en aproximadamente 500 ml de agua. Agregar aproximadamente 175 ml de hidróxido de

sodio (SR) para ajustar a pH $7,2 \pm 0,1$, completar a volumen con agua y mezclar. Fraccionar y esterilizar. Almacenar en un ambiente refrigerado. Al momento de uso, diluir esta solución con agua en una proporción de 1 en 800 y esterilizar.

MEDIOS DE CULTIVO

A menos que se especifique de otro modo, los medios se deben esterilizar en autoclave. El tiempo de exposición dependerá del volumen a esterilizar.

I. Caldo Digerido de Caseína-Soja- Polisorbato 20

Digerido pancreático de caseína	20,0 g
Lecitina de soja	5,0 g
Polisorbato 20	40 ml
Agua	960 ml

Disolver el digerido pancreático de caseína y la lecitina de soja en el agua, calentando en un baño termostático, a una temperatura entre 48 y 50 °C, durante aproximadamente 30 minutos, hasta lograr la disolución. Agregar 40 ml de polisorbato 20, mezclar y fraccionar.

II. Agar Digerido de Caseína-Soja

Digerido pancreático de caseína	15,0 g
Digerido papaínico de harina de soja ..	5,0 g
Cloruro de sodio	5,0 g
Agar	15,0 g
Agua	1.000 ml

pH después de la esterilización: $7,3 \pm 0,2$.

III. Caldo Digerido de Caseína-Soja

Preparar según se indica para *Caldo Digerido de Caseína-Soja* en 370. *Ensayos de esterilidad*.

IV. Agar Manitol-Sal

Digerido pancreático de caseína	5,0 g
Digerido peptídico de tejido animal ..	5,0 g
Extracto de carne vacuna	1,0 g
D-Manitol	10,0 g
Cloruro de sodio	75,0 g
Agar	15,0 g
Rojo de fenol	0,025 g
Agua	1.000 ml

Mezclar y luego calentar, agitando frecuentemente. Calentar a ebullición durante 1 minuto hasta lograr disolución.

pH después de la esterilización: $7,4 \pm 0,2$.

V. Agar Baird-Parker

Digerido pancreático de caseína	10,0 g
Extracto de carne vacuna	5,0 g
Extracto de levadura	1,0 g
Cloruro de litio	5,0 g
Agar	20,0 g

Glicina	12,0 g
Piruvato de sodio	10,0 g
Agua	950 ml

Calentar agitando frecuentemente y hervir durante 1 minuto. Esterilizar y dejar enfriar a una temperatura entre 45 y 50 °C. Agregar 10 ml de solución estéril de telurito de potasio (1 en 100) y 50 ml de emulsión de yema de huevo. Mezclar suavemente evitando la formación de espuma, hasta obtener una mezcla homogénea y transferir a las placas. [NOTA: para preparar la emulsión de yema de huevo desinfectar la totalidad de la superficie de las cáscaras de los huevos. Romper las cáscaras asépticamente, separar las yemas, en forma intacta y colocarlas en una probeta estéril. Agregar Solución fisiológica (SR) estéril hasta obtener una proporción de yema/solución fisiológica de 3 a 7. Transferir a un vaso estéril de una mezcladora y mezclar a alta velocidad durante 5 segundos.]

pH después de la esterilización: $6,8 \pm 0,2$.

VI. Agar Vogel-Johnson

Digerido pancreático de caseína	10,0 g
Extracto de levadura	5,0 g
Manitol	10,0 g
Fosfato dibásico de potasio	5,0 g
Cloruro de litio	5,0 g
Glicina	10,0 g
Agar	16,0 g
Rojo de fenol	25,0 g
Agua	1.000 ml

Calentar a ebullición la solución constituida por todos los componentes durante 1 minuto. Esterilizar, enfriar a una temperatura entre 45 y 50 °C y agregar 20 ml de solución estéril de telurito de potasio (1 en 100).

pH después de la esterilización: $7,2 \pm 0,2$.

VII. Agar Cetrimida

Digerido pancreático de gelatina	20,0 g
Cloruro de magnesio	1,4 g
Sulfato de potasio	10,0 g
Agar	13,6 g
Bromuro de cetiltrimetilamonio (Cetrimida)	0,3 g
Glicerina	10,0 ml
Agua	1.000 ml

Disolver los componentes sólidos en agua y agregar la glicerina. Calentar a ebullición durante 1 minuto, agitando frecuentemente para facilitar la disolución.

pH después de la esterilización: $7,2 \pm 0,2$.

VIII. Agar *Pseudomonas* para la Detección de Fluorescina

Digerido pancreático de caseína	10,0 g
Digerido péptico de tejido animal	10,0 g
Fosfato dibásico de potasio Anhidro	1,5 g
Sulfato de magnesio (MgSO ₄ · 7H ₂ O)	1,5 g
Glicerina	10,0 ml
Agar	15,0 g
Agua	1.000 ml

Disolver los componentes sólidos en agua y agregar la glicerina. Calentar a ebullición durante 1 minuto, agitando frecuentemente para facilitar la disolución.

pH después de la esterilización: 7,2 ± 0,2.

IX. Agar *Pseudomonas* para la Detección de Piocianina

Digerido pancreático de gelatina	20,0 g
Cloruro de magnesio anhidro	1,4 g
Sulfato de potasio anhidro	10,0 g
Agar	15,0 g
Glicerina	10,0 ml
Agua	1.000 ml

Disolver los componentes sólidos en agua y agregar la glicerina. Calentar a ebullición durante 1 minuto, agitando frecuentemente para facilitar la disolución.

pH después de la esterilización: 7,2 ± 0,2.

X. Caldo Lactosado

Extracto de carne vacuna	3,0 g
Digerido pancreático de gelatina	5,0 g
Lactosa	5,0 g
Agua	1.000 ml

Enfriar lo más rápidamente posible después de la esterilización.

pH después de la esterilización: 6,9 ± 0,2.

XI. Caldo Selenito-Cistina

Digerido pancreático de caseína	5,0 g
Lactosa	4,0 g
Fosfato de sodio	10,0 g
Selenito ácido de sodio	4,0 g
L-Cistina	10,0 mg
Agua	1.000 ml

Mezclar y calentar hasta disolución. Calentar a vapor fluente durante 15 minutos. NO ESTERILIZAR.

pH final: 7,0 ± 0,2.

XII. Caldo Tetrionato

Digerido pancreático de caseína	2,5 g
Digerido péptico de tejido Animal	2,5 g

Sales biliares	1,0 g
Carbonato de calcio	10,0 g
Tiosulfato de sodio	30,0 g
Agua	1.000 ml

Calentar la solución constituida por todos los componentes da ebullición. NO ESTERILIZAR. En el día de su uso, agregar una solución de 5 g de ioduro de potasio y 6 g de yodo en 20 ml de agua.

XIII. Agar Verde Brillante

Extracto de levadura	3,0 g
Digerido péptico de tejido Animal	5,0 g
Digerido pancreático de caseína	5,0 g
Lactosa	10,0 g
Cloruro de sodio	5,0 g
Sacarosa	10,0 g
Rojo de fenol	80 mg
Agar	20,0 g
Verde brillante	12,5 mg
Agua	1.000 ml

Calentar a ebullición la solución constituida por todos los sólidos durante 1 minuto. Antes de su uso, esterilizar, fundir el medio y verter en las placas de petri. Dejar enfriar.

pH después de la esterilización: 6,9 ± 0,2.

XIV. Agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato

Xilosa	3,5 g
L-Lisina	5,0 g
Lactosa	7,5 g
Sacarosa	7,5 g
Cloruro de sodio	5,0 g
Extracto de levadura	3,0 g
Rojo de fenol	80 mg
Agar	13,5 g
Desoxicolato de sodio	2,5 g
Tiosulfato de sodio	6,8 g
Citrato amónico férrico	800 mg
Agua	1.000 ml

Calentar la mezcla de sólidos con agua, agitando por rotación hasta llegar al punto de ebullición. NO SOBRECALENTAR NI ESTERILIZAR. Transferir de inmediato a un baño de agua a 50 °C y verter en las placas tan pronto como el medio se haya enfriado.

pH final: 7,4 ± 0,2.

XV. Agar Sulfito de Bismuto

Extracto de carne vacuna	5,0 g
Digerido pancreático de caseína	5,0 g
Digerido péptico de tejido animal	5,0 g
Dextrosa	5,0 g
Fosfato de sodio	4,0 g

Sulfato ferroso	300 mg
Indicador de sulfito de bismuto	8,0 g
Agar	20,0 g
Verde brillante	25 mg
Agua	1.000 ml

Calentar la mezcla de sólidos con agua, agitando por rotación hasta llegar al punto de ebullición. NO SOBRECALENTAR NI ESTERILIZAR. Transferir de inmediato a un baño de agua a 50 °C y verter en las placas tan pronto como el medio se haya enfriado.

pH final: 7,6 ± 0,2.

XVI. Agar Triple Azúcar-Hierro

Digerido pancreático de caseína	10,0 g
Digerido pancreático de tejido	
Animal	10,0 g
Lactosa	10,0 g
Sacarosa	10,0 g
Dextrosa	1,0 g
Sulfato ferroso de amónico	200 mg
Cloruro de sodio	5,0 g
Tiosulfato de sodio	200 mg
Agar	13,0 g
Rojo de fenol	25 mg
Agua	1.000 ml

pH después de esterilización: 7,3 ± 0,2.

XVII: Agar Mac Conkey

Digerido pancreático de gelatina	17,0 g
Digerido pancreático de caseína	1,5 g
Digerido péptico de tejido	
Animal	1,5 g
Lactosa	10,0 g
Mezcla de sales biliares	1,5 g
Cloruro de sodio	5,0 g
Agar	13,5 g
Rojo neutro	30 mg
Cristal violeta	1,0 mg
Agua	1.000 ml

Calentar la mezcla de todos los componentes y el agua hasta ebullición y seguir calentando durante 1 minuto para facilitar la disolución.

pH después de la esterilización: 7,1 ± 0,2.

XVIII. Agar Levine Eosina-Azul de Metileno

Digerido pancreático de gelatina	10,0 g
Fosfato dibásico de potasio	2,0 g
Agar	12,0 g
Lactosa	10,0 g
Eosina	400 mg
Azul de metileno	65 mg
Agua	1.000 ml

Disolver mediante calentamiento el digerido pancreático de gelatina, el fosfato dibásico de

potasio y el agar en el agua y dejar enfriar. Inmediatamente antes de usar, fundir el gel de agar mediante calentamiento y agregar, por cada 100 ml de la solución de agar fundido, 5 ml de solución de lactosa (1 en 5), 2 ml de azul de metileno (1 en 50) y 2 ml de la solución de azul de metileno (1 en 300). Mezclar. [NOTA: el medio final puede no ser transparente].

pH después de la esterilización: 7,1 ± 0,2.

XIX. Agar Sabouraud-Dextrosa

Dextrosa	40,0 g
Mezcla de partes iguales de digerido péptico de tejido animal y digerido pancreático de caseína.....	10,0 g
Agar	15,0 g
Agua	1.000 ml

Mezclar y calentar a ebullición para facilitar la disolución.

pH después de la esterilización: 5,6 ± 0,2.

XX. Agar Papa-Dextrosa

Cocer 300 g de papas peladas, cortadas en rodajas, en 500 ml de agua. Filtrar a través de gasa, agregar agua en cantidad suficiente para obtener 1.000 ml y agregar:

Agar	15,0 g
Glucosa	20,0 g

Disolver por calentamiento y esterilizar.

pH después de la esterilización: 5,6 ± 0,2.

Inmediatamente antes de verter en las placas, ajustar el medio fundido y enfriado a 45 °C con solución estéril de ácido tartárico (1 en 10) a pH 3,5 ± 0,1.

No volver a calentar el medio de pH 3,5.

XXI. Agar DRBC (Dicloran-Rosa de bengala-Cloranfenicol)

Glucosa	10,0 g
Peptona	5,0 g
Fosfato dibásico de potasio	1,0 g
Sulfato de magnesio (mgSO ₄ · 7 H ₂ O)	0,5 g
Cloruro de diclorobenzalconio (Dicloran)	2 mg
Agar	15,0 g
Cloranfenicol	100 mg
Rosa de bengala	25,0 mg
Agua	1.000 ml

Disolver los componentes sólidos en agua. Calentar a ebullición durante 1 minuto, agitando frecuentemente, para facilitar la disolución.

pH después de la esterilización: 5,6 ± 0,2.

XXII. Agar Cristal Violeta-Rojo Neutro-Bilis-Glucosa

Peptona de carne	7,0 g
Extracto de levadura	3,0 g
Cloruro de sodio	5,0 g
Glucosa	10,0 g
Mezcla de sales biliares	1,5 g
Rojo Neutro	0,03 g
Cristal violeta	0,002 g
Agar	13,0 g
Agua	1.000 ml

Disolver y calentar durante 30 minutos a vapor fluyente. No esterilizar en autoclave.

pH final: $7,3 \pm 0,1$.

XXIII. Caldo de Enriquecimiento de Mossel para Enterobacterias

Digerido pancreático de gelatina	10,0 g
Glucosa ($C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$)	5,0 g
Bilis de buey deshidratada	20,0 g
Fosfato monobásico de potasio	2,0 g
Fosfato dibásico de potasio Dihidratado	8,0 g
Verde brillante	15 mg
Agua	1.000 ml

Ajustar el pH de manera que, después del calentamiento, sea de $7,2 \pm 0,2$. Calentar a $100^\circ C$ durante 30 minutos y enfriar inmediatamente.

XXIV. Medio Tioglicolato

Preparar según se indica para *Medio Tioglicolato* en 370. *Ensayos de esterilidad*.

XXV. Agar Sulfito-Polimixina-Sulfadiacina

Peptona de caseína	15,0 g
Extracto de levadura	10,0 g
Citrato férrico	0,5 g
Sulfito de sodio	0,5 g
Polimixina B sulfato	0,01 g
Sulfadiacina sódica	0,12 g
Agar	13,9 g
Agua	1.000 ml

Disolver por calentamiento y esterilizar en autoclave.

pH después de la esterilización: $7,0 \pm 0,2$.

MUESTREO

Tomar porciones de 10 ml o 10 g para preparar la muestra a ensayar.

PROCEDIMIENTO

Preparar la muestra a ensayar mediante un tratamiento que se ajuste a sus características físicas y que no altere el número y tipo de

microorganismos originalmente presentes, a fin de obtener una solución o suspensión apropiada.

En el caso de sólidos que no se disuelven por completo, reducir la muestra a polvo moderadamente fino. Suspender en el vehículo especificado y proceder según se indica en *Recuento de aerobios viables*, *Ensayo para Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* y *Ensayo para Salmonella spp.* y *Escherichia coli*.

En el caso de líquidos, soluciones verdaderas, suspensiones en agua o en un vehículo hidroalcohólico que contenga menos de 30 % de alcohol y en el caso de un sólido que se disuelve en *Solución reguladora de fosfato pH 7,2* o en el medio especificado, proceder según se indica en *Recuento de aerobios viables*, *Ensayo para Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* y en *Ensayo para Salmonella spp.* y *Escherichia coli*.

En el caso de líquidos no miscibles en agua, como ungüentos, cremas y ceras, preparar una suspensión con la ayuda de una cantidad mínima de un agente emulsionante estéril apropiado (como por ej., un polisorbato), mezclar y calentar a una temperatura menor o igual a $45^\circ C$, si fuera necesario, y proceder según se indica en *Recuento de aerobios viables*, *Ensayo para Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* y en *Ensayo para Salmonella spp.* y *Escherichia coli*.

En el caso de aerosoles líquidos, enfriar el recipiente en una mezcla de hielo seco y alcohol durante aproximadamente 1 hora. Cortar el recipiente, dejar que alcance la temperatura ambiente. Dejar evaporar el propelente o calentar suavemente, si fuera posible, y transferir la cantidad de producto a ensayar siguiendo alguno de los procedimientos especificados anteriormente. En caso que no fuera posible obtener 10,0 g o 10,00 ml de muestra, a partir de diez aerosoles, transferir el contenido total de diez envases enfriados al medio de cultivo, dejar evaporar el propelente y realizar el ensayo sobre los residuos. Si los resultados de los ensayos resultaran dudosos o no concluyentes, repetir el ensayo sobre veinte envases adicionales.

Recuento de aerobios viables

En el caso de muestras que sean lo suficientemente solubles o translúcidas para permitir el *Procedimiento en placa*, emplear dicho método. En caso contrario, emplear el *Procedimiento en tubo*. Con cualquiera de los dos métodos, disolver o suspender 10,0 g de muestra, si fuera sólida, o 10,0 ml, exactamente medidos, si fuera un líquido, en *Solución reguladora de fosfato pH 7,2*, *Caldo Digerido de Caseína-Soja* o *Caldo Digerido de Caseína-Soja-Polisorbato 20* para

obtener 100 ml. Para muestras que no pudieran ser pipeteadas a esta dilución inicial de 1:10, diluirlas hasta obtener una suspensión que pueda ser pipeteada, como por ej., 1:50 ó 1:100, etc. Realizar el ensayo de ausencia de propiedades inhibitorias según se indica en *Ensayos preliminares* antes de la determinación del *Recuento de aerobios viables*. Las diluciones así preparadas no deben dejarse más de 1 hora antes de proseguir con el ensayo.

Procedimiento en placa - Realizar una dilución, si fuera necesario, de modo que 1 ml contenga entre 30 y 300 ufc. Transferir 1 ml de la dilución final a cada una de dos placas de Petri estériles. Agregar rápidamente a cada placa entre 15 y 20 ml del Agar Digerido de Caseína-Soja previamente fundido y enfriado a 45 °C. Tapar las placas de Petri, homogeneizar la muestra con el agar por rotación de las placas y dejar solidificar a temperatura ambiente. Invertir las placas de Petri e incubar durante 48 a 72 horas. Luego de la incubación, examinar las placas para ver si hubo desarrollo. Contar el número de colonias y expresar el promedio para las dos placas en términos del número de unidades formadoras de colonias por g (ufc/g) o por ml de muestra (ufc/ml). Si no se detectan colonias en las placas que representan la dilución inicial (1:10) de la muestra, expresar los resultados como menos de 10 ufc por g o por ml de muestra.

Procedimiento en tubo - Agregar a cada uno de catorce tubos de ensayo de tamaño similar, 9,0 ml de Caldo Digerido de Caseína-Soja estéril. Distribuir doce de los tubos en cuatro grupos de tres tubos cada uno. El grupo de los tres tubos restantes servirá de control. Transferir 1 ml de la solución o suspensión de la muestra a cada uno de los tres tubos de un grupo ("100") y a un cuarto tubo (A) y mezclar. Transferir 1 ml del contenido del tubo A, al tubo restante (B) no incluido en ningún grupo y mezclar. Estos dos tubos contienen 100 mg (ó 100 µl) y 10 mg (ó 10 µl) de la muestra, respectivamente. Transferir 1 ml del contenido del tubo a cada uno de los tres tubos del segundo grupo ("10") y 1 ml del contenido del tubo B a cada uno de los tubos del tercer grupo ("1"). Descartar el contenido remanente de los tubos A y B. Tapar bien e incubar todos los tubos. Luego del período de incubación, examinar los tubos para detectar desarrollo bacteriano: los tres tubos controles deben permanecer transparentes y los tubos que contienen la muestra deben compararse con la *Tabla 1*.

Ensayo para *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*

A un volumen de la dilución preparada en Recuento de aerobios viables, equivalente a 1 g o

1 ml de producto, agregar Caldo Digerido de Caseína-Soja para obtener 100 ml, mezclar e incubar. Examinar el medio para detectar desarrollo bacteriano y, si lo hubiera, inocular con un ansa la superficie de Agar Vogel- Johnson (o Agar Baird-Parker o Agar Manitol-Sal) y de Agar Cetrimida. Tapar, invertir las placas e incubar. Si ninguna de las placas contiene colonias con las características descritas en la *Tabla 2* y en la *Tabla 3* para los medios empleados, la muestra cumple con los requisitos del ensayo para ausencia de *Staphylococcus aureus* y de *Pseudomonas aeruginosa* por gramo o mililitro.

*Ensayo para *Staphylococcus aureus** - Transferir a tubos individuales 0,5 ml de plasma de mamífero, preferentemente conejo o caballo, con o sin aditivos apropiados. Con la ayuda de un ansa de inoculación, transferir a sendos tubos una porción representativa de cada una de las colonias sospechosas de la superficie del Agar Vogel-Johnson (o Agar Baird-Parker o Agar Manitol-Sal), catalasa positivas. Incubar en un baño de agua a 37°C, durante 3 horas y observar. Posteriormente y a intervalos apropiados, observar hasta que hayan transcurrido 24 horas. Efectuar, en paralelo con la muestra, centro positivos y negativos. La muestra cumple con los requisitos del ensayo para ausencia de *Staphylococcus aureus* por gramo o mililitro si no se observa ningún grado de coagulación. La presencia de *Staphylococcus aureus* puede ser confirmada por otros ensayos bioquímicos apropiados.

*Ensayo para *Pseudomonas aeruginosa** - Con la ayuda de un ansa de inoculación, transferir una porción representativa de cada una de las colonias sospechosas de la superficie del Agar Cetrimida a la superficie de Agar *Pseudomonas* para la Detección de Fluorescina y de Agar *Pseudomonas* para la Detección de Piocianina. Tapar e invertir los medios inoculados e incubar a 35 ± 2 °C durante no menos de 3 días. Examinar las superficies inoculadas bajo luz ultravioleta y determinar si las colonias poseen las características descritas en la *Tabla 3*.

Confirmar la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en cualquier colonia sospechosa que se haya desarrollado en uno o más de los medios, por ensayos bioquímicos apropiados. Transferir las colonias a tiras o discos de papel de filtro previamente impregnados con diclorhidrato de N,N-dimetilp- fenilendiamina: la muestra cumple con los requisitos del ensayo para ausencia de *Pseudomonas aeruginosa* por gramo o mililitro si no desarrolla un color rosado, que más tarde se torna púrpura. La presencia de *Pseudomonas*

aeruginosa puede ser confirmada por otros ensayos bioquímicos apropiados.

Ensayo para *Salmonella* spp. y *Escherichia coli*

A un volumen de la dilución preparada en *Recuento de aerobios viables*, equivalente a 1 g o 1 ml de producto, agregar Caldo Lactosado para obtener 100 ml, mezclar e incubar. Observar el medio. Si se detecta desarrollo bacteriano mezclar suavemente y transferir porciones de 1 ml a tubos que contengan respectivamente, 10 ml de Caldo Selenito-Cistina y 10 ml Caldo Tetratationato, mezclar e incubar durante un período de 12 a 24 horas (conservar el Caldo Lactosado remanente).

Ensayo para Salmonella spp. - Mediante el empleo de un ansa de inoculación, transferir porciones de los medios de selenito-cistina y de tetratationato, a las superficies de Agar Verde Brillante, Agar Xilosa-Lisina- Desoxicolato y Agar Sulfito de Bismuto. Tapar, invertir las placas e incubar. La muestra cumple con los requisitos del ensayo para ausencia de *Salmonella spp* por gramo o mililitro si no se observa el desarrollo de colonias con las características descriptas en la *Tabla 4*.

Si al menos en uno de los medios se encuentran colonias de bacilos Gram negativos que coincidan con las descriptas en la *Tabla 4*, realizar un ensayo adicional, transfiriendo individualmente cada una de las colonias sospechosas, mediante un ansa de inoculación a un tubo que contenga Agar Triple Azúcar-Hierro solidificado con una superficie inclinada y un fondo, inoculándose la superficie primero y luego el fondo por punción. Incubar los tubos. Si no se observara reacción alcalina (color rojo) sobre la superficie y ácida (color amarillo) en el fondo (con o sin ennegrecimiento concomitante del fondo, producido por la formación de ácido sulfhídrico), la muestra cumple con los requisitos del ensayo para ausencia del género *Salmonella*. La presencia o ausencia de *Salmonella* puede ser confirmada por ensayos bioquímicos apropiados.

Ensayo para escherichia coli - Con la ayuda de un ansa de inoculación, transferir una porción del Caldo Lactosado remanente sobre la superficie de Agar Mac Conkey. Tapar, invertir e incubar las placas.

Si se observaran colonias como las descriptas en la *Tabla 5*, realizar un ensayo adicional transfiriendo individualmente las colonias sospechosas, con la ayuda de un ansa de inoculación, a la superficie de Agar Levine Eosina-Azul de Metileno. Tapar, invertir e incubar las placas. La muestra cumple con los requisitos del ensayo para la ausencia de *Escherichia coli* por gramo o mililitro si, ninguna de las colonias

observadas presenta un brillo metálico característico frente a la luz reflejada y un aspecto negro azulado frente a la luz transmitida. La presencia de *Escherichia coli* puede ser confirmada por ensayos bioquímicos apropiados.

Ensayo para anaerobios Sulfito-reductores

A un volumen de la dilución preparada en *Recuento de aerobios viables*, equivalente a 1 g o 1 ml de producto, agregar Medio Tioglicolato previamente calentado durante 10 minutos en un baño de vapor y enfriado, adicionado de azida sódica al 0,03 %, hasta obtener 100 ml. Cubrir la superficie con una mezcla estéril de vaselina y parafina. [NOTA: la mezcla estéril de vaselina y parafina se prepara fundiendo 250 g de parafina conjuntamente con 750 g de vaselina, mezclando bien, repartiendo en tubos y esterilizando en autoclave]. El medio inoculado y cubierto con la capa de vaselina-parafina se incuba entre 48 y 72 horas a 35 °C. Si se observa desarrollo microbiano, transferir 1 ml a un tubo estéril de no más de 16 mm de diámetro exterior y no menos de 200 mm de largo. Agregar por las paredes, Agar Sulfito-Polimixina- Sulfadiacina, previamente fundido y enfriado a 40 °C, hasta no más de 1 cm del borde superior del tubo. Cubrir con la mezcla de vaselina-parafina e incubar entre 5 y 7 días a 35 °C, observando diariamente. La muestra cumple con el ensayo de ausencia de microorganismos anaerobios sulfito-reductores por gramo o mililitro si no se observa el desarrollo de colonias negras.

Gérmenes revivificables

A un volumen de la dilución preparada en *Recuento de aerobios viables*, equivalente a 1 g o 1 ml de producto, agregar Caldo Digerido de Caseína-Soja para obtener 100 ml. Incubar durante 5 días entre 25 y 28 °C. A otro volumen de la dilución preparada en *Recuento de aerobios viables*, equivalente a 1 g o 1 ml de producto, agregar Medio Tioglicolato hasta obtener 100 ml. Incubar entre 48 y 72 horas a 35 °C. Observar ambos medios. La muestra cumple con los requisitos del ensayo para ausencia de gérmenes revivificables en un gramo o mililitro si no se observa desarrollo microbiano.

Recuento de Enterobacteriaceae

Procedimiento en placa - Proceder según se indica para *Recuento de aerobios viables* pero emplear Agar Cristal Violeta-Rojo-Neutro-Bilis-Glucosa e incubar entre 48 y 72 horas. Luego de la incubación observar las placas para ver si hubo crecimiento. Contar el número de colonias rojas

con halo de precipitación rojizo, de bacilos Gram negativos y expresar el promedio para las dos placas en términos del número de ufc de *Enterobacteriaceae* por g o ml de muestra. Si no se observan colonias características en las placas que representan la dilución inicial (1:10) de la muestra, expresar los resultados como menos de 10 ufc por g o ml de muestra.

Procedimiento en tubo - Inocular cantidades apropiadas de Caldo de Mossel para Enriquecimiento de Enterobacterias con la muestra preparada según se indica en *Procedimiento* o con diluciones de la misma que contengan respectivamente 1-0; 0,1 y 0,01 g o 1,0, 0,1 y 0,01 ml. Incubar. A partir de cada cultivo positivo subcultivar sobre Agar Cristal Violeta-Rojo Neutro-Bilis-Glucosa. Incubar entre 18 y 24 horas. La presencia de colonias rojas con halo de precipitación rojizo de bacilos Gram negativos constituye un resultado positivo. A partir de la *Tabla 6* determinar el número más probable de *Enterobacteriaceae* por g o ml de muestra.

Ensayo para Enterobacteriaceae - Disolver o suspender 10,0 g de muestra, si fuera sólida, o 10,0 ml, exactamente medidos, si fuera un líquido, en Caldo Lactosado hasta obtener 100 ml. Incubar entre 2 y 5 horas. Homogeneizar y transferir 10 ml de la muestra incubada a 90 ml de Caldo de Mossel para *Enriquecimiento de Enterobacterias*. Incubar entre 18 y 24 horas. Subcultivar sobre Agar Cristal Violeta- RojoNeutro-Bilis-Glucosa e incubar. La muestra cumple con el ensayo para ausencia de *Enterobacteriaceae* por gramo o mililitro si no se observa desarrollo de colonias rojas con halo de precipitación rojizo de bacilos Gram negativos o si los ensayos bioquímicos son negativos.

Recuento de hongos y levaduras

Proceder según se indica para el *Procedimiento en placa* en *Recuento de aerobios viables* pero emplear Agar Dextrosa-Sabouraud, Agar Papa-Dextrosa o Agar DRBC. Incubar las placas de Petri, durante un período de 5 a 7 días, a una temperatura entre 20 y 25 °C.

REANALISIS

Con el propósito de confirmar un resultado dudoso en cualquiera de los procedimientos anteriormente descritos para el análisis de una muestra de 10 g, el ensayo puede repetirse con una muestra de 25 g. Proceder según se indica en *Procedimiento*, haciendo las modificaciones necesarias para adaptarlo a una muestra de mayor tamaño.

ASIGNACION DE LÍMITES

El significado de la presencia de microorganismos en productos farmacopeicos no estériles, incluidos aquéllos con límites especificados en la monografía correspondiente, debe ser evaluado teniendo en cuenta el uso del producto, su naturaleza, el riesgo potencial para el paciente y el procesamiento.

El contenido de microorganismos en una muestra, provee un índice general del grado de contaminación e información acerca del proceso de manufactura del elaborador. A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, el recuento de microorganismos en materias primas debe ser 1.000 ufc por g o ml para aerobios viables y 100 ufc por g o ml para hongos y levaduras. En el caso de productos terminados, los valores establecidos se basan en el tipo de forma farmacéutica y su vía de administración. Los límites de contenido microbiano para productos farmacopeicos no estériles en base a su vía de administración se indican en la *Tabla 7*.

Tabla 1. Número más probable de microorganismos. Procedimiento en tubos.

Número de tubos en los cuales se observa desarrollo			N° más probable de microorganismos por g o ml
100 mg o 100 µl por tubo	10 mg o 10 µl por tubo	1 mg o 1 µl por tubo	
3	3	3	>1.100
3	3	2	1.100
3	3	1	500
3	3	0	200
3	2	3	290
3	2	2	210
3	2	1	150
3	2	0	90
3	1	3	160
3	1	2	120
3	1	1	70

3	1	0	40
3	0	3	95
3	0	2	60
3	0	1	40
3	0	0	23

Tabla 2. Características morfológicas de *Staphylococcus aureus* en medios selectivos.

Medio selectivo	Características morfológicas de las colonias	Coloración de Gram
Agar Vogel-Johnson	Negras rodeadas de un halo amarillo	Cocos positivos (en racimos)
Agar Manitol-Sal	Amarillas con halos amarillos	Cocos positivos (en racimos)
Agar Baird-Parker	Negras brillantes, rodeadas de halos de aclaración de 2 a 5 mm	Cocos positivos (en racimos)

Tabla 3. Características morfológicas de *Pseudomonas aeruginosa* en medios selectivos y de diagnóstico.

Medio selectivo	Características morfológicas de las colonias	Fluorescencia a la luz ultravioleta	Prueba de oxidasa	Coloración de Gram
Agar cetrimida	Generalmente verdosas	Verdosas	Positiva	Bacilos negativos
Agar Pseudomonas para la detección de Fluorescina	Generalmente incoloras o amarillentas	Amarillenta	Positiva	Bacilos negativos
Agar Pseudomonas para la detección de Píocianina	Generalmente verdosas	Azul	Positiva	Bacilos negativos

Tabla 4. Características morfológicas de *Salmonella ssp.* en medios selectivos.

Medio selectivo	Características morfológicas de las colonias
Agar Verde Brillante	Pequeñas, transparentes, incoloras o de color rosado a blanco opaco (frecuentemente circundadas por un halo de un color rosado a rojo).
Agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato	Rojas, con o sin centro negro.
Agar Sulfito de Bismuto	Negras o verdes

Tabla 5. Características morfológicas de *Escherichia coli* en Agar Mac Conkey.

Coloración de Gram	Características morfológicas de las colonias
Bacilos negativos (cocco-bacilli)	Rojo ladrillo, pueden presentar un halo de bilis precipitada

Tabla 6. Número más probable de Enterobacterias.

Volumen o peso del producto			Nº más probable de bacterias por g o ml de producto
1,0 g o 1,0 ml	0,1 g o 0,1 ml	0,01 g o 0,01 ml	
+	+	+	Más de 10 ²
+	+	-	Menos de 10 ² y más de 10

+	-	-	Menos de 10 y más de 1
-	-	-	Menos de 1

Tabla 7. Asignación de contenido límite de microorganismos para productos terminados no estériles, según su vía de administración.

Categoría	Vías de administración	Recuento de aerobios viables totales por ufc/g o ml	<i>Enterobacteriaceae</i>	Hongos y levaduras	Ausencia de 1 g o ml*
I	1.1 Escaras, ulceraciones o quemaduras graves	-	-	-	Gérmens revivificables
	Inhalatoria y cavidades exentas de gérmenes	≤10	-	-	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
II	Nasal, ótica, rectal, tópica y vaginal	≤100	-	≤10	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> **
III	Oral	≤1.000	≤100	≤100	<i>Staphylococcus aureus.</i> <i>Escherichia coli</i> y <i>Salmonella</i>

* Anaerobios sulfito reductores para productos cuyas materias primas se consideren fuentes de contaminación.

** *Pseudomonas aeruginosa* solamente para formas farmacéuticas líquidas.

100. CROMATOGRAFÍA

La cromatografía es un método por el cual las sustancias se separan mediante un proceso de migración diferencial en un sistema que consta de dos fases. Una fase que fluye continuamente en una dirección dada (fase móvil) y otra que permanece fija (fase estacionaria). En estos sistemas los componentes de una mezcla pueden presentar diferentes movilidads debido a diferencias en la capacidad de adsorción, partición, solubilidad, presión de vapor, tamaño molecular o carga. Los mecanismos de separación son: adsorción, disolución y partición, filtración y permeación o tamices moleculares, intercambio iónico.

Las técnicas aplicadas mediante los distintos mecanismos-mencionados empleados en esta Farmacopea son: Cromatografía en columna, Cromatografía en papel, Cromatografía en capa delgada, Cromatografía de gases, Cromatografía líquida de alta eficacia y Cromatografía de exclusión.

La *Cromatografía de adsorción* se basa en la separación de un soluto entre la fase estacionaria constituida por un adsorbente, como por ej., alúmina activada, sílica gel y resinas de intercambio iónico y la fase móvil constituida por el solvente de elusión.

La *Cromatografía de partición* se basa en la distribución selectiva del soluto entre la fase estacionaria y la fase móvil. Se clasifica en cromatografía de partición en fase normal y cromatografía de partición en fase reversa. En la cromatografía de partición en fase normal las sustancias a separar se distribuyen entre dos líquidos inmiscibles uno de los cuales es más polar, actúa como fase estacionaria y se encuentra adsorbido sobre un soporte sólido, brindando una gran superficie de contacto a la fase móvil menos polar. En la cromatografía de partición en fase reversa la fase estacionaria es menos polar que la fase móvil.

El grado de partición de un compuesto dado entre las dos fases líquidas se expresa por su coeficiente de partición o de distribución y puede modificarse variando la composición de la fase móvil. En el caso de compuestos que se disocian, la distribución se puede controlar modificando, entre otras propiedades, el pH, la constante dieléctrica y la fuerza iónica.

La *Cromatografía de intercambio iónico* se emplea para separar compuestos ionizables y solubles en agua. Las fases estacionarias empleadas son generalmente resinas orgánicas sintéticas. Las resinas de intercambio catiónico contienen sitios

activos con carga negativa y se emplean para separar compuestos básicos, como por ej., las aminas. Las resinas de intercambio aniónico tienen sitios activos con carga positiva para la separación de compuestos ácidos, como por ej., fosfatos, sulfonatos o carboxilatos. Los compuestos iónicos o ionizables, solubles en agua, son atraídos a las resinas y las diferencias en la afinidad producen la separación cromatográfica. El pH de la fase móvil, la temperatura, el tipo de ion, la concentración iónica y los modificadores orgánicos afectan el equilibrio; estas variables pueden ajustarse para obtener el grado de separación deseado.

La *Cromatografía por tamices moleculares* se basa en el intercambio repetido de los compuestos con la fase móvil y con la fase líquida estacionaria que se encuentra dentro de los poros del material de relleno.

Empleo de Sustancias de referencia en ensayos de identificación - En Cromatografía en papel y en Cromatografía en capa delgada, la relación entre la distancia recorrida por una sustancia y la distancia recorrida por el frente de la fase móvil, se denomina relación de frente, R_f , de la sustancia. La relación entre la distancia recorrida por una sustancia y la distancia recorrida por una *Sustancia de referencia*, se denomina R_E de la sustancia.

En el caso de la Cromatografía en papel se han observado diferencias en el valor de R_f cuando los cromatogramas se desarrollan en dirección paralela a las fibras de papel en comparación con los desarrollados en forma perpendicular a dicha dirección. En consecuencia, la orientación de las fibras del papel en lo que se refiere al flujo de la fase móvil debe ser la misma para una serie de cromatogramas. [NOTA: por lo general, el fabricante indica el sentido de las fibras en los envases de papel para Cromatografía].

Los valores absolutos de R_f , son difíciles de establecer, ya que varían con las condiciones experimentales por lo tanto se logra una mejor identificación cuando se emplea una muestra de la sustancia a ensayar como *Sustancia de referencia*. Para este fin se preparan soluciones de la muestra, la *Sustancia de referencia* y una mezcla de partes iguales de ambas y se aplican sobre una línea paralela a uno de los bordes de la placa cromatográfica u hoja de papel. Cada aplicación contiene aproximadamente la misma cantidad, en peso, de la muestra y la *Sustancia de referencia*. Si la misma y la *Sustancia de referencia* son idénticas, todos los cromatogramas deben

coincidir en color y valor de R_f , y el cromatograma de la mezcla debe mostrar una única mancha.

En Cromatografía en columna, Cromatografía en papel y Cromatografía en capa delgada, las sustancias pueden ser localizadas por: (a) observación directa con luz visible o luz ultravioleta, si las sustancias poseen color o producen fluorescencia; (b) observación con luz visible o ultravioleta, después de agregar un reactivo que reaccione con las sustancias separadas; (c) mediante un contador Geiger-Müller o con técnica autorradiográfica, cuando se trabaja con sustancias radiactivas o (d) por estimulación o inhibición del desarrollo microbiano, colocando trozos de papel que contienen las sustancias separadas en medios de cultivo apropiados.

CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA

La Cromatografía en columna se emplea para la separación de sustancias en escala preparativa.

Cromatografía de adsorción

Preparación de la columna - Emplear un tubo cromatográfico, cilíndrico, de vidrio o del material especificado en la monografía correspondiente, generalmente de 10 a 30 mm de diámetro interno y de 150 a 400 mm de largo. En su extremo inferior, el tubo se angosta formando un tubo de salida que generalmente posee un diámetro interno de 3 a 6 mm, pudiendo incluir un robinete para el control exacto del caudal. Generalmente se emplea una varilla de vidrio u otro material para colocar un trozo de lana de vidrio o algodón, en la base del tubo, y si fuera necesario, compactar el adsorbente o una suspensión del mismo uniformemente dentro del tubo. En algunos casos, en la base del tubo se encuentra soldado un disco de vidrio poroso que actúa como soporte del contenido del tubo. Colocar el adsorbente especificado en la monografía correspondiente de manera que se forme una columna compacta, homogénea y sin fisuras.

Los adsorbentes más empleados son alúmina, gel de sílice activado y tierra de diatomeas.

Procedimiento - Disolver la muestra en una cantidad apropiada de solvente y agregarla por el extremo superior de la columna. Dejar que esta solución se adsorba y luego agregar nuevas porciones de solvente, de manera que fluya a través de la columna espontáneamente, por aplicación de vacío en la base o ejerciendo presión en el extremo superior. En algunos casos, puede modificarse el procedimiento de carga de la muestra en la columna. Si el producto es sólido (como por ej., comprimidos pulverizados) se lo mezcla íntimamente con una porción del adsorbente

empleado para rellenar la columna, sin necesidad de separarlo de su excipiente y se agrega esta mezcla al extremo superior de la columna. El paso posterior de solvente hace progresar la sustancia a través de la columna.

La separación y aislamiento puede mejorarse haciendo circular mayores cantidades de fase móvil o un solvente de mayor poder eluyente, a través de la columna y recolectando distintas fracciones del eluato que contienen los componentes de la muestra.

La eficiencia de la separación suele controlarse realizando un cromatograma en capa delgada de las fracciones individuales.

Cromatografía de partición

Preparación de la columna - Emplear un tubo cromatográfico de aproximadamente 22 mm de diámetro interno y 200 a 300 mm de largo, sin disco de vidrio poroso en su extremo, al que se ajusta un tubo de salida, sin robinete, de aproximadamente 4 mm de diámetro interno y 50 mm de largo, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente. Adaptar un trozo de lana de vidrio en la base del tubo. Transferir el volumen de fase estacionaria y la cantidad de soporte sólido especificados en la monografía correspondiente a un vaso de precipitados de 100 a 250 ml y mezclar hasta obtener una mezcla homogénea y espesa. Transferir esta mezcla al tubo cromatográfico y apisonar presionando suavemente, hasta obtener una masa uniforme. Si la cantidad de soporte sólido especificada es mayor de 3 g, transferir la mezcla al tubo en porciones de aproximadamente 2 g y apisonar cada porción.

Procedimiento - La muestra se puede agregar a la parte superior de la columna disuelta en un volumen apropiado de fase móvil o empleando una solución de la muestra en un volumen apropiado de fase estacionaria mezclada con una parte adicional del soporte sólido y transferida a la parte superior de la columna como una capa extra de soporte. La muestra puede también ser incorporada en la fase estacionaria, completando la transferencia cuantitativa al tubo cromatográfico, lavando el vaso de precipitados, empleado para la preparación de la muestra, y agregando una mezcla de aproximadamente 1 g de soporte sólido y varias gotas del solvente empleado para preparar la solución muestra. Colocar un trozo de lana de vidrio fina por encima del soporte de la fase estacionaria para completar la columna. Dejar que se adsorba completamente en la fase estacionaria y luego agregar fase móvil en varias porciones, permitiendo que cada una penetre en la columna completamente, antes de comenzar la elusión.

Como fase móvil emplear el solvente o la solución especificada en la monografía correspondiente. Equilibrar la fase móvil con agua si la fase estacionaria es una solución acuosa o si la fase estacionaria es un líquido orgánico polar, equilibrar con ese líquido.

Cuando la valoración o el ensayo requieren el empleo de varias columnas cromatográficas colocadas en serie, cuando se especifique el agregado de la fase móvil en porciones o el cambio en la composición de la misma, dejar que cada porción drene completamente a través de la columna y lavar el vástago con fase móvil antes del agregado de cada porción.

CROMATOGRAFÍA EN PAPEL

El mecanismo predominante en Cromatografía en papel es la partición, ésto se debe a que el papel posee un contenido natural de agua que puede ser considerada como fase estacionaria. Sin embargo, en la práctica, las separaciones frecuentemente son el resultado de la combinación de efectos de adsorción y partición.

Cromatografía descendente

Aparato - Consta de:

- Una cámara con cierre hermético para permitir la saturación con los vapores de la fase móvil, generalmente construida de vidrio, acero inoxidable o porcelana y diseñada de manera que permita seguir el proceso sin necesidad de abrirla.
- Un bastidor de material resistente a la corrosión, aproximadamente 5 cm más corto que la altura interior de la cámara. El bastidor sirve de soporte a las cubetas que contienen la fase móvil y de las cuales se suspenden las hojas de papel.
- Una o más cubetas de vidrio o de material inatacable por la fase móvil.
- Varillas de vidrio, colocadas en forma paralela al borde de cada cubeta para mantener suspendidas la hoja de papel.
- Hojas de papel cromatográfico de textura y espesor apropiados.

Procedimiento - Trazar una línea transversal, cerca de uno de los extremos del papel, de modo que cuando se sumerja en la fase móvil quede a unos pocos centímetros por debajo de la varilla de vidrio. Disolver la muestra en un solvente apropiado. Aplicar un volumen de la solución así obtenida que contenga aproximadamente entre 1 y 20 mg de la sustancia a ensayar sobre la línea anteriormente trazada y un volumen similar de la *Sustancia de referencia* dejando no menos de 3 cm entre cada aplicación. Las aplicaciones no deben formar una mancha mayor de 6 a 10 mm de diámetro, para ello aplicar las soluciones en

porciones sucesivas dejando secar luego de cada aplicación.

Sujetar el papel por el extremo donde se aplicó la muestra dentro de la cubeta. El papel debe pasar por encima de la varilla colocada en el borde de la cubeta y debe colgar libremente en la cámara, sin tocar su fondo o sus paredes.

Colocar una cantidad apropiada de fase móvil en el fondo de la cámara y cerrarla herméticamente. Dejar la cámara en estas condiciones durante un período que permita que el ambiente se sature y el papel se equilibre con el vapor de la fase móvil. La saturación de la cámara puede favorecerse mediante el revestimiento de las paredes internas con un papel humedecido en fase móvil.

Colocar la fase móvil en la cubeta y cerrar la cámara herméticamente. Dejar descender la fase móvil por el papel, hasta que haya recorrido la distancia deseada. Retirar el papel de la cámara, marcar rápidamente el frente del solvente y dejar secar.

Observar los cromatogramas directamente o revelar la posición de las manchas empleando reactivos apropiados. Comparar los cromatogramas obtenidos a partir de la muestra y la *Sustancia de referencia*.

La sección del papel que contiene la sustancia o sustancias aisladas puede cortarse y eluirse con un solvente apropiado. La solución resultante puede ser valorada mediante técnicas químicas o instrumentales apropiadas empleando *Sustancias de referencia*, tratadas de la misma manera que la muestra, en un intervalo apropiado dé concentraciones para realizar una curva de calibración.

Cromatografía ascendente

Aparato - Emplear el aparato descrito en *Cromatografía descendente*.

Procedimiento - Aplicar la muestra y la *Sustancia de referencia* según se indica para el *Procedimiento* en *Cromatografía descendente*. Transferir una cantidad apropiada de fase móvil para cubrir el fondo de la cámara. Colocar la cubeta vacía en el fondo de la cámara. Colocar el papel empleando un soporte apropiado dentro de la cubeta vacía, procurando que no toque las paredes de la cámara. Cerrarla herméticamente y dejarla en estas condiciones durante un período que permita que el ambiente se sature y el papel se equilibre con el vapor de la fase móvil. Colocar la fase móvil en la cubeta y cerrar la cámara herméticamente. Dejar que el solvente ascienda por el papel hasta que haya recorrido la distancia deseada. Retirar el papel de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar.

[NOTA: pueden emplearse cámaras cilíndricas, de vidrio, que no requieren el empleo de cubetas y en las que la fase móvil se coloca directamente sobre el fondo de la cámara. El papel se suspende de la tapa que cierra la cámara. Durante la etapa de equilibrio, el extremo inferior del papel no debe tocar la fase móvil. La cromatografía comienza haciendo descender la hoja de papel de modo que toque la fase móvil].

CROMATOGRAFÍA EN CAPA DELGADA

La Cromatografía en capa delgada es comúnmente empleada para la identificación de sustancias. El mecanismo de separación predominante es la adsorción pero dependiendo del adsorbente empleado pueden observarse también fenómenos de partición.

En cromatografía en capa delgada el adsorbente está constituido por una capa uniforme y relativamente delgada de un material finamente pulverizado que se aplica sobre una placa rígida de vidrio, plástico o metal. Esta técnica presenta varias ventajas sobre la cromatografía en papel, se pueden emplear mayores cantidades de muestra; el tiempo requerido es menor por lo tanto los riesgos de alteración de la muestra por oxidación o por acción de los solventes disminuyen y permite el uso de adsorbentes minerales que hacen posible el empleo de reveladores agresivos, como por ej., ácido sulfúrico.

Aparato - Consta de:

- Placas de material inerte: las más empleadas son de vidrio de 20 cm × 20 cm.

- Un bastidor o soporte de material resistente a la corrosión y aproximadamente 5 cm más corto que la altura interna de la cámara destinado a sostener una o más placas que se disponen enfrentadas por su cara no cubierta por el adsorbente.

- Materiales adsorbentes finamente divididos que pueden ser de origen mineral (gel de sílice, alúmina, etc.) u orgánico (celulosa, poliamidas, etc.), normalmente de 5 a 40 mm de diámetro. Pueden aplicarse directamente sobre la placa de vidrio o adherirse a la placa a través de emplasto de París (sulfato de calcio hidratado) en una relación de 5 a 15 % o con pasta de almidón u otros aglutinantes. El primero no produce superficies duras como el almidón, pero no es afectado por reactivos reveladores fuertemente oxidantes. El adsorbente puede contener materiales que ayuden a la visualización de las manchas que absorben la luz ultravioleta.

- Un aparato apropiado para esparcir el adsorbente de modo que al desplazarlo sobre la

placa permita aplicar en toda su superficie una capa uniforme con el espesor deseado.

- Una cámara de vidrio cilíndrica o rectangular de aproximadamente 30 cm de altura por 30 cm de ancho y 16 cm de fondo, provista de una tapa del mismo material que permita el cierre hermético para saturarla con los vapores de la fase móvil.

- Fase móvil constituida por mezclas de solventes orgánicos o soluciones acuosas según se indique en la monografía correspondiente.

- Reactivos reveladores específicos indicados en las monografías correspondientes.

- Un pulverizador que permita aplicar el reactivo revelador, resistente al ataque del mismo.

[NOTA: pueden emplearse placas comerciales preparadas o bien prepararlas en el laboratorio].

Preparación de la placa - Limpiar perfectamente las placas por inmersión en mezcla sulfocrómica (ver 1090. *Limpieza de materiales de vidrio*) y luego lavarlas con abundante agua hasta que el líquido que escurre no deje en la superficie de las placas manchas visibles. Secarlas perfectamente.

Suspender el adsorbente, con el agregado o no de reactivos, como por ej., soluciones reguladoras, sustancias fluorescentes, etc., en agua o en solventes orgánicos volátiles, agitar durante 30 segundos, hasta formar una suspensión homogénea. Extender la suspensión sobre una o varias placas, manualmente o con ayuda del aplicador, hasta lograr una capa uniforme de 0,25 a 1 mm de espesor. Dejar en reposo durante 5 minutos. Secar a 105 °C durante 30 minutos y dejar enfriar en un desecador. Generalmente 30 g de adsorbente y 60 ml de agua son suficientes para cinco placas de 20 cm × 20 cm. Cuando se emplea emplasto de París como aglutinante completar la aplicación de los adsorbentes dentro de los 2 minutos de haber agregado el agua, ya que posteriormente la mezcla empieza a endurecer.

Cuando las placas estén secas y a temperatura ambiente, verificar la uniformidad de la distribución y la textura de la capa adsorbente; la luz transmitida muestra uniformidad en la distribución y la luz reflejada muestra uniformidad en la textura. Conservar las placas cromatográficas en un desecador. Deben emplearse dentro de los tres días posteriores a su preparación.

Procedimiento - Colocar en la cámara una cantidad suficiente de fase móvil hasta obtener una capa de 1,5 cm. Adherir hojas de papel de filtro embebidas en la fase móvil a las paredes de la cámara, para facilitar la saturación de la misma con el vapor del líquido, a menos que se especifique de otro modo, en la monografía correspondiente.

Cerrar la cámara herméticamente. Trazar una línea a 2,5 cm del borde inferior y lateral de la placa. Aplicar por separado sobre la línea trazada anteriormente y a no menos de 2 cm entre cada aplicación la solución muestra y la solución estándar empleando una micropipeta para obtener una mancha lo más pequeña posible (preferentemente con un diámetro mayor de 5 mm o bien en una banda perpendicular al sentido del desarrollo del cromatograma, de 10 a 20 mm de largo y 2 a 6 mm de ancho). La aplicación puede realizarse en porciones sucesivas que permitan acumular la cantidad de material requerido, dejando secar cada vez, antes de efectuar la siguiente aplicación.

Dejar secar las aplicaciones, ubicar la placa en el soporte y colocarla dentro de la cámara, de modo que la fase móvil llegue al borde inferior de la placa. Cerrar la cámara y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartos de la longitud de la placa, o la distancia indicada en la monografía correspondiente. Los cromatogramas requieren para su desarrollo aproximadamente de 15 minutos a 1 hora. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar.

En el caso de que se especifique una cromatografía en capa delgada bidimensional, la placa cromatográfica se somete a una cromatografía en una dirección, se seca y luego se somete a una segunda cromatografía en ángulo recto respecto de la dirección original, generalmente en otra cámara equilibrada con un sistema de solventes diferente.

Examinar la placa empleando el método especificado en la monografía correspondiente.

La sección de la placa que contiene la sustancia o sustancias aisladas también pueden separarse empleando una espátula, eluirse con un solvente apropiado y cuantificarse empleando espectrofotometría o fluorescencia.

Existen además instrumentos de lectura, los densitómetros, que miden la concentración de la sustancia sobre la placa como reflectancia o transmitancia, por absorción de luz o fluorescencia, empleando longitudes de onda entre 190 y 800 nm seleccionadas con filtros o sistemas de difracción. La señal generada puede ser enviada a un registrador gráfico, integrador o una computadora provista de programas apropiados.

CROMATOGRAFÍA DE GASES

La Cromatografía de gases se emplea para la separación de sustancias o mezcla de sustancias volátiles. Pueden emplearse los siguientes sistemas:

Cromatografía gas-líquido: la fase estacionaria puede estar contenida en columnas rellenas o capilares. En las columnas rellenas, la fase líquida se deposita sobre un soporte sólido finamente dividido e inerte en una columna de 1 a 3 m de longitud \times 2 a 4 mm de diámetro interno. Los soportes más comúnmente empleados son tierra de diatomeas, polímeros porosos o carbono grafito. En las columnas capilares, que no contienen soporte, la fase líquida se deposita en la superficie interna de la columna o puede unirse químicamente a ella.

Cromatografía gas-sólido: se emplea como fase estacionaria alúmina, sílice, carbono o resinas porosas poliaromáticas.

Aparato - Consta de:

- Un reservorio de gas transportador constituido por un gas comprimido, como por ej.: helio, nitrógeno, hidrógeno, argón o mezclas (como por ej., 95 % de argón y 5 % de metano) según el tipo de detector y columna empleados.

- Un sistema de inyección constituido por una jeringa o un inyector automático.

Los inyectores pueden ser:

Inyectores de flujo dividido: son inyectores capaces de dividir la muestra en dos fracciones, una pequeña que se introduce en la columna y una grande que se desecha. También pueden emplearse en modo normal sin desechar ninguna porción de la muestra para el análisis de trazas o componentes minoritarios.

Inyectores de purga y trampa: están equipados con un dispositivo por el cual las sustancias volátiles de la solución se capturan en una trampa de baja temperatura. Una vez que se completa el atrapado de las sustancias, se liberan en el gas transportador mediante la calefacción rápida de la trampa, la cual posee un dispositivo programable de temperatura.

Inyectores de espacio libre superior: poseen un sistema de temperatura programable. Las muestras líquidas o sólidas se colocan en envases perfectamente cerrados y se calientan durante un período de tiempo fijo, lo que permite que los componentes volátiles de la muestra alcancen un equilibrio entre las fases no gaseosa y gaseosa (espacio libre superior del envase). Una vez establecido el equilibrio, el inyector introduce automáticamente una cantidad determinada del espacio libre superior del envase en el cromatógrafo de gases.

- Las columnas pueden ser capilares o rellenas. Las columnas capilares, generalmente fabricadas con sílice fundida, poseen un diámetro interno de 0,20 a 0,53 mm (estas últimas también llamadas macrocapilares) y 5 a 60 m de longitud. El espesor

de la fase estacionaria, que a veces se une químicamente a la superficie interna, es de 0,1 a 1,0 mm, aunque para las fases estacionarias no polares puede ser hasta 5 mm.

Las columnas rellenas, de vidrio o metal, poseen un diámetro interno de 2 a 4 mm y 1 a 3 m de largo. Generalmente contienen un polímero poroso sobre soporte sólido o solo soporte sólido.

El tiempo de retención y la eficiencia dependen de la temperatura, del caudal del gas transportador. El tiempo de retención es también directamente proporcional a la longitud de la columna, mientras que la resolución es proporcional a la raíz cuadrada de la longitud de la columna. Para las columnas rellenas, el caudal del gas transportador se expresa generalmente en ml por minuto a presión atmosférica y temperatura ambiente y se mide a la salida del detector con un caudalímetro mientras la columna está a la temperatura de trabajo. Para un caudal determinado, la velocidad lineal a través de una columna rellena es inversamente proporcional al cuadrado del diámetro de la columna. Para las columnas capilares habitualmente se emplea velocidad lineal en lugar de caudal.

- Un detector seleccionado de acuerdo a las características de la muestra. El detector debe mantenerse a una temperatura superior a la de la columna para impedir la condensación de las sustancias eluidas. Para los análisis cuantitativos los detectores deben brindar una respuesta que debe ser directamente proporcional a la cantidad de la sustancia presente en el detector para un intervalo amplio de concentraciones. El detector más comúnmente empleado es el de ionización a la llama pero también son empleados el de conductividad térmica, captura electrónica, nitrógeno-fósforo y espectrometría de masa.

Detector de ionización a la llama: poseen un intervalo lineal, amplio y es sensible a la mayoría de los compuestos orgánicos. La respuesta de los detectores depende de la estructura y la concentración del compuesto y del caudal del gas de combustión, del aire, del gas de compensación y del gas transportador. Cuando se emplean columnas rellenas el gas transportador puede ser helio o nitrógeno y cuando se emplean columnas capilares el gas transportador puede ser helio o hidrógeno, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente.

Detector de conductividad térmica: posee un alambre a una temperatura determinada, colocado en la corriente del gas transportador. Mide la diferencia de conductividad térmica entre el gas transportador junto con la muestra y el gas transportador sólo cuando atraviesan el detector.

Este detector responde en forma uniforme a las sustancias volátiles cualquiera sea su estructura, sin embargo, es considerablemente menos sensible que el detector de ionización a la llama.

Detector de ionización a la llama alcalino: a veces llamado NP o detector de nitrógeno-fósforo, contiene una fuente termoiónica, constituida por una sal de un metal alcalino o un elemento de vidrio que contiene rubidio u otro metal, que produce la ionización de compuestos con nitrógeno y fósforo orgánicos. Es un detector selectivo que muestra poca respuesta a los hidrocarburos.

Detector de captura electrónica: contiene una fuente de radiación ionizante. Presenta una respuesta sumamente alta con sustancias que contienen halógenos y grupos nitro pero pequeña con hidrocarburos. La sensibilidad aumenta con el número y peso atómico de los átomos de halógeno.

- Un registrador que recibe la señal del detector y calcula las respuestas de los picos e imprime el cromatograma con los parámetros del cromatograma y los picos. Los datos obtenidos pueden almacenarse y reprocesarse, con cambios en la integración y otras variables de cálculo según sea necesario.

Los datos también pueden recolectarse para ser medidos manualmente en registradores sencillos o en integradores que pueden calcular respuestas de picos o que producen cromatogramas con respuestas y alturas de los picos y permiten el almacenamiento de datos para un posible reprocesado.

Procedimiento - Acondicionar la columna, el inyector y el detector. Preparar las soluciones estándar y muestra según se especifica en la monografía correspondiente.

Calibrar el aparato con las soluciones estándar y determinar las cantidades a inyectar para obtener una respuesta apropiada.

Inyectar por separado las soluciones estándar y muestra, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se especifica en la monografía correspondiente.

Una fuente importante de error es la de irreproducibilidad en la cantidad de muestra inyectada, en particular cuando se hacen inyecciones manuales con una jeringa. Para reducir esta variabilidad, se agrega un estándar interno, compuesto que no interfiere en el cromatograma, en la misma concentración en las soluciones muestra y estándar. El cociente entre la respuesta de la sustancia ensayada y la respuesta del estándar interno se compara de un cromatograma a otro. El estándar interno debe ser sometido a todo el proceso de preparación de la muestra, para controlar además otros aspectos del análisis cuantitativo. Los

inyectores automáticos mejoran la reproducibilidad de las inyecciones y reducen la necesidad del estándar interno.

A partir de los resultados obtenidos calcular el contenido de la o las sustancias a ensayar.

CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA EFICACIA

La Cromatografía de líquidos de alta eficacia, CLAE, (comúnmente llamada HPLC en inglés), es denominada también Cromatografía líquida de alta resolución o rendimiento. La Cromatografía líquida de alta eficacia tiene la ventaja de que las separaciones pueden tener lugar a temperatura ambiente para muchas sustancias. Por lo tanto, las sustancias no volátiles o térmicamente inestables, pueden cromatografiarse sin descomposición o necesidad de hacer derivados volátiles.

La afinidad de una sustancia por la fase estacionaria y, por consiguiente, su tiempo de retención en la columna, se controla variando la polaridad de la fase móvil mediante el agregado de un segundo y, a veces, un tercer o hasta un cuarto componente.

Aparato - Consta de:

- Un reservorio de fase móvil.
- Un sistema de bombeo que impulsa cantidades exactas de fase móvil desde el *Reservorio de fase móvil* a la columna mediante tuberías y uniones aptas para soportar altas presiones. Los sistemas modernos constan de una o varias bombas dosificadoras, controladas por computadora, que pueden programarse para variar la composición de la fase móvil cuando se trabaja con gradiente o para mezclar los componentes de la fase móvil cuando se trabaja en condiciones isocráticas. Generalmente se trabaja con gradiente cuando la muestra es muy compleja o contiene sustancias que difieren mucho en su factor de capacidad.

Las bombas pueden dar origen a caudales de hasta 10 ml por minuto y generar presiones de hasta 6.000 psi. Sin embargo, los caudales típicos son de 1 a 2 ml por minuto, con presiones no mayores a 2.000 ó 2.500 psi. Las bombas empleadas para el análisis cuantitativo son de material resistente tanto al ataque químico como al ataque mecánico y son capaces de entregar la fase móvil a una velocidad constante, con fluctuaciones mínimas, durante períodos prolongados.

- Un sistema de inyección empleado para introducir la muestra.
- Una columna donde se produce la separación efectiva de los componentes de la muestra inyectada.

Las fases estacionarias para la cromatografía de líquidos en fase reversa constan de una fase orgánica químicamente unida a sílice u otros materiales. Las partículas son generalmente de 3 a 10 μm de diámetro pero los tamaños pueden llegar hasta 50 μm o más para las columnas preparativas. Las partículas recubiertas con una capa delgada de fase orgánica tienen una baja resistencia a la transferencia de masa y, por lo tanto, se obtiene una transferencia rápida de las sustancias entre la fase estacionaria y la fase móvil. La polaridad de la fase estacionaria depende de la polaridad de sus grupos funcionales que van desde el octadecilsilano relativamente no polar a grupos nitrilo muy polares.

Por lo general, las columnas empleadas para las separaciones analíticas tienen diámetros internos de 2 a 5 mm; para la cromatografía preparativa se emplean columnas de diámetro mayor. En algunos casos las columnas pueden calentarse para mejorar la eficiencia durante la separación, pero rara vez se las emplea a temperaturas por encima de los 60 °C, debido a la potencial degradación de la fase estacionaria o a la volatilidad de la fase móvil. Las columnas se emplean a temperatura ambiente, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente.

- Un detector. Se emplean generalmente:

Detector espectrofotométrico: consta de una celda de flujo colocada a la salida de la columna. Un haz de radiación ultravioleta pasa a través de la celda de flujo en forma perpendicular a la dirección del flujo de la fase móvil e incide en el fotodetector. A medida que las sustancias eluyen de la columna, pasan a través de la celda y absorben la radiación, lo que da lugar a cambios cuantificables en el nivel de energía. Este detector es el más empleado.

Existen detectores de longitud de onda fija, variable y múltiple. Los detectores de longitud de onda fija operan a una sola longitud de onda, en general 254 nm, emitida por una lámpara de mercurio de baja presión. Los detectores de longitud de onda variable contienen una fuente continua, como una lámpara de deuterio o de xenón de alta presión y un monocromador o un filtro de interferencia que generan una radiación monocromática a una longitud de onda seleccionada por el analista. Los detectores de longitud de onda variable pueden programarse para variar la longitud de onda durante el análisis. Los detectores de longitud de onda múltiple miden la absorbancia a dos o más longitudes de onda simultáneamente.

Detectores por arreglo de diodos: el haz de luz continua atraviesa la celda. Luego la radiación es resuelta en sus longitudes de onda constitutivas que son detectadas individualmente mediante el arreglo de diodos. Estos detectores adquieren los datos de

absorbancia sobre el intervalo total UV-visible y, por lo tanto, proveen al analista varias longitudes de onda seleccionadas y espectros de los picos eluidos. Los arreglos de diodos tienen, por lo general, menor relación señal-ruido que los detectores de longitud de onda fija o variable y, por lo tanto, son menos apropiados para el análisis de sustancias presentes en bajas concentraciones.

Detectores de índice de refracción: miden la diferencia entre el índice de refracción de la fase móvil sola y el de la fase móvil que contiene las sustancias cromatografiadas según eluyan de la columna. Se emplean para detectar sustancias que no absorben radiación ultravioleta, pero son menos sensibles que los detectores ultravioleta. Son sensibles a pequeños cambios en la composición del solvente, el caudal y la temperatura, por ello se emplea una celda de referencia que contiene la fase móvil para obtener una línea de base satisfactoria.

Detectores fluorométricos: son sensibles a las sustancias fluorescentes o que puedan convertirse en derivados fluorescentes, ya sea mediante la transformación química de la sustancia o acoplando reactivos fluorescentes en grupos funcionales específicos.

Detectores electroquímicos, potenciométricos, voltamétricos o polarográficos: son útiles para la cuantificación de sustancias que pueden oxidarse o reducirse en un electrodo de trabajo. Estos detectores son selectivos, sensibles y confiables pero las fases móviles deben estar libres de oxígeno disuelto o iones metálicos oxidantes. Debe emplearse una bomba sin pulso y el pH, la fuerza iónica y la temperatura de la fase móvil deben permanecer constantes. Los electrodos de trabajo son propensos a la contaminación por los productos de reacción con las consiguientes variaciones en las respuestas. Los detectores electroquímicos con electrodos de pasta de carbono pueden emplearse ventajosamente para medir cantidades muy pequeñas, del orden de los ng de sustancias fácilmente oxidables en particular fenoles y catecoles.

-Un registrador que recibe la información del detector y realiza la impresión del cromatograma. Los dispositivos modernos almacenan la señal de salida del detector permitiendo reprocesar el cromatograma luego de cambiar las variables de integración. También pueden emplearse para programar el cromatógrafo controlando la mayoría de las variables y automatizando el proceso.

Procedimiento - La composición de la fase móvil influye significativamente en la resolución de las sustancias en la muestra. [NOTA: deben

emplearse solventes de grado HPLC y reactivos de alta pureza].

Equilibrar la columna con la fase móvil y preparar las soluciones estándar y muestra según se especifique en la monografía correspondiente. Las soluciones deben ser filtradas.

Adecuar el sistema cromatográfico según se especifica en la monografía correspondiente.

Inyectar por separado las soluciones estándar y muestra, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se especifique en la monografía correspondiente.

A partir de los valores obtenidos calcular el contenido de la o las sustancias a ensayar.

Los métodos generalmente empleados son los de estándar externo y estándar interno. En general se obtienen resultados confiables por los sistemas de estándar externo, especialmente cuando se emplean inyectores automáticos. Este método compara directamente la respuesta obtenida cromatografiando separadamente soluciones estándar y muestra. En otros casos se obtienen mejores resultados empleando el sistema de estándar interno. En este caso se agrega una cantidad conocida de una sustancia no interferente, el estándar interno, a las soluciones muestra y estándar. Luego se compara la relación de respuesta estándar/estándar interno y muestra/estándar interno.

CROMATOGRAFÍA DE EXCLUSIÓN

En la Cromatografía de exclusión las sustancias presentes en la muestra se separan de acuerdo a su tamaño. Los compuestos cuyas dimensiones sean mayores que el tamaño de poro de la fase estacionaria atraviesan la columna sin ser retenidos y eluyen al volumen de exclusión V_O (volumen muerto). Los compuestos cuyas dimensiones sean menores que el tamaño de poro de la fase estacionaria se introducen en los poros, quedan retenidos por más tiempo y eluyen al volumen total de permeación V_T (cuanto menor sea dicho tamaño más tiempo quedan retenidos en los poros y viceversa).

La Cromatografía de exclusión se puede dividir en Cromatografía de permeación de geles que emplea fases móviles orgánicas no polares y rellenos hidrofílicos y Cromatografía por filtración de geles que emplea fases móviles acuosas y rellenos hidrofóbicos.

Aparato - Emplear el cromatógrafo descrito en *Cromatografía de líquidos de alta eficacia*.

- Columna. [NOTA: si fuera necesario, controlar la temperatura de la columna].

El material de relleno puede ser un soporte blando, como por ej., un gel o un soporte rígido,

como por ej., vidrio, sílica o un polímero orgánico entrecruzado compatible con la fase móvil.

- Detector. Generalmente los detectores se basan en propiedades luminiscentes, refractarias o fotométricas (ver *Detectores en Cromatografía de líquidos de alta eficacia*). [NOTA: si fuera necesario, se puede conectar a un colector automático de fracciones].

Procedimiento - Rellenar la columna según se especifica en la monografía correspondiente. Las características de elusión de un compuesto en un sistema cromatográfico determinado se puede describir por el coeficiente de distribución, K_D , el cual se calcula por la fórmula siguiente:

$$(V_I - V_O)/(V_T - V_O)$$

en la cual V_O es el volumen de retención para la sustancia no retenida, V_T es el volumen de retención para la sustancia que tiene acceso total a todos los poros del material de relleno y V_I es el volumen de retención para la sustancia a ensayar. Medir cada volumen de retención desde el momento de la aplicación hasta el momento de cada pico máximo en particular.

Determinación de la composición relativa de cada componente en la mezcla - Proceder para la separación según se especifica en la monografía correspondiente. Medir las respuestas de los picos principales. Si todos los componentes de la muestra poseen propiedades fisicoquímicas equivalentes, como por ej., la absortividad, calcular la cantidad relativa de cada componente dividiendo la respuesta del pico respectivo por la suma de las respuestas de los picos de todas las sustancias de ensayo. Si los componentes de la muestra no poseen propiedades fisicoquímicas equivalentes calcular el contenido empleando curvas de calibración obtenidas según se especifica en la monografía correspondiente.

Determinación de pesos moleculares - Determinar los pesos moleculares de los componentes de la muestra comparando con los estándar de calibración especificados en las monografías correspondientes. Graficar los volúmenes de retención de los estándar de calibración en función del logaritmo de sus pesos moleculares. Trazar la línea recta que mejor se ajuste a los puntos graficados dentro de los límites de exclusión total y de permeación total. Los pesos moleculares de los componentes de la muestra se estiman a partir de la curva de calibración.

Determinación de la distribución de pesos moleculares en polímeros - Proceder según se especifica en las monografías correspondientes.

INTERPRETACIÓN DE LOS CROMATOGRAMAS

En la *Figura 1* se representa una separación cromatográfica típica de dos sustancias; 1 y 2, donde t_1 y t_2 son los tiempos de retención, respectivamente; h , $h/2$ y $W_{h/2}$ son la altura, la mitad de la altura y el ancho a la mitad de la altura, respectivamente, para el pico 1; W_1 y W_2 son los anchos de los picos 1 y 2 en la línea de base, respectivamente.

La coincidencia de los tiempos de retención de una muestra y una *Sustancia de referencia* en un único sistema cromatográfico puede emplearse como una característica en la construcción de un perfil de identidad, pero es insuficiente para establecer la identidad. Los tiempos de retención absolutos de un compuesto dado varían de un cromatograma al próximo.

[NOTA: en las siguientes fórmulas, tanto los volúmenes de retención como las separaciones lineales son directamente proporcionales al tiempo de retención y pueden sustituirse en las fórmulas]. Normalmente las comparaciones se hacen en función de la retención relativa, α , que se calcula por la fórmula siguiente:

$$\alpha = \frac{(t_2 - t_0)}{(t_1 - t_0)}$$

en la cual t_2 y t_1 son los tiempos de retención de la muestra y del estándar respectivamente, medidos desde el punto de inyección, en condiciones experimentales idénticas en la misma columna y t_0 es el tiempo de retención de una sustancia no retenida, como por ej., metano en el caso de la cromatografía de gases.

El número de platos teóricos N , es una medida de la eficiencia de la columna. Para los picos gaussianos, se calcula por la fórmula siguiente:

$$N = 16 \left(\frac{t}{W} \right)^2$$

$$N = 5,54 \left(\frac{t'}{W_{1/2}} \right)^2$$

en la cual t es el tiempo de retención de la sustancia, W es el ancho del pico en su base, obtenido al extrapolar los lados del pico con la línea de base y t' es la diferencia entre el tiempo de retención de la sustancia y el tiempo de elusión de una sustancia que no es retenida (tiempo muerto). El ancho

máximo a media altura, $W_{1/2}$, es obtenido directamente por integradores electrónicos.

El valor de N depende de la sustancia cromatografiada, así como de las condiciones operativas, como por ej., la fase móvil, el caudal del gas transportador, la temperatura, la calidad y uniformidad de la fase estacionaria y, para las columnas capilares, el espesor de la película de fase estacionaria, el diámetro y la longitud de la columna.

Para la separación de dos sustancias en una mezcla, la resolución, R , es determinada por la fórmula siguiente:

$$R = \frac{t_2 - t_1}{1/2(W_2 + W_1)}$$

en la cual t_2 y t_1 son los tiempos de retención de los dos componentes y W_2 y W_1 son los anchos de la base de los picos correspondientes, obtenidos al extrapolar los lados con la línea de base.

La respuesta y la altura del pico son generalmente proporcionales a la cantidad de sustancia eluida. En general se miden las respuestas de los picos, sin embargo, la medición de las alturas pueden ser más exactas que la respuesta cuando se consideran picos parcialmente superpuestos.

El ensayo de pureza cromatográfica de una materia prima se basa en la determinación de picos de impurezas y se expresa como un porcentaje de la

respuesta del pico de la sustancia. Es preferible, sin embargo, comparar los picos de impurezas con el cromatograma de un estándar a una concentración similar. El estándar puede ser la misma sustancia a un nivel que corresponde, como por ej., 0,5% de impureza, o en el caso de las impurezas tóxicas o de impurezas indicadoras, un estándar de la impureza misma.

El factor de capacidad k' , está relacionado con el coeficiente de distribución de la sustancia a ensayar entre ambas fases. El factor de capacidad depende de la naturaleza química de la sustancia; del área, naturaleza y cantidad de fase estacionaria; de la temperatura de la columna y del caudal de la fase móvil. Cada sustancia tiene un factor de capacidad característico para un conjunto específico de condiciones experimentales. La separación cromatográfica sólo se produce si las sustancias involucradas poseen diferentes factores de capacidad. El factor de capacidad se calcula por la fórmula siguiente:

$$k' = \frac{(t_n - t_0)}{t_0}$$

en la cual t_n es el tiempo requerido para que la sustancia a ensayar eluya a través de la columna (tiempo de retención) y t_0 es el tiempo de elusión de una sustancia que no es retenida (tiempo muerto).

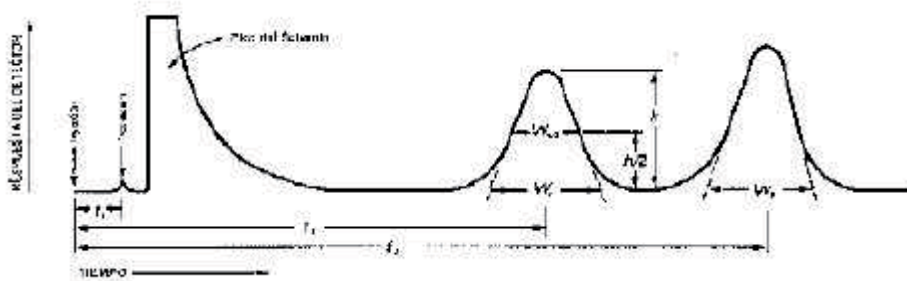


Figura 1. Separación cromatográfica de dos sustancias.

APTITUD DEL SISTEMA

Los ensayos de aptitud del sistema forman parte de los métodos cromatográficos líquido y de gases. Se emplean para comprobar que la resolución y la reproducibilidad del sistema cromatográfico son

aptas para realizar el ensayo. Para estos ensayos se considera que el equipo, las operaciones analíticas y las muestras a ensayar constituyen un sistema único que puede evaluarse como tal.

Los parámetros de aptitud del sistema se determinan para el pico de la sustancia, a menos

que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente.

Si es necesario, pueden realizarse ajustes en las condiciones operativas para cumplir con los requisitos de aptitud del sistema, entre ellos, las proporciones de los componentes de la fase móvil y el caudal.

La resolución R , es una función de la eficiencia de la columna N , y se especifica para asegurar que las sustancias que eluyan muy cercanas se resuelvan entre sí y para asegurar que los estándares internos se resuelvan de las sustancias a ensayar. La eficiencia de la columna puede especificarse también como un requisito de aptitud del sistema, especialmente si hay un solo pico de interés en el cromatograma, sin embargo, el valor aislado de eficiencia no puede asegurar la resolución para el sistema en estudio. La eficiencia de la columna es una medida de la agudeza de los picos, importante para detectar componentes en baja concentración.

Para evaluar si se cumplen los requisitos de aptitud del sistema se realizan inyecciones repetidas de la *Preparación estándar* empleada en la *Valoración* u otra *Solución estándar*. A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, para calcular la desviación estándar relativa, S_R , se emplean los datos de cinco inyecciones repetidas del estándar si el requisito es 2,0 % o menor, y seis inyecciones repetidas si el

requisito de la desviación estándar relativa es mayor de 2,0 %. La desviación estándar relativa S_R , se calcula según la fórmula siguiente:

$$S_R = \frac{100}{\bar{X}} \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{X})^2}{n-1}}$$

El factor de asimetría F , una medida de la simetría del pico, es 1 para los picos perfectamente simétricos y su valor aumenta a medida que la asimetría es más pronunciada (ver *Figura 2*). En algunos casos, pueden observarse valores menores de la unidad. Como consecuencia de la asimetría del pico, la integración y la precisión se tornan menos confiables.

El factor de asimetría se calcula por la fórmula siguiente:

$$F = \frac{W_{0,05}}{2f}$$

en la cual $W_{0,05}$ es el ancho del pico al 5 % de altura y f es la distancia entre el borde simétrico del pico y el centro del mismo medida al 5 % de la altura.

Estos datos se obtienen a partir de inyecciones repetidas del estándar u otras soluciones según se especifique en la monografía correspondiente.

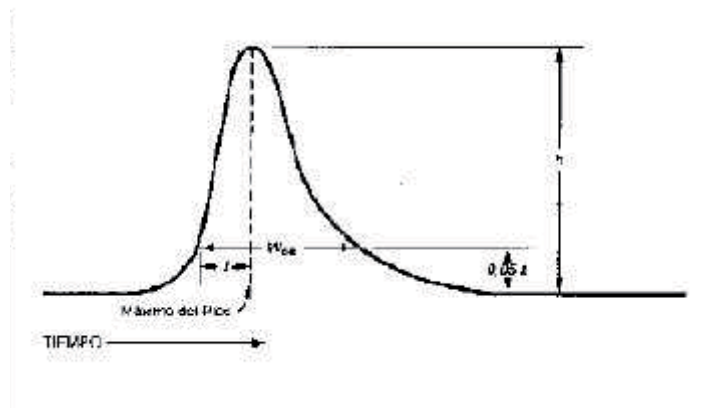


Figura 2. Pico cromatográfico asimétrico

110. DETERMINACIÓN DE AFLATOXINAS

Precauciones - Las aflatoxinas son sustancias carcinogénicas. Se debe trabajar bajo campana, evitar la inhalación, el contacto con la piel y en lo posible no abrir los envases originales hasta que se realice la disolución.

[NOTA: para descontaminar el material empleado, sumergirlo en solución de hipoclorito de sodio al 2 %, dejar actuar durante 18 horas como mínimo, agregar acetona al 5 %, dejar actuar durante 30 minutos y lavar con agua].

Método I Determinación de aflatoxinas por cromatografía en capa delgada

Este método se emplea para detectar aflatoxinas en drogas vegetales destinadas a la elaboración de infusiones, cocimientos y todos aquellos productos que sufren un tratamiento térmico antes de la administración.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo y acetona (9:1).

Solución reguladora de fosfato pH 7,4 - Transferir 1,0 g de cloruro de potasio, 1,0 g de fosfato monobásico de potasio, 5,8 g de fosfato dibásico de sodio anhidro y 40,0 g de cloruro de sodio a un matraz aforado de 5 litros. Agregar aproximadamente 4,5 litros de agua y disolver. Ajustar a pH 7,4 empleando ácido clorhídrico o hidróxido de sodio, según sea necesario. Diluir a volumen con agua y ajustar nuevamente el pH.

Soluciones madre del estándar - Disolver el contenido del envase de cada aflatoxina en una mezcla de benceno y acetonitrilo (98:2). Diluir cuantitativamente y en etapas con el mismo solvente hasta obtener soluciones con una concentración de 8 a 10 µg por ml de cada aflatoxina. Agitar vigorosamente la solución durante 1 minuto. Determinar la absorbancia de cada solución a 350 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando una mezcla de benceno y acetonitrilo (98:2) como blanco. Calcular la concentración de la respectiva aflatoxina, en mg por ml, por la fórmula siguiente:

$$1000 AP/\varepsilon$$

en la cual P es el peso molecular asignado de la aflatoxina correspondiente y ε es la absorptividad molar para cada aflatoxina en la mezcla de benceno y acetonitrilo (98:2). Los valores de P y ε se encuentran en la *Tabla 1*.

[NOTA: almacenar las aflatoxinas en el envase original a -20°C . Las *Soluciones madre del estándar* de cada aflatoxina deben llevarse a sequedad bajo atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente o en estufa de vacío a 60°C . Preservar las toxinas así obtenidas en un envase con cierre hermético-protegido de la luz a -20°C . Estas soluciones son estables por 1 año o más].

Tabla 1.

Aflatoxina	P	ε
B ₁	312	19.800
B ₂	314	20.900
G ₁	328	17.100
G ₂	330	18.200

Solución estándar - Transferir alícuotas de cada una de las *Soluciones madre del estándar* valoradas, a un envase de 3 ml de vidrio inactivo, agregar cantidad suficiente de una mezcla de benceno y acetonitrilo (98:2) para preparar una solución que contenga 1 mg por ml de B₁, 0,5 mg por ml de B₂, 1 mg por ml de G₁ y 0,5 mg por ml de G₂.

Columna cromatográfica - Emplear una columna cromatográfica de inmunoafinidad con anticuerpos monoclonales específicos para aflatoxinas.

Solvente de extracción - Disolver 5 g de cloruro de sodio en 200 ml de una mezcla de metanol y agua (70:30).

Solución muestra - Transferir 25 g de la muestra, previamente molida y tamizada con tamiz N° 20, exactamente pesados, a un erlenmeyer de 500 ml. Agregar cantidad suficiente de *Solvente de extracción* para que toda la muestra quede embebida. Agitar 1 hora en un agitador mecánico o 5 minutos en licuadora a alta velocidad. Filtrar y recolectar el filtrado en un erlenmeyer de 250 ml. Transferir 80 ml del extracto, exactamente medidos, a un erlenmeyer de 250 ml, agregar 160 ml de *Solución reguladora de fosfato pH 7,4*. Agitar y filtrar a través de una membrana filtrante de porosidad entre 0,8 y 1,6 µm. Aplicar 120 ml del filtrado (equivalente a 5 g de muestra) a través de la *Columna cromatográfica*, asegurando un caudal de 1 ó 2 gotas por segundo y cuidando que la columna no se seque. Lavar la columna con 20 ml de *Solución reguladora de fosfato pH 7,4* y secar haciendo pasar aire a través de la misma con una jeringa vacía. Descartar el líquido de lavado. Eluir las aflatoxinas adsorbidas en la columna lentamente por acción de la gravedad con 2 ml de

metanol. Recolectar todo el eluido en un balón de 25 ml con un pequeño reservorio en el fondo. Llevar a sequedad en un evaporador rotatorio a 60 °C. Disolver el residuo en 100 µl de una mezcla de benceno y acetonitrilo (98:2).

Solución del estándar interno - Mezclar 10 µl de la muestra con 4 µl de la *Solución estándar*.

Revelador - Solución de ácido sulfúrico al 30 % v/v.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de la *Solución muestra*, 2; 4; y 6 µl de la *Solución estándar* y 10 µl de la *Solución del estándar interno*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 11 cm. Retirar la placa de la cámara y marcar el frente del solvente. Secar la placa al aire protegida de la luz. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 360 nm: las aflatoxinas B₁ y B₂ aparecen como manchas azules y las G₁ y G₂ como manchas verdes. Los valores de R_f son aproximadamente: 0,4 para G₂, 0,5 para G₁, 0,6 para B₂ y 0,7 para B₁. Para confirmar pulverizar sobre la placa con *Revelador*. Dejar secar a la oscuridad y observar bajo luz ultravioleta a 360 nm: las cuatro aflatoxinas se observan como manchas amarillas. Calcular la concentración de cada aflatoxina, en µg por kg, en la porción de muestra tomada, por la fórmula siguiente:

$$(PCV)/Sm$$

en la cual *P* es el volumen, en µl, de *Solución estándar sembrado*, *C* es la concentración de aflatoxina en la *Solución estándar* (B₁ y G₁ 1 µg por ml y B₂ y G₂ 0,5 µg por ml), *V* es el volumen, en µl, de la dilución final del residuo, *S* es el volumen de *Solución muestra sembrado* y *m* es el peso del residuo en g.

Soluciones estándar diluidas	Alícuota (µl)	Concentración de aflatoxinas (µl por ml)			
		B ₁	B ₂	G ₁	G ₂
A	270	81	13,5	40,5	13,5
B	180	4,5	9	27	9,
C	90	27	4,5	13,5	

[NOTA: a partir de la *Tabla 2* preparar al menos cinco *Soluciones estándar diluidas* incluyendo una solución cuya concentración represente el límite de detección del sistema cromatográfico empleado].

Columna cromatográfica - Proceder según se especifica en *Método I*.

Solvente de extracción - Proceder según se especifica en *Método I*.

Método II

Determinación de aflatoxinas por cromatografía líquida

Este método se emplea para determinar aflatoxinas en formas farmacéuticas de uso oral y tópica sin tratamiento térmico antes de la administración.

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos equipado con un detector de fluorescencia capaz de proveer una excitación de 360 nm y una emisión de 440 nm y una columna 15 cm x 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice porosa de 5 µm de diámetro. Mantener la columna a aproximadamente 30 °C. El caudal es de aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, acetonitrilo y metanol (40:10:10) filtrado y desgasificado. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Solución madre del estándar - Proceder según se indica en *Método I*.

Solución estándar - Transferir alícuotas de cada una de las *Soluciones madre del estándar* valoradas a matraces apropiados y preparar una solución concentrada que contenga 300 ng por ml de B₁, 50 ng por ml de B₂, 150 ng por ml de G₁ y 50 ng por ml de G₂ empleando una mezcla de benceno y acetonitrilo (98:2). Evaporar a sequedad en estufa de vacío a 60 °C y diluir el residuo con 1 ml de acetonitrilo. Transferir las alícuotas indicadas en la *Tabla 2* de esta solución a matraces aforados de 10 ml, llevar a volumen con acetonitrilo para obtener las soluciones indicadas en la *Tabla 2*.

Solución de derivatización - Mezclar 10 ml de ácido trifluoroacético con 5 ml de ácido acético glacial y 35 ml de agua bidestilada (este volumen es suficiente para realizar 70 derivatizaciones).

Solución muestra - Transferir 25 g de muestra previamente homogeneizada y molida (tamiz N° 20), exactamente pesados, a un erlenmeyer de 500 ml. Agregar cantidad suficiente de *Solvente de*

extracción para que toda la muestra quede embebida. Agitar 1 hora en un agitador mecánico o 5 minutos en licuadora a alta velocidad. Filtrar y recolectar el filtrado en un erlenmeyer de 250 ml. Transferir 16 ml del extracto a un erlenmeyer de 125 ml, agregar 32 ml de *Solución reguladora de fosfato pH 7,4*. Agitar y filtrar a través de una membrana filtrante de porosidad de 0,8 a 1,6 μm . Aplicar 24 ml del filtrado a través de la *Columna cromatográfica* asegurando un caudal de 1 ó 2 gotas por segundo y cuidando que la columna no se seque. Lavar la columna con 20 ml de agua y secar haciendo pasar aire a través de la misma con una jeringa vacía. Descartar el líquido de lavado. Eluir las aflatoxinas adsorbidas en la columna lentamente por acción de la gravedad con 2 ml de metanol. Recolectar todo el eluido en un envase de 5 ml de vidrio inactínico. Llevar a sequedad en estufa de vacío a 55 °C. Disolver el extracto con 200 μl de acetonitrilo, agitar vigorosamente y agregar 700 μl de *Solución de derivatización*. Cerrar el envase y mezclar. Calentar a 65 °C durante no menos de 8,5 minutos [NOTA: este tiempo es necesario para una completa derivatización de aflatoxina B₁ (B_{2a}) y G₁ (G_{2a})]. Dejar enfriar a temperatura ambiente antes de abrir el envase.

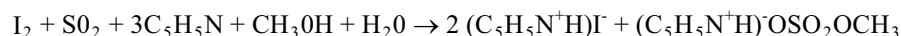
Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo 50 μl de cada *Solución estándar diluida*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Graficar las respuestas de los picos en función de la concentración de aflatoxinas, en μg por ml, para cada aflatoxina. Trazar la recta que mejor se ajuste a los puntos marcados. Inyectar en el cromatógrafo 50 μl de la *Solución muestra*, registrar el cromatograma y medir la respuesta de los picos. B_{2a}, G₂ y B₂ son aproximadamente 6, 8 ,9 y 11 minutos, respectivamente. Calcular la concentración de las aflatoxinas presentes en la *Solución muestra* empleando el gráfico de respuesta en función de la concentración, obtenido a partir de las *Soluciones estándar diluidas*.

120. DETERMINACIÓN DE AGUA

A continuación se describen los métodos empleados en esta Farmacopea para la determinación de agua. Estos métodos se basan en la reacción de Karl Fischer y en la destilación azeotrópica con tolueno.

DETERMINACION DE AGUA POR EL METODO DE KARL FISCHER

La determinación de agua por el método de Karl Fischer se basa en la reacción cuantitativa entre el agua y un reactivo constituido por dióxido

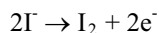


Existen dos métodos diferentes basados en la reacción con el yodo: uno es la titulación volumétrica y el otro es un método de titulación coulombimétrica. En el primero, el yodo se disuelve en el reactivo y el contenido de agua es determinado midiendo la cantidad de yodo consumido como resultado de la reacción con el

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente emplear el método de titulación volumétrica directa por el método de Karl Fischer.

de azufre y yodo en presencia de metanol y una base orgánica como la piridina, según la siguiente ecuación:

agua. En el otro, el yodo es producido por la electrólisis de un reactivo de Karl Fischer que contiene al ion yoduro. El contenido de agua en una muestra puede ser determinado midiendo la cantidad de electricidad que se requiere para la producción de yodo durante la titulación.



Titulación volumétrica directa

Aparato - Consta de buretas automáticas, un frasco de titulación, un agitador y un equipo para titulaciones amperométricas a voltaje constante o titulaciones potenciométricas a corriente constante.

Dado que el reactivo de Karl Fischer es sumamente higroscópico, el aparato debe diseñarse de manera que no absorba humedad del ambiente. Para proteger el reactivo de la humedad se emplean además desecantes, como por ej., cloruro de calcio anhidro o gel de sílice.

Reactivo - El reactivo de Karl Fischer puede prepararse por cualquiera de los métodos indicados a continuación. También pueden emplearse reactivos comerciales. [NOTA: el cloroformo y el metanol empleados para la preparación del reactivo deben tener un contenido de agua inferior a 0,1 mg por ml. El metilcellosolve y el éter monometílico dietilenglicol deben tener un contenido de agua inferior a 0,3 mg por ml].

Método a - Disolver 63 g de yodo en 100 ml de piridina, con un contenido de agua inferior a 1 mg por ml, enfriar la solución en baño de hielo y hacer pasar dióxido de azufre seco a través de esta solución hasta que el aumento de peso sea de 32 g. Llevar a 500 ml agregando cloroformo o metanol y dejar en reposo durante no menos de 24 horas antes de usar.

Método b - Disolver 102 g de imidazol, con un contenido de agua inferior a 0,1 %, en 350 ml de metilcellosolve o éter monometílico dietilenglicol, enfriar la solución en baño de hielo y hacer pasar dióxido de azufre seco a través de esta solución hasta que el aumento de peso sea de 64 g, manteniendo la temperatura entre 25 y 30 °C. Disolver 50 g de yodo en esta solución y dejar en reposo durante no menos de 24 horas antes de usar.

Método c - Hacer pasar dióxido de azufre a través de 150 ml de metilcellosolve hasta que el aumento de peso sea de 32 g. A esta solución, previamente enfriada en un baño de hielo, agregar 250 ml de metilcellosolve o cloroformo que contiene 81 g de 2-metilaminopiridina, con un contenido de agua inferior a 1 mg por ml. Disolver 36 g de yodo en esta solución y dejar en reposo durante no menos de 24 horas antes de usar.

El reactivo de Karl Fischer, preparado por cualquiera de estos métodos, debe estandarizarse antes de cada uso, porque su actividad para la determinación de agua cambia con el tiempo. Almacenar el reactivo en un sitio frío, protegido de la luz y la humedad.

Estandarización del reactivo - Transferir una cantidad apropiada de metanol al frasco de titulación seco y titular el solvente con reactivo de Karl Fischer hasta alcanzar el punto final. Luego

agregar rápidamente 30 mg de agua, exactamente pesados, a la solución en el frasco y titular el agua con el reactivo de Karl Fischer, con agitación enérgica, hasta alcanzar el punto final. Calcular el factor de equivalencia, f , correspondiente a la cantidad de agua, en mg, por ml de reactivo, por la fórmula siguiente:

$$f = P/V$$

en la cual P es la cantidad de agua tomada, en mg, y V es el volumen de reactivo de Karl Fischer, en ml, consumido para la titulación del agua.

Para la determinación de cantidades de agua menores a 1 %, el reactivo puede estandarizarse con tartrato de sodio según se indica a continuación. Transferir una cantidad apropiada de metanol al frasco de titulación seco y titular el solvente con reactivo de Karl Fischer hasta alcanzar el punto final. Agregar rápidamente 150 a 350 mg de tartrato de sodio ($C_4H_4Na_2O_6 \cdot 2H_2O$) exactamente pesados, y titular hasta alcanzar el punto final. Calcular el factor de equivalencia, f , correspondiente a la cantidad de agua, en mg, por ml de reactivo, por la fórmula siguiente:

$$f = 2(18,02/230,08)(P/V)$$

en la cual 18,02 y 230,08 son los pesos moleculares del agua y del tartrato de sodio dihidratado, respectivamente, P es el peso, en mg, de tartrato de sodio dihidratado y V es el volumen, en ml, de reactivo consumido para la titulación del agua.

Procedimiento - En general, la titulación de agua con reactivo de Karl Fischer debería llevarse a cabo a la misma temperatura que se hizo la estandarización y evitando la humedad atmosférica. El aparato se equipa con un resistor variable en el circuito y este resistor se manipula para mantener un voltaje constante entre los dos electrodos de platino sumergidos en la solución a ser titulada, midiéndose la variación de intensidad de corriente (titulación amperométrica a voltaje constante). Durante la titulación, la intensidad de corriente en el circuito varía notablemente, pero vuelve al valor original en pocos segundos. Al final de la titulación, la corriente permanece fija en un valor durante un tiempo generalmente mayor a 30 segundos. Este estado se designa como el punto final de la titulación. Adicionalmente, el reactivo de Karl Fischer proporciona un indicador visual del punto final, dado el color característico que produce el exceso de iodo en la solución que se está titulado.

De otra manera, la manipulación del resistor sirve para pasar una corriente definida entre los

dos electrodos de platino, midiéndose la variación de potencial (titulaciones potenciométricas a intensidad constante). Con el progreso de la titulación, el valor indicado por el potenciómetro disminuye repentinamente desde un estado de polarización de varios centenares de mV al estado de no polarización, pero vuelve al valor original en pocos segundos. Al final de la titulación, el estado de no polarización persiste por un tiempo generalmente mayor de 30 segundos. Este estado se designa como el punto final de la titulación.

Transferir una cantidad apropiada de metanol al frasco de titulación seco y titular el solvente con reactivo de Karl Fischer hasta el punto final. Tomar una cantidad de muestra, exactamente pesada, que contenga entre 5 y 30 mg de agua, transferirla rápidamente al frasco de titulación, disolver agitando y titular la solución, con agitación enérgica, hasta alcanzar el punto final.

Si la muestra es insoluble, reducir a polvo fino rápidamente, pesar exactamente una cantidad apropiada de la muestra con un contenido de agua estimado entre 5 y 30 mg y transferirla rápidamente al frasco de titulación. Agitar la mezcla entre 5 y 30 minutos, protegiendo de la humedad, y titular con agitación enérgica.

Aunque el procedimiento de titulación debería llevarse a cabo bajo condiciones de baja humedad, si el efecto de la humedad atmosférica no puede evitarse, como por ej., si se requiere un tiempo largo de extracción y titulación, debe realizarse una titulación con un blanco, bajo las mismas condiciones empleadas para la muestra, y hacer las correcciones necesarias.

Calcular el porcentaje de agua presente en la muestra, por la fórmula siguiente:

$$(Vf/P)100$$

en la cual V es el volumen de reactivo de Karl Fischer, en ml, consumido para la titulación, f es el factor del reactivo de Karl Fischer, en mg de agua por ml de reactivo, y P es la cantidad de muestra, en mg, pesada para la determinación.

Titulación volumétrica por retorno

En la titulación por retorno, se agrega a la muestra un exceso de reactivo, se espera un tiempo suficiente para que la reacción se complete y se titula el exceso de reactivo con una solución estándar de agua en metanol. El procedimiento de titulación por retorno, es generalmente útil y evita las dificultades que pueden encontrarse en la titulación directa de sustancias de las cuales el agua ligada se libera lentamente.

Aparato y reactivo - Ver *Titulación volumétrica directa*.

Solución estándar de agua-metanol - Transferir 500 ml de metanol a un matraz aforado de 1 litro, agregar 2,0 ml de agua y completar a volumen con metanol. Almacenar esta solución en un sitio fresco, protegido de la luz y la humedad.

Estandarizar la *Solución estándar de agua-metanol* según se indica a continuación. Transferir una cantidad apropiada de metanol a un frasco de titulación seco y titular el solvente con reactivo de Karl Fischer hasta alcanzar el punto final. Agregar 10 ml de reactivo de Karl Fischer, exactamente medidos, y titular con *Solución estándar de agua-metanol* hasta el punto final. Calcular la concentración de agua en la solución estándar. f' , en mg por ml, por la fórmula siguiente:

$$f' = f10/V'$$

en la cual f es el factor del reactivo de Karl Fischer empleado en la titulación y V' es el volumen, en ml, de *Solución estándar de agua-metanol* consumido en la titulación.

Procedimiento - Cuando se emplea el método amperométrico a voltaje constante, en la titulación por retorno, la aguja del microamperímetro está fuera de escala durante la presencia de exceso de reactivo y vuelve rápidamente a la posición original cuando el sistema alcanza el punto final.

Cuando se emplea el método potenciométrico a intensidad de corriente constante, en la titulación por retorno, la aguja del milivoltímetro está en la posición original durante la presencia de exceso de reactivo. Finalmente aparece un voltaje definido cuando la titulación alcanza el punto final.

Transferir una cantidad apropiada de metanol al frasco de titulación seco y titular el solvente con reactivo de Karl Fischer hasta alcanzar el punto final. Pesar exactamente una cantidad de muestra con un contenido de agua estimado entre 5 y 30 mg, transferirla rápidamente al frasco de titulación y disolver con agitación. Agregar un exceso, exactamente medido, de reactivo de Karl Fischer y titular la solución con la *Solución estándar de agua-metanol*, con agitación enérgica, hasta el punto final.

En el caso de una muestra insoluble, reducir a polvo fino rápidamente, pesar exactamente una cantidad apropiada, transferir rápidamente al frasco de titulación y agregar un exceso, exactamente medido, de reactivo de Karl Fischer. Después de agitar entre 5 y 30 minutos, evitando

la humedad atmosférica titular con agitación enérgica. Calcular el porcentaje de agua en la muestra, por la fórmula siguiente:

$$[(Vf - V'f')/P]100$$

en la cual V es el volumen de reactivo agregado, en ml, f es el factor del reactivo en mg de agua por ml de reactivo, V' es el volumen, en ml, de la *Solución estándar de agua-metanol* consumido para la titulación, f' es el factor de la *Solución estándar de agua-metanol* y P es el peso, en mg, de muestra.

Titulación Culombimétrica

Aparato - Consta de un frasco de titulación equipado con una celda electrolítica para la producción de iodo, un agitador y un sistema para la titulación potenciométrica a intensidad de corriente constante. El sistema de producción de iodo se compone de un ánodo y un cátodo, separados por un diafragma. El ánodo se sumerge en la solución del anolito para la determinación de agua y el cátodo se sumerge en la solución del catolito para la determinación de agua. Ambos electrodos son generalmente de platino.

Dado que ambas soluciones, el anolito y el catolito, son fuertemente higroscópicas, el sistema de titulación debe protegerse de la humedad atmosférica. Para este fin, puede emplearse cloruro de calcio anhidro o gel de sílice.

Reactivos - Las soluciones electrolíticas pueden prepararse por alguno de los métodos indicados a continuación, también pueden emplearse reactivos comerciales. [NOTA: el cloroformo y el metanol empleados para la preparación del reactivo deben tener un contenido de agua inferior a 0,1 mg por ml. El metilcellosolve y el dietilenglicol monometiléter deben tener un contenido de agua inferior a 0,3 mg por ml].

Método a -

SOLUCION DEL ANOLITO: Disolver 102 g de imidazol en 900 ml de metanol, enfriar la solución en un baño de hielo y hacer pasar dióxido de azufre seco a través de la solución, mantenida a una temperatura inferior a 30 °C, hasta que el aumento de peso sea de 64 g. Disolver con agitación 12 g de iodo, agregar una cantidad apropiada de agua a la solución hasta que el color del líquido vire de marrón a amarillo y diluir a 1 litro con metanol.

SOLUCION DEL CATOLITO: Disolver 24 g de clorhidrato de dietanolamina en 100 ml de metanol.

Método b -

SOLUCION DEL ANOLITO: Disolver 40 g de 1,3-di(4-piridil)propano y 30 g de dietanolamina en aproximadamente 200 ml de metanol y hacer pasar dióxido de azufre seco a través de la solución hasta que el aumento de peso sea de 25 g. Agregar 50 ml de carbonato de propileno y disolver 6 g de yodo en la solución. Agregar metanol para completar a 500 ml y agregar una cantidad apropiada de agua hasta que el color del líquido vire de marrón a amarillo.

SOLUCION DEL CATOLITO: Disolver 30 g de clorhidrato de colina en metanol y diluir a 100 ml con el mismo solvente.

Método c -

SOLUCION DEL ANOLITO: Disolver 100 g de dietanolamina en 900 ml de metanol o en una mezcla de metanol y cloroformo (3:1) y hacer pasar dióxido de azufre seco a través de la solución hasta que el aumento de peso de la solución sea de 64 g. Disolver 20 g de yodo en la solución y agregar una cantidad apropiada de agua hasta que el color del líquido vire de marrón a amarillo.

SOLUCION DEL CATOLITO: Disolver 25 g de cloruro de litio en 1 litro de una mezcla de metanol y nitrometano (4:1).

Procedimiento - Transferir un volumen apropiado de *Solución del anolito* al frasco de titulación, sumergir en esta solución un par de electrodos de platino para titulación potenciométrica a intensidad de corriente constante. Luego sumergir el sistema de producción de yodo lleno de *Solución del catolito* en la *Solución del anolito*. Iniciar el sistema

electrolítico y anhidrizar el contenido del frasco de titulación. Transferir una cantidad, exactamente pesada de muestra, cuyo contenido de agua estimado sea de 0,2 a 5 mg, agregarla rápidamente al frasco de titulación, disolver agitando y titular, con agitación energética; hasta el punto final.

Cuando la muestra no pueda disolverse en la solución del anolito, reducir a polvo fino rápidamente y transferir al frasco de titulación una cantidad, exactamente pesada, cuyo contenido de agua estimado sea de 0,2 a 5 mg. Luego de agitar la mezcla durante 5 a 30 minutos, protegida de la humedad atmosférica, titular con agitación energética. Determinar la cantidad de electricidad (C) [= intensidad de corriente (A) x tiempo (s)] requerida para la producción de yodo durante la titulación y calcular el contenido de agua (%) en la muestra, por la fórmula siguiente:

$$\left[\frac{C}{10,72P} \right] 100$$

en la cual C es la cantidad de electricidad requerida para la producción de yodo, 10,72 es la cantidad de electricidad que corresponde a 1 mg de agua y P es el peso de muestra, en mg.

Aunque el procedimiento de titulación debería llevarse a cabo bajo condiciones de baja humedad, si el efecto de la humedad atmosférica no puede evitarse, como por ej., si se requiere un tiempo largo para la extracción y la titulación del agua, realizar un ensayo con un blanco, bajo las mismas condiciones que la muestra, y hacer las correcciones necesarias.

DETERMINACIÓN DE AGUA POR DESTILACIÓN AZEOTRÓPICA

Este método se basa en la destilación por arrastre con vapor de tolueno, del agua contenida en la muestra de un producto dado bajo condiciones establecidas.

Aparato (ver *Figura*) - Consiste de un balón A de 500 ml, conectado por un tubo D al tubo cilíndrico B adosado a un tubo receptor graduado E y a un refrigerante C por medio de juntas esmeriladas. El tubo receptor E se gradúa en 0,1 ml. La fuente de calor es preferentemente un calentador eléctrico con un reostato para controlar la temperatura o un baño de vaselina.

La porción superior del balón y el tubo conector deben aislarse.

Procedimiento - Lavar el tubo receptor y el refrigerante con agua y secar. Transferir 200 ml

de tolueno y aproximadamente 2,0 ml de agua al balón seco. Destilar durante 2 horas, dejar enfriar durante 30 minutos y leer el volumen de agua. Transferir al balón una cantidad de la muestra, exactamente pesada, cuyo contenido de agua estimado sea de 2 a 3 ml. Si la sustancia tiene una consistencia pastosa, pesarla sobre una pequeña hoja de aluminio. Agregar unos trozos de material poroso y calentar el balón suavemente durante 15 minutos. Cuando el tolueno comienza a hervir, destilar a razón de 2 gotas por segundo hasta que la mayor parte del agua haya destilado, entonces aumentar la velocidad de destilación a 4 gotas por segundo. Cuando el agua haya destilado por completo, lavar el interior del tubo del refrigerante con tolueno. Continuar la destilación durante 5 minutos, retirar la fuente de

calor, dejar enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente y arrastrar el agua que permanezca adherida a las paredes del tubo receptor. Cuando el agua y el tolueno se hayan separado completamente, leer el volumen de agua y calcular el porcentaje presente en la muestra, por la fórmula siguiente:

$$100(V_2 - V_1)/P$$

en la cual P es el peso, en g, de la muestra a ensayar, V_1 es el volumen, en ml, de agua obtenido en la primera destilación y V_2 es el volumen total, en ml, de agua obtenido en las dos destilaciones.

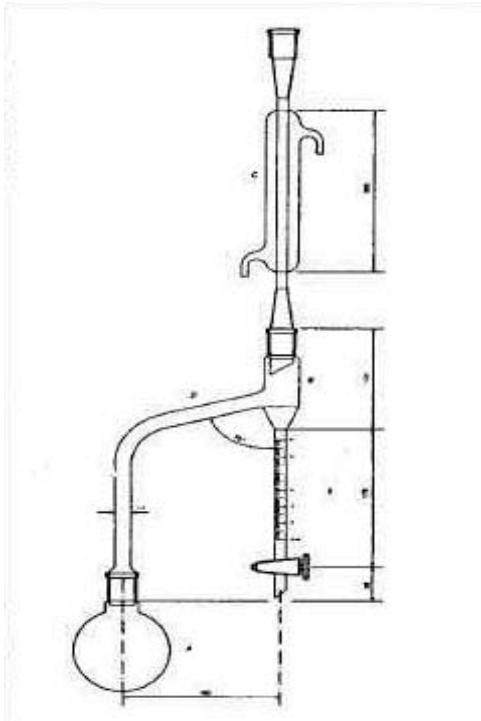


Figura. Aparato para la determinación de agua por destilación azeotrópica.

130. DETERMINACIÓN DE ALCOHOL

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, realizar la determinación de alcohol empleando el *Método I*.

Método I Destilación

Este método es apropiado para la mayoría de los extractos fluidos y tinturas. En todas las manipulaciones, deben tomarse precauciones para reducir al mínimo la pérdida de alcohol por evaporación.

Procedimiento general - Medir exactamente no menos de 25 ml del líquido en el cual se quiere valorar el alcohol y registrar la temperatura a la cual se midió el volumen. Transferirlos a un destilador apropiado (de volumen dos a cuatro veces mayor que el del líquido) y si se cree que el contenido alcohólico no es superior al 30 % v/v agregar un volumen igual de agua lavando al mismo tiempo la probeta en que se midió. Destilar a una velocidad tal que el líquido pase claro y recolectar un volumen inferior, en unos 2 ml, al volumen del líquido original. Llevar a la temperatura inicial, completar exactamente al volumen inicial con agua y determinar la densidad relativa a 15 °C (ver 160. *Determinación de la densidad relativa*). Por medio de la tabla correspondiente (ver *Determinación de la concentración alcohólica en peso y en volumen de agua*, en *Tablas*) calcular el porcentaje, en volumen, de alcohol contenido en el líquido ensayado. Si el líquido bajo ensayo contiene más de 30 % v/v de alcohol, diluir con dos veces su volumen de agua y recolectar 2 ml menos que, el doble del volumen primitivo. Llevar a la temperatura inicial y completar cuidadosamente al doble del volumen inicial con agua, mezclar y determinar la densidad relativa y el contenido alcohólico según se mencionó anteriormente. El contenido alcohólico en volumen debe corresponder a la mitad del contenido en el líquido original. El destilado debe ser límpido o ligeramente turbio.

El método debe modificarse en los siguientes casos:

Ebullición violenta - Algunas soluciones alcohólicas, particularmente las que contienen resinas, manifiestan tendencia a producir proyecciones cuando se calientan. En estos casos agregar trozos de algún material poroso que permita regular la ebullición.

Líquidos espumosos - Deben acidificarse con ácido fosfórico, sulfúrico o tánico, o tratarse con un pequeño exceso de solución de cloruro de calcio.

Glicerina - Los líquidos que contienen glicerina deben diluirse con agua como para que el residuo de la destilación contenga por lo menos 50 % de agua.

Iodo - Las soluciones iodadas deben decolorarse antes de ser destiladas, por agregado de cinc en polvo o de solución de tiosulfato de sodio (1 en 10). En este último caso debe evitarse un exceso de tiosulfato de sodio y conviene agregar unas gotas de hidróxido de sodio (SR) para fijar los compuestos volátiles de azufre.

Sustancias volátiles - Las tinturas, alcoholados y demás preparados alcohólicos que contengan en cantidad apreciable sustancias volátiles, tales como esencias, cloroformo, éter, alcanfor, etc., deben tratarse previamente de la siguiente forma: mezclar 25 ml del líquido alcohólico en una ampolla de decantación, con un volumen igual de solución saturada de cloruro de sodio; agregar aproximadamente el mismo volumen de éter de petróleo y agitar la mezcla para extraer los compuestos volátiles. Dejar reposar, retirar la fase inferior acuosa y transvasar a una segunda ampolla. Extraer dos veces con porciones de 25 ml de éter de petróleo. Reunir estos extractos en la primera ampolla y extraer con tres porciones de 10 ml de solución saturada de cloruro de sodio.

Mezclar los extractos acuosos salinos y destilar en la forma habitual, recolectando un volumen de destilado que tenga una relación simple con el volumen del líquido original.

Si el líquido, después de tratado con éter de petróleo, queda lechoso, destilar directamente una nueva porción de la muestra, diluida con un volumen igual de agua, siguiendo el *Procedimiento general*. Tratar este destilado como se indicó anteriormente, con éter de petróleo y solución saturada de cloruro de sodio y destilar la solución acuosa salina. Así se obtendrá un destilado exento de sustancias volátiles extrañas.

Si se tiene que destilar una solución de colodión, se debe diluir con agua en lugar de solución saturada de cloruro de sodio.

Cuando las esencias están presentes en pequeña proporción y se obtiene un destilado turbio, si no se ha empleado el tratamiento previo con éter de petróleo, bastará agitar el destilado con un quinto de su volumen de éter de petróleo para clarificarlo o filtrarlo a través de una delgada capa de talco.

Otros preparados que requieren un tratamiento especial - Las preparaciones que contengan bases volátiles deben acidificarse ligeramente con ácido sulfúrico diluido antes de ser destiladas. Si están presentes ácidos volátiles, se debe alcalinizar

ligeramente la preparación con hidróxido de sodio al 4 %.

Las soluciones jabonosas se tratan con un exceso de ácido sulfúrico para descomponer el jabón, se extraen con éter de petróleo purificado y luego se continúa según se indica en *Procedimiento general*.

Método II Cromatografía de gases

Sistema cromatográfico - Emplear un cromatógrafo de gases equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 1,8 m x 4 mm rellena con un copolímero de etilvinilbenceno y divinilbenceno con un área superficial nominal de 500 a 600 m² por g y un diámetro de poro promedio de 0,0075 μm de malla N° 100 a 120. Se emplea nitrógeno o helio como gas transportador. Antes de usar, acondicionar la columna durante la noche a 235 °C con flujo lento de gas transportador. Mantener la columna a 120 °C y el inyector y el detector a 210 °C. Ajustar el caudal del gas transportador de manera que el estándar interno (acetonitrilo) eluya entre 5 y 10 minutos.

Solución estándar - Diluir 5,0 ml de alcohol absoluto con agua a 250 ml.

Solución del estándar interno - Diluir 5,0 ml de acetonitrilo con agua a 250 ml.

Solución muestra - Diluir la muestra a ensayar con agua hasta obtener una solución que contenga aproximadamente 2 % v/v de alcohol.

Preparación muestra - Transferir 10 ml de la *Solución muestra* y 10 ml de la *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua.

Preparación estándar - Transferir 10 ml de la *Solución estándar* y 10 ml de la *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Aptitud del sistema - (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución, R , no debe ser menor de 2; el factor de asimetría para el pico del alcohol no debe ser mayor que 1,5 y la desviación estándar relativa del cociente entre las respuestas de los picos del alcohol y el estándar interno para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por duplicado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 5 μl) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos. Calcular el porcentaje de alcohol, en volumen, en la muestra, por la fórmula siguiente:

$$2DR_M / R_E$$

en la cual D es el factor de dilución, expresado como una fracción, empleado en la preparación de la *Solución muestra* y R_M y R_E son los cocientes entre las respuestas de los picos de alcohol y del estándar interno obtenidos a partir de *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, respectivamente.

140. DETERMINACION DE ALUMINIO

Este procedimiento se emplea para demostrar que el contenido de aluminio (Al) no es mayor al límite especificado en la monografía correspondiente de una sustancia indicada para emplearse en hemodiálisis. [NOTA: las *Soluciones estándar* y la *Solución muestra* pueden modificarse, si fuera necesario, para obtener soluciones de concentraciones apropiadas adaptables al intervalo lineal o de trabajo del aparato].

Ácido nítrico diluido - Transferir 40 ml de ácido nítrico a un matraz aforado de 1 litro y completar a volumen con agua.

Soluciones estándar - Transferir 2,0 g de aluminio metálico a un matraz aforado de 1 litro, agregar 50 ml de ácido clorhídrico 6 N, agitar por rotación y dejar que reaccione hasta que todo el aluminio se haya disuelto. Completar con agua a volumen y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 1 litro, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Ácido nítrico diluido* y mezclar. Transferir porciones de 1,0; 2,0 y 4,0 ml de esta solución a sendos matraces aforados de 100 ml, completar a volumen con *Ácido nítrico diluido* y mezclar. Estas soluciones contienen

0,01; 0,02 y 0,04 μg por ml, respectivamente. *Solución muestra* - A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, transferir una cantidad de muestra, en g, exactamente pesada, a un matraz aforado de plástico de 100 ml. Agregar 50 ml de agua y sonicar durante 30 minutos. Agregar 4 ml de ácido nítrico, completar con agua a volumen y mezclar.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de las *Soluciones estándar* y la *Solución muestra* en la línea de emisión del aluminio a 309,3 nm con un espectrofotómetro de absorción atómica apropiado (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*) equipado con una lámpara de aluminio de cátodo hueco y un horno eléctrico sin llama, empleando *Ácido nítrico diluido* como blanco. Gráficar las absorbancias de las *Soluciones estándar* en función del contenido de Al, en mg cada por ml, y trazar la línea que mejor se ajuste. A partir del gráfico obtenido, determinar la cantidad, en mg, de Al en cada ml de la *Solución muestra*. Calcular la cantidad de Al en la muestra, en mg por g, multiplicando este valor por $100/P$, donde P es el peso, en g, de la sustancia tomada para preparar la *Solución muestra*.

150. DETERMINACIÓN DE CINC

Todos los reactivos empleados en este ensayo deben tener un contenido de metales pesados tan bajo como sea posible. El material de vidrio debe lavarse cuidadosamente, primero con una solución de ácido nítrico al 50 % a una temperatura entre 35 y 55 °C y finalmente con agua. El lubricante empleado en el robinete de la ampolla de decantación no debe ser soluble en cloroformo.

Reactivos

Solución alcalina de citrato de amonio - Disolver 50 g de citrato dibásico de amonio en cantidad suficiente de agua hasta completar 100 ml. Agregar 100 ml de amoníaco y separar los metales pesados que pudieran estar presentes, extrayendo la solución con porciones de 20 ml de *Solución de ditizona para extracción* (ver 600. Límite de plomo), hasta que esta solución conserve su color anaranjado verdoso. Extraer la ditizona que quede en la solución de citrato por agitación con cloroformo.

Cloroformo - Destilar cloroformo en un aparato de vidrio y recolectar el destilado en cantidad suficiente de alcohol absoluto de modo que la concentración final sea de 1 ml de alcohol por cada 100 ml de destilado.

Solución de ditizona - Solución estándar de ditizona (ver 600. Límite de plomo) preparada con *Cloroformo* destilado.

Solución estándar de cinc - Disolver 625 mg de óxido de cinc, previamente sometido a ignición moderada, hasta peso constante y exactamente pesado, en 10 ml de ácido nítrico y diluir con agua a 500,0 ml. Cada mililitro de esta solución contiene 1,0 mg de cinc.

Solución estándar de cinc diluida - A 1 ml de *Solución estándar de cinc*, exactamente medido, agregar dos gotas de ácido nítrico y diluir con agua a 100 ml. Cada mililitro de esta solución contiene 10 µg de cinc. Esta solución debe emplearse dentro de las 2 semanas de preparada.

Solución de ácido tricloroacético - Disolver 100 g de ácido tricloroacético en cantidad suficiente de agua y diluir a 1 litro.

Procedimiento - Transferir entre 1 y 5 ml de la preparación a ensayar, exactamente medidos, a un tubo de centrifuga graduado de 40 ml y, si fuera necesario, agregar ácido clorhídrico 0,2 N, gota a gota, hasta obtener una solución transparente. Agregar 5 ml de *Solución de ácido tricloroacético* y completar con agua 40,0 ml. Mezclar y centrifugar.

Transferir un volumen exactamente medido del líquido sobrenadante, que contiene aproximadamente entre 5 y 20 µg de cinc, a una

ampolla de decantación de vidrio y agregar agua hasta completar 20 ml. Agregar 1,5 ml de *Solución alcalina de citrato de amonio* y 35 ml de *Solución de ditizona* (ver 600. Límite de plomo). Agitar vigorosamente unas cien veces, dejar que se separe la fase clorofórmica e insertar una torunda de algodón en el vástago de la ampolla de decantación para eliminar el agua que se haya emulsionado con el cloroformo. Recolectar el extracto clorofórmico (desechando la primera porción) en un tubo de ensayo y determinar la absorbancia a 530 nm, empleando un espectrofotómetro apropiado.

Calcular la cantidad de cinc contenida en la muestra, a partir de una curva de absorbancia en función de concentración, obtenida empleando 0,5; 1,0 y 1,5 ml de *Solución estándar de cinc diluida* y, en caso que el contenido de la muestra sea mayor de 15 µg, emplear 2,0 ml de *Solución estándar de cinc diluida*, corregida mediante un blanco preparado simultáneamente con todos los reactivos empleados en las mismas proporciones, pero sin agregar cinc.

160. DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, la determinación de la densidad relativa se realiza a 20 °C.

Procedimiento - Emplear un picnómetro perfectamente seco. Determinar el peso del picnómetro vacío y el peso de agua contenida en el picnómetro, recientemente hervida y enfriada a 20 °C. Al peso obtenido, sustraer el peso del picnómetro vacío. Llenar el picnómetro con la sustancia a ensayar a 20 °C. Ajustar la temperatura del picnómetro lleno a la misma temperatura, eliminar el exceso de líquido y pesar. Al peso obtenido, sustraer el peso del picnómetro vacío.

[NOTA: si el picnómetro contiene menos de 20 ml, las pesadas deben efectuarse con una aproximación de $\pm 0,001$ g; y si contiene más de 20 ml, con una aproximación de $\pm 0,01$ g].

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, la densidad relativa de la sustancia es el cociente entre el peso de la sustancia contenida en el picnómetro menos el peso del picnómetro vacío y el peso de agua contenida en el mismo menos el peso del picnómetro vacío.

170. DETERMINACIÓN DE LA ROTACIÓN ÓPTICA

Una sustancia se considera ópticamente activa cuando posee la propiedad de rotar el plano de la luz polarizada que incide sobre la misma. Esta propiedad, característica de muchas sustancias, es en general debida a la presencia de uno o varios centros asimétricos constituidos muy frecuentemente por átomos de carbono con cuatro sustituyentes diferentes. El número máximo de isómeros ópticos posibles en una molécula es de 2^n , siendo n el número de centros asimétricos.

La polarimetría es una técnica conveniente para distinguir entre sí, isómeros ópticamente activos, a partir de la medición de la rotación óptica de una sustancia; también es un criterio importante de identidad y pureza, pudiendo emplearse con fines cuantitativos.

Las sustancias quirales poseen poder rotatorio. Aquellas que rotan la luz en el sentido de las agujas del reloj son dextrógiras o isómeros ópticos (+), mientras que las que rotan la luz en la dirección opuesta son levógiras o isómeros ópticos (-). Los símbolos R y S se emplean actualmente para indicar la configuración, es decir el ordenamiento de átomos o grupos de átomos en el espacio, pudiendo en algunos casos emplearse otros términos como D y L o α y β .

Las sustancias quirales cuyas moléculas no son superponibles sino imágenes especulares se denominan enantiómeros. Éstos tienen las mismas propiedades fisicoquímicas, excepto que rotan el plano de la luz polarizada la misma cantidad de grados en direcciones opuestas, y sus reacciones con otras sustancias quirales presentan características diferentes.

La medición de la rotación óptica debe realizarse empleando un polarímetro capaz de apreciar diferencias de $0,01^\circ$. Como fuente de luz de los aparatos se emplean lámparas de sodio, de vapor de mercurio, xenón o halógeno-tungsteno entre otras, provistas de un dispositivo que permite transmitir un haz luminoso monocromático. La calibración del aparato puede realizarse empleando una placa de cuarzo montada sobre un soporte perpendicular al paso de la luz. La ecuación general es:

$$[\alpha]_{\lambda}^t = 100a/lc$$

en la cual $[\alpha]$ es la rotación específica a la longitud de onda λ , t es la temperatura a la que se realiza la lectura, a es la rotación observada en grados, l es el paso de la celda en decímetros y c es la concentración del analito, en g por 100 ml. Por lo tanto, $[\alpha]$ es 100 veces el valor medido, en

grados, para una solución que contiene 1 g en 100 ml, medido en una celda con un paso de 1,0 dm bajo determinadas condiciones de longitud de onda incidente y temperatura. En general, la rotación observada decrece linealmente con el aumento de la temperatura; sin embargo, la diferencia entre la rotación observada a 20 y 25 °C es generalmente despreciable.

La rotación óptica es afectada por el solvente empleado para la medición, la concentración del analito, la longitud de onda y la temperatura, los que siempre deberán especificarse. A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, las determinaciones en esta Farmacopea se realizan a 25 °C, empleando la línea D del sodio a la longitud de onda de 589 nm. La rotación específica así determinada se expresa por el símbolo:

$$[\alpha]_D^{25}$$

Para algunas sustancias, especialmente líquidos de composición compleja, como por ej., aceites esenciales, la rotación óptica se expresa en función de la rotación observada, a , medida bajo las condiciones definidas en la monografía correspondiente.

La polarimetría puede realizarse empleando aparatos que detectan la rotación angular de modo visual (al igualar la intensidad de luz sobre dos campos) o mediante un sistema fotoeléctrico, siendo esta última más exacta y precisa que la medición visual.

El empleo de longitudes de onda menores, como por ej., las líneas de la lámpara de mercurio a 578, 546, 436, 405 y 365 nm en un polarímetro fotoeléctrico, puede proporcionar ventajas en cuanto a la sensibilidad, con la consiguiente reducción de la concentración del analito. En general, la rotación óptica observada a 436 nm, es aproximadamente el doble y a 365 nm aproximadamente tres veces la observada con la línea D del sodio. La reducción de la concentración del analito requerida para la medición, a veces puede realizarse al convertir la sustancia a ensayar en una que tenga una rotación óptica significativamente mayor.

Rotación específica - Se calcula a partir de la rotación óptica observada en la solución muestra, obtenida según se especifica en la monografía correspondiente. Cuando se emplea un polarímetro fotoeléctrico se hace una sola medición, corregida por el blanco de solvente.

Cuando se emplea un polarímetro con detección visual se obtiene un promedio entre no menos de cinco determinaciones corregidas por la lectura de un tubo vacío y seco, empleado como blanco. La temperatura de la muestra debe mantenerse dentro de $\pm 0,5$ °C del valor establecido. A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, la rotación específica se calcula sobre la sustancia seca cuando la monografía específica *Pérdida por secado* o sobre la sustancia anhidra cuando específica *Determinación de Agua*.

La rotación óptica de las soluciones se debe determinar dentro de los 30 minutos de realizadas las soluciones. En el caso de sustancias que pueden sufrir racemización o mutarrotación se deben tomar precauciones para estandarizar el tiempo entre el agregado del analito al solvente y la lectura polarimétrica.

Rotación angular - Cuando se trata de mezclas, la rotación angular constituye una determinación física importante. Representa la desviación polarimétrica que una sustancia líquida o una solución, en determinadas condiciones de temperatura, concentración y longitud del tubo del polarímetro, hacen experimentar al plano de polarización de la luz monocromática incidente. A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, la misma se mide en un tubo de 1,0 dm, corrigiéndose la lectura con la de un tubo vacío y seco, empleado como blanco.

180. DETERMINACIÓN DE LA TEMPERATURA DE SOLIDIFICACIÓN

Aparato (ver Figura) - Consta de un tubo de ensayo de 25 mm x 150 mm colocado dentro de un tubo de ensayo de 40 mm x 160 mm; el tubo interior está cerrado con un tapón que sostiene el termómetro y un agitador. El bulbo del termómetro se encuentra a aproximadamente 15 mm del fondo del tubo. El conjunto se coloca dentro de un vaso de precipitados que contiene un líquido refrigerante apropiado y un termómetro para controlar la temperatura del mismo.

Procedimiento - Emplear un termómetro que se ajuste a las características dadas en <720>. *Termómetros.* Transferir una cantidad de muestra, previamente fundida si fuera necesario, al tubo interno, de manera que el bulbo del termómetro quede totalmente cubierto. Determinar el punto de solidificación aproximado enfriando rápidamente. Colocar el tubo interno en un baño a una temperatura 5 °C por encima del punto de solidificación de la sustancia hasta que prácticamente toda la muestra se funda y sólo queden trazas de cristales.

Llenar el vaso de precipitados con el líquido refrigerante a una temperatura 5 °C por debajo del punto de solidificación de la sustancia. Insertar el tubo interno dentro del tubo externo, asegurándose que la muestra presente algunos cristales y agitar, moviendo el agitador verticalmente, hasta que se produzca la solidificación. La mayor temperatura observada corresponde a la temperatura de solidificación.

En el caso en que la muestra se encuentre en estado líquido a temperatura ambiente, llevar a cabo la determinación empleando un baño a una temperatura aproximadamente 15 °C por debajo del punto de solidificación esperado.

Cuando la muestra se enfría cerca de 5 °C por encima del punto de solidificación esperado, ajustar el baño a una temperatura entre 7 y 8 °C debajo del punto de solidificación esperado. Agitar la muestra hasta terminar el ensayo a una velocidad regular de 20 ciclos completos por minuto.

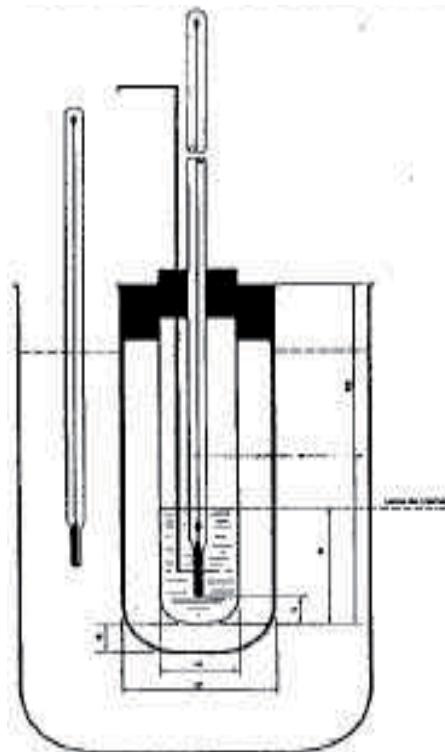


Figura. Aparato para la determinación de la temperatura de solidificación.

190. DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD

La viscosidad es una propiedad de los líquidos íntimamente vinculada con la resistencia al flujo. Se define como la fuerza requerida para mover en forma continua una superficie plana sobre otra, bajo condiciones específicas constantes, cuando el espacio entre ambas está ocupado por un líquido.

La viscosidad se puede expresar en términos de viscosidad absoluta, η , que se define como la fuerza por unidad de área necesaria para mantener una unidad de gradiente de velocidad. Las unidades básicas son el *poise* y *centipoise* (siendo 1 *poise* = 100 *centipoise*).

En lugar de expresar los resultados en términos de viscosidad absoluta, muchos métodos de determinación permiten medir la viscosidad relativa, es decir la viscosidad de un líquido comparada con la de otro líquido de viscosidad conocida. Como las viscosidades relativas que se obtienen con los diferentes aparatos no son las mismas, se ha adoptado expresar la viscosidad como viscosidad cinemática, que es la relación entre la viscosidad absoluta, expresada en *poise*, y la densidad del líquido a la misma temperatura, es decir, viscosidad cinemática (stoke) = viscosidad dinámica (poise)/densidad (g/ml). Las unidades de viscosidad cinemática son el *stoke* y *centistoke* (siendo 1 *stoke* = 100 *centistoke*).

Mediación de la viscosidad - Para la medición de la viscosidad pueden emplearse dos tipos de aparatos:

Viscosímetro de tubo capilar: determina el tiempo requerido para que un volumen dado de un líquido escurra, a través de un capilar. Este se denomina viscosímetro de Ostwald o de Ubbelohde.

Viscosímetro rotatorio: mide las fuerzas de cizallamiento (fuerza tangencial por unidad de superficie) en el seno de un líquido situado entre dos cilindros coaxiales de radios R_a y R_b , uno de los cuales se mueve por un motor, mientras que el otro se desliza debido a la rotación del primero. Este se denomina viscosímetro de Brookfield, de rotovisco o de Stormer.

En la monografía correspondiente se indicará el tipo de aparato empleado para la medición de la viscosidad.

Calibración de los viscosímetros de tipo capilar - Determinar la constante del viscosímetro, k , para cada viscosímetro, empleando el líquido calibrador especificado por el fabricante.

Viscosímetro de Ostwald - Llenar el tubo con la cantidad exacta de líquido especificada por el fabricante (ajustado a $20,0 \pm 0,1$ °C). Ajustar el

menisco de la columna de líquido en el tubo capilar al nivel de la línea graduada superior con la ayuda de presión o succión. Abrir el tubo de llenado y el tubo capilar para que el líquido escurra contra la presión atmosférica. [NOTA: una falla al abrir cualquiera de estos tubos producirá valores erróneos]. Registrar el tiempo necesario, en segundos, mediante un cronómetro para que el líquido escurra de la marca superior a la marca inferior en el tubo capilar.

Viscosímetro de Ubbelohde - Colocar una cantidad de líquido en el tubo de llenado (ajustado a $20,0 \pm 0,1$ °C) y transferirlo al tubo capilar mediante succión suave evitando la formación de burbujas en el líquido, manteniendo el tubo de aire cerrado. Ajustar el menisco de la columna de líquido en el tubo capilar al nivel de la línea graduada superior. Abrir el tubo de aire y el tubo capilar para permitir que el líquido escurra contra la presión atmosférica. [NOTA: una falla al abrir el tubo de aire antes que el tubo capilar producirá valores erróneos]. Registrar el tiempo necesario, en segundos, mediante un cronómetro para que el líquido escurra de la marca superior a la marca inferior en el tubo capilar.

Cálculos - Calcular la constante del viscosímetro, k , mediante la fórmula siguiente:

$$k = \eta / dt$$

en la cual η es la viscosidad, en centipoise, del líquido de viscosidad conocida, d es la densidad relativa del líquido empleado a 20°C (ver 160. *Determinación de la densidad relativa*) y t es el tiempo, en segundos, para que el líquido escurra de la marca superior a la marca inferior.

[NOTA: cuando un viscosímetro se repara, debe calibrarse nuevamente. Aún las reparaciones menores causan, frecuentemente, cambios significativos en el valor de su constante, k].

Determinación de la viscosidad mediante el Viscosímetro de Tubo Capilar - La determinación de la viscosidad se efectúa a una temperatura de $20,0 \pm 0,1$ °C, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente.

El ensayo no es válido si dos lecturas consecutivas difieren más de 1 %. La media de tres lecturas, como mínimo, da el tiempo de vertido del líquido desconocido.

Se calcula la viscosidad absoluta, η , en centipoise, mediante la fórmula siguiente:

$$\eta = kdt$$

en la cual k es la constante del aparato, d es la densidad del líquido desconocido y t es el tiempo de escurrimiento del líquido desconocido.

Procedimiento (ver *Figura*) - Llenar el viscosímetro por el tubo L , con una cantidad suficiente del líquido desconocido a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, para llenar el bulbo A . Asegurar que el nivel del líquido en el bulbo B , está por debajo del orificio de ventilación del tubo M . Sumergir el viscosímetro en un baño de agua a $20,0 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente. Mantenerlo en posición vertical y dejar reposar durante 30 minutos para establecer el equilibrio térmico. Cerrar el tubo M , y elevar el nivel del líquido en el tubo N , hasta que se sitúe a 8 mm aproximadamente por encima de la marca E . Mantener el líquido en este nivel, cerrando el tubo N , y abriendo el tubo M . Abrir el tubo N , y medir mediante un cronómetro, con una aproximación de $1/5$ segundo, el tiempo necesario para que el nivel del líquido descienda de la marca E a la marca F .

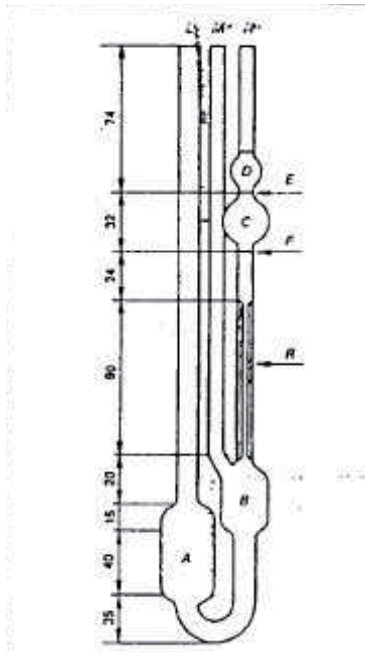


Figura. Viscosímetro de tubo capilar
(las dimensiones son en mm).

Determinación de la viscosidad mediante el Viscosímetro Rotatorio - La determinación de la viscosidad se efectúa a una temperatura de $20,0 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente. Muchas sustancias presentan viscosidad variable según

estén en reposo o en movimiento y la mayoría de ellas son menos resistentes al flujo a velocidades altas. En dichos casos, en la monografía correspondiente se indica el viscosímetro a emplear y la velocidad angular a la que debe determinarse la viscosidad.

La determinación de la viscosidad absoluta se calcula mediante la fórmula siguiente:

$$\eta = \frac{1}{\omega} \left(\frac{M}{4\pi h} \right) \left(\frac{1}{R_A^2} - \frac{1}{R_B^2} \right)$$

en la cual h representa la altura de inmersión del cilindro que se desliza en el medio líquido, R_A y R_B representan los radios de los cilindros siendo R_A menor que R_B , ω representa la velocidad angular y M representa el ángulo de desviación del cilindro que se desliza. Si se determina la constante, k , del aparato la η se calcula mediante la siguiente fórmula simplificada:

$$\eta = k \frac{M}{\omega}$$

Procedimiento - Determinar la viscosidad siguiendo las instrucciones del aparato.

200. DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO

Método I

En ausencia de nitratos y nitritos

Transferir aproximadamente 1 g de la sustancia en ensayo, exactamente pesada, a un balón de Kjeldahl, de vidrio duro al borosilicato, de 500 ml.

Si la sustancia en ensayo es sólida o semisólida, envolverla en una hoja de papel de filtro exento de nitrógeno para poder introducirla fácilmente en el balón.

Agregar 10 g de sulfato de potasio pulverizado o de sulfato de sodio anhidro, 0,5 g de sulfato cúprico pulverizado y 20 ml de ácido sulfúrico. Inclinar el balón con un ángulo de aproximadamente 45° y calentar suavemente, manteniendo la temperatura por debajo del punto de ebullición de la mezcla hasta que no se produzca espuma. Aumentar la temperatura gradualmente hasta ebullición y continuar calentando hasta que la solución presente un color verde claro o casi incoloro y luego continuar el calentamiento durante 30 minutos. Dejar enfriar, agregar de a poco 150 ml de agua, mezclar cuidadosamente y enfriar nuevamente. Agregar con precaución 100 ml de hidróxido de sodio al 40 %, dejándolo resbalar por la pared interna del balón, de tal manera que forme una capa por debajo de la solución ácida. Agregar trozos de cinc granulado y conectar el balón por medio de una ampolla de Kjeldahl, con un refrigerante cuyo extremo libre esté sumergido en 100 ml de una solución de ácido bórico al 4 %, contenida en un erlenmeyer de 500 ml. Mezclar suavemente el contenido del balón de Kjeldahl y destilar hasta que hayan pasado aproximadamente las dos terceras partes del líquido. Agregar al destilado cinco gotas de solución de rojo de metilo (SR) como indicador y valorar el exceso de ácido con hidróxido de sodio 0,5 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido clorhídrico o sulfúrico 0,5 N equivale a 7,004 mg de nitrógeno.

Cuando el contenido en nitrógeno es bajo, el ácido clorhídrico o sulfúrico 0,5 N debe ser reemplazado por una solución 0,1 N y el exceso se debe valorar con solución alcalina 0,1 N. Cada mililitro de ácido clorhídrico o sulfúrico 0,1 N equivale a 1,4008 mg de nitrógeno.

En presencia de nitritos y nitratos

Transferir una cantidad de sustancia, exactamente pesada, equivalente a 0,15 g de nitrógeno a un balón de Kjeldahl al borosilicato de 500 ml. Agregar 25 ml de ácido sulfúrico que contengan 1 g de ácido salicílico disuelto. Mezclar cuidadosamente el contenido del balón y dejar reposar la mezcla durante 30 minutos; agitado frecuentemente. Agregar a la mezcla 5 g de tiosulfato de sodio pulverizado y mezclar. Agregar 0,5 g de sulfato cúprico pulverizado y proceder según se indica en *En ausencia de nitratos y nitritos*, comenzando donde dice "inclinarse el balón con un ángulo de aproximadamente 45°...".

[NOTA: cuando el contenido de nitrógeno de la sustancia en ensayo es superior a 10 %, pueden agregarse entre 500 mg a 1 g de ácido benzoico, antes de la digestión, para facilitar la descomposición de la sustancia. Este método no debe emplearse para ciertos alcaloides y compuestos orgánicos nitrogenados que no ceden todo su nitrógeno por digestión con ácido sulfúrico].

Método II

Aparato (ver *Figura*) - Debe construirse completamente con vidrio duro. El balón de digestión y destilación *A*, es un balón de 200 ml, con un cuello de aproximadamente 12 cm de largo. El generador de vapor *B*, es un balón de Kjeldahl de 1 litro. La alargadera de destilación *C*, sirve para retener gotitas y para introducir el álcali y el vapor en el balón *A*. El tubo *D*, provisto de un embudo en su extremo superior; sirve como válvula de seguridad para el balón *B* y permite la reposición de agua. El tubo de salida *I*, tiene un orificio en el punto *K* para evitar obstrucciones por el vapor que se condensa. El refrigerante *L*, tiene una camisa de 30 a 40 cm de largo y está dispuesto de modo que la extremidad inferior del tubo refrigerante *J*, cortada a bisel, se sumerja en la solución del recipiente de absorción *M*, el cual tiene una capacidad de 250 a 300 ml.

En caso de no poseer uniones esmeriladas emplear tapón de goma.

El tapón de goma, empleado para unir el balón de digestión al aparato de destilación, debe lubricarse con glicerina.

Todo el material de goma empleado debe hervirse, durante 10 minutos, en una mezcla de hidróxido de sodio (SR) y agua (50:50) y lavarse abundantemente con agua hasta reacción neutra antes de emplearse por primera vez.

Llenar el generador de vapor *B*, con agua a la cual se han agregado unas gotas de ácido sulfúrico y poner en el generador fragmentos de material poroso para evitar una ebullición violenta. Antes de comenzar una serie de análisis, hacer pasar una corriente de vapor de agua por el aparato, cuyo balón de digestión debe contener 30 ml de hidróxido de sodio al 40 %. Transferir al recipiente de absorción *M*, 15 ml de una solución de ácido bórico al 4 %, tres gotas de solución de rojo de metilo (SR) como indicador y cantidad

suficiente de agua para cubrir el extremo abierto del tubo refrigerante *J*. Recolectar entre 80 y 100 ml de destilado y valorar con ácido sulfúrico 0,01 N, para obtener el factor de corrección que debe aplicarse a cada ensayo.

Reservar los matraces de absorción para este uso exclusivamente y, después de emplearlos, lavarlos abundantemente con agua hasta reacción neutra; tapar perfectamente y guardar hasta su próximo empleo.

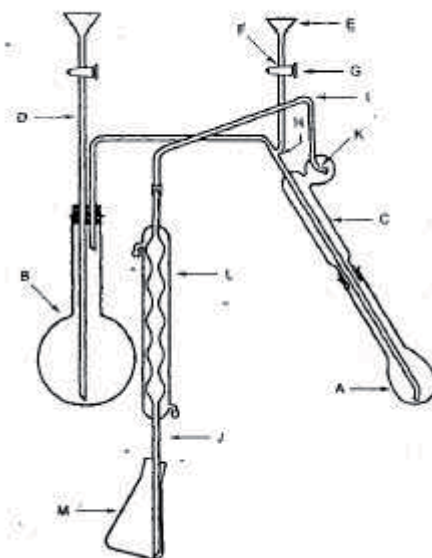


Figura. Aparato para la determinación de nitrógeno.

Procedimiento - Transferir al balón de digestión *A*, una cantidad de sustancia en ensayo, exactamente pesada o medida, de tal manera que contenga entre 2 y 3 mg de nitrógeno. Agregar 1 g de una mezcla pulverizada de sulfato de potasio y sulfato de cúprico (10:1) y arrastrar hacia el interior las partículas de sustancia que se hayan adherido al cuello del balón, con ayuda de agua. Agregar 7 ml de ácido sulfúrico, dejándolos resbalar por las paredes del balón, y luego, mientras se agita el balón con movimiento circular, agregar cuidadosamente 1 ml de peróxido de hidrógeno al 30 % a lo largo de las paredes del balón. [NOTA: no debe agregarse el peróxido de hidrógeno durante el proceso de digestión]. Calentar el balón directamente sobre la llama del mechero o sobre un calentador eléctrico hasta que la solución adquiera

un color azul claro y las paredes del balón queden libres de residuo carbonoso. Agregar al producto de la digestión, 70 ml de agua, enfriar y conectar el balón de digestión al aparato de destilación. Agregar a través del embudo *E*, 30 ml de hidróxido de sodio al 40 %, lavar el embudo con 10 ml de agua, cerrar perfectamente el robinete *G* y comenzar inmediatamente la destilación con vapor. Recolectar el destilado sobre 15 ml de una solución acuosa de ácido bórico al 4 %, a la cual se han agregado tres gotas de solución de rojo metilo (SR) como indicador y cantidad suficiente de agua, hasta cubrir el extremo abierto del tubo del refrigerante. Continuar la destilación hasta obtener entre 80 y 100 ml de destilado. Retirar el recipiente de absorción, lavar el extremo del tubo del refrigerante con una pequeña porción de agua y valorar el

destilado con ácido sulfúrico 0,01 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido sulfúrico 0,01 N (SV) equivale a 0,1401 mg de nitrógeno. Si la cantidad de sustancia en ensayo contiene más de 2 a 3 mg de nitrógeno, se debe emplear para la titulación ácido sulfúrico 0,02 o

0,1 N, eligiéndose la concentración de ácido apropiada de modo que se consuman por lo menos 15 ml en la titulación. Si el peso total de la materia seca empleada es mayor a 0,1 g, aumentar proporcionalmente las cantidades de ácido sulfúrico y de hidróxido de sodio.

210. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO EXTRAÍBLE DEL ENVASE

Los siguientes ensayos están diseñados para garantizar que las soluciones y suspensiones orales contenidas en envases multidosis, dispensadas como preparaciones líquidas o para reconstituir, y las soluciones inyectables en envases monodosis o multidosis, cuando se extraen de su envase original, proporcionen el volumen declarado en el rótulo del producto.

Para determinar el volumen extraíble del envase, seleccionar no menos de treinta envases y proceder según se indica para la forma farmacéutica correspondiente.

SOLUCIONES Y SUSPENSIONES ORALES, JARABES Y POLVOS EN ENVASES MULTIDOSIS, O SUSPENSIONES ORALES PARA RECONSTITUIR

Procedimiento - Seleccionar diez envases y proceder según se indica en el rótulo. Transferir el contenido de cada envase a sendas probetas graduadas y de capacidad tal que no exceda dos veces y media el volumen a medir, evitando la formación de burbujas y permitiendo que drenen durante un período no mayor de 30 minutos. Cuando el líquido quede libre de burbujas de aire, medir el volumen de cada uno.

Interpretación - El volumen promedio de la solución, suspensión o jarabe obtenido a partir de los diez envases no debe ser menor de 100% del volumen declarado en el rótulo y el volumen de ningún envase debe ser menor de 95 %. Debe repetirse el ensayo con veinte envases adicionales cuando:

a) El volumen promedio es menor de 100 % del declarado en el rótulo, pero el volumen de ningún envase es menor de 95 % de la cantidad declarada;

b) El volumen de no más de un envase es menor de 95 %; pero no menor de 90 % de volumen declarado en el rótulo.

El volumen promedio obtenido a partir de los treinta envases no debe ser menor de 100 % del volumen declarado en el rótulo y el volumen de no más de uno de los treinta envases puede ser menor de 95 %, pero no debe ser menor de 90 % del volumen declarado en el rótulo.

SOLUCIONES Y SUSPENSIONES INYECTABLES

Los envases de soluciones y suspensiones inyectables deben llenarse con un ligero exceso de volumen. Los excesos de volúmenes recomendados

en la *Tabla* son generalmente suficientes para permitir la extracción y administración de los volúmenes declarados en el rótulo.

Procedimiento - Seleccionar uno o más envases si el volumen es mayor o igual a 10 ml, tres o más envases si es mayor a 3 ml y menor a 10 ml, y cinco o más envases si es menor o igual a 3 ml. Extraer individualmente el contenido de cada uno de los envases seleccionados con una jeringa hipodérmica seca cuya capacidad no exceda tres veces el volumen a ser medido, provista de una aguja de 0,8 mm de diámetro interno y de no menos de 2,5 cm de largo. Eliminar las burbujas de aire de la jeringa y de la aguja, verter el contenido de la jeringa sin vaciar la aguja en una probeta graduada y de capacidad tal que el volumen a medir ocupe por lo menos el 40 % de su volumen.

Alternativamente, el contenido de la jeringa puede ser transferido a un vaso de precipitados seco, previamente pesado. Calcular el volumen extraído, en mililitros, como el peso, en gramos, de inyectable dividido por su densidad, previamente determinada.

El contenido de dos, tres o cuatro envases de 1 ó 2 ml puede combinarse para la medición, empleando una jeringa seca para cada envase. Para determinar el contenido de los envases de 10 ml o mayores, abrir los mismos y vaciar sus contenidos directamente en una probeta o en un vaso de precipitados previamente pesado.

El volumen no debe ser menor que el declarado en el rótulo; en el caso de envases examinados individualmente o en el caso de envases de 1 ó 2 ml, no debe ser menor que la suma de los volúmenes declarados de los envases seleccionados.

Para los inyectables en envases multidosis cuyo rótulo declare que se puede extraer un número específico de dosis de un determinado volumen, proceder según se indicó anteriormente empleando un número de jeringas igual al número de dosis especificadas. El volumen suministrado por cada jeringa no debe ser menor al de la dosis especificada.

Para los inyectables oleosos, calentar los envases a una temperatura no mayor a 37 °C y agitarlos cuidadosamente antes de extraer el contenido. Enfriar a 25 °C antes de medir el volumen extraído.

Para inyectables en jeringas prellenadas, armar el envase con los accesorios necesarios, como por ej., aguja o émbolo. Siguiendo el procedimiento descrito anteriormente y sin vaciar la aguja,

presionar el émbolo lenta y constantemente para transferir el contenido de cada envase a un vaso de precipitados seco. Pesar y calcular el volumen extraíble. El volumen de cada envase no es menor que el declarado en el rótulo.

Para soluciones parenterales de gran volumen, seleccionar un envase y transferir el contenido en una probeta graduada y de capacidad tal que el volumen a medir ocupe por lo menos el 40 % de su volumen. El volumen no debe ser menor que el declarado en el rótulo.

Tabla.

Volumen declarado (ml)	Exceso de volumen recomendado	
	Líquidos móviles	Líquidos viscosos
0,5	0,10 ml	0,12 ml
1,0	0,10 ml	0,15 ml
2,0	0,15 ml	0,25 ml
5,0	0,30 ml	0,50 ml
10,0	0,50 ml	0,70 ml
20,0	0,60 ml	0,90 ml
30,0	0,80 ml	1,20 ml
50,0 o más	2 %	3 %

220. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO NETO DEL ENVASE

Los siguientes ensayos y especificaciones se aplican a productos tales como: cremas, geles, jaleas, lociones, ungüentos, pastas, polvos y aerosoles, incluidos los de válvula continua y los dosificadores, presurizados y no presurizados.

Procedimiento para formas farmacéuticas con excepción de aerosoles

Para envases rotulados por peso.

Seleccionar diez envases llenos y quitar todas las etiquetas que puedan afectar la determinación del contenido neto del envase. Limpiar y secar exteriormente los envases y pesar cada envase individualmente. Cortar cada envase y extraer cuantitativamente su contenido lavándolo con un solvente apropiado, si fuera necesario. Secar y pesar nuevamente cada uno de los envases vacíos junto con sus partes correspondientes. La diferencia entre el peso original y el peso del envase vacío es el peso del contenido neto del envase.

Para envases rotulados por volumen.

Verter el contenido de diez envases en sendas probetas y dejar que drenen completamente. Determinar el volumen de cada uno de los diez envases.

Interpretación - El contenido neto promedio de los diez envases no debe ser menor que el declarado y el contenido neto de cualquier envase individual no debe ser menor de 90 % de la cantidad declarada cuando la cantidad declarada es menor o igual a 60 g ó 60 ml; o no menor de 95 % de la cantidad declarada cuando la cantidad declarada es mayor a 60 g ó 60 ml.

Si no se cumple este requisito, determinar el contenido de veinte envases adicionales. El contenido promedio de los treinta envases no debe ser menor de la cantidad declarada y el contenido neto de no más de uno de los treinta envases puede ser menor de 90 % de la cantidad declarada cuando la cantidad declarada es menor o igual a 60 g ó 60 ml; o menor de 95 % de la cantidad declarada cuando la cantidad declarada es mayor a 60 g ó 60 ml.

Procedimiento para aerosoles

Seleccionar diez envases llenos y quitar todas las etiquetas que puedan afectar la determinación del contenido neto del envase. Limpiar y secar exteriormente los envases y pesar cada envase individualmente. Retirar el contenido de cada envase empleando una técnica apropiada, como por ej., enfriar para reducir la presión interna, retirar la válvula y verter.

Eliminar cualquier residuo con solventes apropiados y lavar con porciones de metanol. Calentar a 100 °C durante 5 minutos el envase, la válvula y todas las partes asociadas. Enfriar y pesar nuevamente cada envase completo. La diferencia entre el peso original y el peso del envase vacío es el peso del contenido neto del envase. Determinar el peso del contenido neto para cada envase ensayado. Los requisitos se cumplen si el contenido neto de cada uno de los diez envases no es menor que la cantidad declarada en el rótulo.

230. DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN

El índice de refracción, n , de una sustancia líquida es el cociente entre el seno del ángulo de incidencia, i , de un rayo de luz en el aire, con respecto al seno del ángulo de refracción, r , en el líquido y se expresa por:

$$n = \frac{\text{sen } i}{\text{sen } r}$$

El índice de refracción es una constante física que se emplea a menudo como criterio de pureza.

Muchas de las especificaciones de índice de refracción en esta Farmacopea se definen a temperaturas distintas de 25 °C a pesar de ser esta la temperatura para las mediciones farmacopeicas. La temperatura debe ajustarse cuidadosamente y mantenerse constante a $\pm 0,2$ °C, ya que el índice de refracción varía significativamente con la temperatura.

Los valores de índice de refracción dados en esta Farmacopea son para la línea D del sodio (doblete a 589,0 y 589,6 nm). La mayoría de los aparatos disponibles están diseñados para ser empleados con luz blanca pero se calibran para dar el índice de refracción en función de la línea D del sodio.

Como no es sencillo medir directamente los ángulos de incidencia y de refracción, se han desarrollado sistemas ópticos especiales que se basan en la medida del ángulo límite de reflexión total.

Un aparato universalmente difundido que opera bajo este principio es el refractómetro de Abbe.

El índice de refracción (comúnmente entre 1,3000 y 1,7000) puede ser leído directamente al tercer decimal y estimado al cuarto decimal.

Para lograr la exactitud teórica de $\pm 0,0001$, es necesario calibrar el aparato contra un estándar provisto por el fabricante, verificar con frecuencia el control de temperatura y la limpieza del aparato determinando el índice de refracción del agua, que corresponde a 1,3330 a 20 °C y 1,3325 a 25 °C.

240. DETERMINACIÓN DEL INTERVALO DE DESTILACIÓN

Para determinar el intervalo de temperaturas dentro del cual un líquido destila o el porcentaje de líquido que destila entre dos temperaturas especificadas, emplear el *Método I* o el *Método II* según se especifique en la monografía correspondiente. El límite inferior del intervalo es la temperatura indicada por el termómetro cuando la primera gota del condensado cae del extremo del refrigerante y el límite superior es el punto seco, es decir, la temperatura a la cual la última gota de líquido se evapora del fondo del matraz de destilación, sin tener en cuenta el líquido que pueda quedar en las paredes del matraz, o la temperatura observada al recolectarse la proporción especificada en la monografía correspondiente.

[NOTA: enfriar todos los líquidos que destilan por debajo de 80 °C, entre 10 y 15 °C antes de medir la muestra a destilar].

Método I

Aparato - Consta de:

Balón de destilación - De vidrio resistente al calor, de 50 a 60 ml, con una longitud total de 10 a 12 cm y un cuello de 14 a 16 mm de diámetro interno. A media distancia del cuello, aproximadamente a 12 cm del fondo del balón, posee una salida lateral de 10 a 12 cm de largo y 5 mm de diámetro interno, que forma un ángulo de 70 a 75° con la parte inferior del cuello.

Refrigerante - De vidrio recto, de 55 a 60 cm de longitud con una camisa de enfriamiento de aproximadamente 40 cm de longitud o un refrigerante de otro diseño pero con una capacidad de intercambio equivalente. El extremo inferior del refrigerante puede ser curvo para que actúe como tubo colector o puede conectarse a un adaptador curvo que cumple con el mismo propósito.

Placas aislantes - Dos placas aislantes cuadradas, de 14 a 16 cm de lado, de 5 a 7 mm de espesor, apropiadas para concentrar el calor en la parte inferior del matraz. Cada placa tiene un orificio en su centro y las dos placas difieren sólo en los diámetros de los orificios, que son de 4 y 10 cm, respectivamente. Cuando se emplean, las placas se colocan una sobre la otra en un trípode u otro soporte apropiado, con la placa que tiene el orificio más grande en la parte superior. La perforación de la placa aislante superior, si ésta se emplea, debe ser tal que cuando el balón se fija

sobre ella, la porción del balón que queda por debajo de la superficie superior del material aislante tenga una capacidad de 3 a 4 ml.

Receptor - Una probeta de 100 ml graduada en divisiones de 1 ml.

Termómetro - Para evitar la necesidad de corrección por columna emergente, se recomienda un termómetro calibrado, de inmersión parcial con subdivisiones no mayores de 0,2 °C (ver 720. *Termómetros*). Cuando se coloca en posición, la columna queda ubicada en el centro del cuello y la parte superior del bulbo está a la altura del borde inferior de la salida lateral.

Fuente de calor - Un mechero de Bunsen, un calentador o un manto eléctrico con una capacidad de ajuste comparable a un mechero de Bunsen.

Procedimiento - Armar el aparato y transferir al balón 25 ml del líquido a destilar, evitando que el líquido penetre por la salida lateral. Insertar el termómetro, proteger el mechero y el balón de corrientes de aire externas y aplicar calor, regulándolo para que transcurran entre 5 y 10 minutos hasta que la primera gota del destilado caiga del refrigerante. Continuar la destilación con un flujo de 4 a 5 ml de destilado por minuto, recolectando el destilado en el receptor. Aplicar la corrección por columna emergente, si fuera necesario y corregir la temperatura observada si la presión barométrica no fuera la normal (760 mm Hg), empleando la fórmula siguiente:

$$t_1 = t_2 + K(760 - b)$$

en la cual t_1 es la temperatura corregida, t_2 es la temperatura observada, b es la presión barométrica, en mm Hg, durante la destilación y K es el factor de corrección indicado en la *Tabla*, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente.

Método II

Aparato - Emplear un aparato similar al especificado para el *Método I*, excepto que el balón de destilación es de 200 ml, con un cuello de 17 a 19 cm de largo y 20 a 22 mm de diámetro interno.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Método I*, pero colocaren el balón 100 ml del líquido a destilar.

Tabla. Variación del factor de corrección con la temperatura.

Punto de ebullición (°C)	K
<100	0,04
100 a 140	0,045
140 a 190	0,05
190 a 240	0,055
>240	0,06

250. DETERMINACION DEL pH

El pH es un índice numérico que se emplea para expresar el grado de acidez o alcalinidad de una solución. La determinación del pH se realiza empleando un medidor del pH, calibrado y capaz de reproducir valores de pH con variaciones menores a 0,02 unidades de pH, empleando un electrodo indicador sensible a la actividad del ión hidrógeno, como el electrodo de vidrio, y un electrodo de referencia apropiado, como por ej., calomel o platocloruro de plata. La determinación del pH se realiza mediante la medición de la diferencia de potencial entre el par de electrodos. Las mediciones se hacen a 25 ± 2 °C, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente.

La escala de pH se define por:

$$pH_x = pH_r + \frac{(E_x - E_r)}{k}$$

en la cual pH_x es el pH de la *Solución muestra*, pH_r es el pH de la *Solución de calibración*, E_x y E_r son los potenciales medidos cuando la celda contiene la *Solución muestra* y la *Solución de calibración*, respectivamente. El valor k es el cambio en el potencial por cada unidad de pH y es teóricamente $[0,05916 + 0,000198(t - 25 \text{ °C})]$ voltios a la temperatura t .

Los valores de pH medidos de esta manera no corresponden exactamente a los obtenidos mediante la definición clásica $pH = -\log a_{H^+}$. Cuanto mayor es la similitud entre la composición de la *Solución muestra* y la composición de la *Solución de calibración*, el pH operativo se acerca más al pH teórico.

Conviene destacar que cuando se calibra un medidor del pH empleando una *Solución de calibración* (solución reguladora acuosa) y luego se lo emplea para medir el pH de una solución no acuosa o una suspensión, se modifican la constante de ionización del ácido o la base, la constante dieléctrica del medio, el potencial de contacto de los líquidos de la pila (que puede ocasionar errores de aproximadamente 1 unidad de pH), así como la respuesta a los iones hidrógeno del electrodo empleado. Por estas razones, los valores obtenidos con estas soluciones de carácter parcialmente acuoso, pueden considerarse solamente como valores aparentes de pH.

Soluciones de calibración - Se preparan según se indica en la *Tabla*. Estas soluciones se deben almacenar en envases químicamente resistentes, de cierre perfecto, como por ej., botellas de vidrio

Tipo I. Las soluciones deben emplearse dentro de los 3 meses de preparadas. La *Tabla* indica el pH de las soluciones en función de la temperatura. Las indicaciones que se enuncian en esta sección son para la preparación de soluciones que tienen las concentraciones molares (M).

Tetraoxalato de potasio 0,05 M - Disolver 12,61 g de $KH_3(C_2O_4)_2 \cdot 2H_2O$ en agua hasta obtener 1 litro.

Biftalato de potasio 0,05 M - Disolver 10,21 g de $KHC_8H_4O_4$, previamente secado a 110 °C durante 1 hora, en agua hasta obtener 1 litro.

Fosfato equimolar 0,05 M - Disolver 3,53 g de Na_2HPO_4 y 3,39 g de KH_2PO_4 , previamente secados a 120 °C durante 2 horas, en agua hasta obtener 1 litro.

Tetraborato de sodio 0,01 M - Disolver 3,80 g de $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ en agua hasta obtener 1 litro. Proteger de la absorción de dióxido de carbono.

Hidróxido de calcio saturado a 25 °C - Agitar un exceso de hidróxido de calcio con agua y decantar a 25 °C antes de emplear. Proteger de la absorción de dióxido de carbono.

Debido a las variaciones en la naturaleza y operación de los medidores del pH disponibles, no es práctico dar instrucciones universalmente aplicables para las determinaciones potenciométricas del pH. Los principios generales dados a continuación se deben ajustar a las indicaciones provistas para cada aparato por su fabricante. Antes de su empleo, examinar los electrodos y verificar si está presente el puente salino.

Para calibrar el medidor del pH seleccionar dos *Soluciones de calibración* cuya diferencia de pH no exceda 4 unidades, de manera tal que el pH a determinar esté comprendido entre ambos valores. Llenar un recipiente con una de las *Soluciones de calibración* a la temperatura a la cual se medirá la *Solución muestra*. Fijar el control de temperatura a la temperatura de la solución a medir y ajustar el control de calibración de manera que el valor del pH observado sea idéntico al tabulado. Lavar los electrodos y el recipiente con varias porciones de la segunda *Solución de calibración*, llenar el recipiente con esa solución a la misma temperatura que se debe medir la *Solución muestra*. El pH de la segunda *Solución de calibración* debe estar dentro de $\pm 0,07$ unidades de pH del valor tabulado. Si se observa una desviación mayor, examinar los electrodos y reemplazarlos si presentan defectos.

Ajustar la pendiente o control de temperatura de manera que el valor de pH observado sea idéntico al tabulado. Repetir la calibración hasta que ambas *Soluciones de calibración* den valores de pH dentro de las 0,02 unidades del valor tabulado, sin ajuste adicional de los controles. Cuando el sistema esté funcionando en forma apropiada, lavar los electrodos y el recipiente varias veces con la

Solución muestra. Posteriormente, llenar el recipiente con esta solución y efectuar la medición del pH. Emplear agua para solubilizar o diluir la muestra para las determinaciones del pH.

Cuando sea suficiente un valor aproximado de pH, se pueden emplear indicadores y/o papeles indicadores (ver *Indicadores, Papeles y Papeles indicadores*).

Tabla. Valores de pH de las soluciones para calibración.

Temperatura (°C)	Tetraoxalato de potasio 0,05 M	Biftalato de potasio 0,05 M	Fosfato equimolar 0,05 M	Tetraborato de sodio 0,01 M	Hidróxido de calcio, saturado a 25 °C
10	1,67	4,00	6,92	9,33	13,00
15	1,67	4,00	6,90	9,28	12,81
20	1,68	4,00	6,88	9,23	12,63
25	1,68	4,01	6,86	9,18	12,45
30	1,68	4,02	6,85	9,14	12,29
35	1,69	4,02	6,84	9,10	12,13
40	1,69	4,04	6,84	9,07	11,98
45	1,70	4,05	6,83	9,04	11,84
50	1,71	4,06	6,83	9,01	11,71
55	1,72	4,08	6,83	8,99	11,57
60	1,72	4,09	6,84	8,96	11,45

¹ Se pueden emplear *Soluciones de calibración* de medidores del pH disponibles comercialmente, estandarizadas por métodos reconocidos, rotuladas con un valor de pH exacto a 0,01 unidad de pH y que estén acompañadas de una tabla con los valores de pH a distintas temperaturas.

260. DETERMINACIÓN DEL PUNTO DE FUSIÓN

Los puntos o intervalos de fusión que figuran en esta Farmacopea se definen como las temperaturas o intervalos de temperaturas dentro de las cuales se observa la aglomeración y luego la fusión completa de los sólidos cuando se procede según los métodos indicados a continuación.

Método I

Para muestras que se reducen fácilmente a polvo.

Aparato - Consta de un tubo de vidrio de fondo semiesférico de 30 a 40 mm de diámetro interno y de 12 cm de longitud, el espesor de las paredes no es mayor a 1,5 mm y el vidrio debe ser apto para exponerse directamente a la llama del mechero de Bunsen. Para homogeneizar la temperatura a este recipiente, se le adapta un agitador construido con una varilla de vidrio de 2 mm de diámetro externo. Ambos termómetros, el principal que abarca la escala deseada de temperatura y el auxiliar para corrección de la columna, deben responder a las consideraciones generales (ver 720. *Termómetros*). Consta, además, de un tubo capilar de vidrio, cerrado en uno de sus extremos, de aproximadamente 9 cm de longitud y de 0,8 a 1,2 mm de diámetro interno, cuyas paredes tienen un espesor de 0,2 a 0,3 mm.

Procedimiento - Reducir la muestra a polvo fino y secarla en un desecador al vacío sobre un desecante apropiado durante 24 horas o en las condiciones especificadas en la monografía correspondiente.

Elegir un baño apropiado para la temperatura de fusión que va a determinarse y llenar el recipiente destinado al baño de calefacción hasta un nivel que permita sumergir el termómetro, de modo que la porción superior del bulbo quede 2 a 3 cm debajo de la superficie del baño y el extremo inferior a una distancia aproximadamente igual del fondo del recipiente.

Cargar el tubo capilar seco con suficiente cantidad de polvo hasta formar una columna de 2,5 a 3,5 mm de altura, luego de haberlo comprimido golpeándolo moderadamente sobre una superficie sólida. Unir el tubo capilar al termómetro, ambos humedecidos con el líquido del baño. Ajustar su altura, de modo que la muestra contenida en el capilar quede junto al bulbo del termómetro.

Adaptar el termómetro auxiliar de modo que el centro del bulbo quede lo más cercano posible al

vástago del termómetro principal en un punto equidistante de la superficie del baño y de la división correspondiente al punto de fusión esperado.

Calentar el baño con la llama del mechero hasta alcanzar una temperatura de 30 °C debajo del punto de fusión esperado. Introducir el termómetro con el capilar adherido y continuar el calentamiento de manera tal que la temperatura se eleve a una velocidad de unos 3 °C por minuto, hasta alcanzar una temperatura de 3 °C por debajo del punto de fusión esperado. A partir de ese instante, se debe elevar la temperatura a razón de 1 °C por minuto aproximadamente, hasta que finalice la fusión. La temperatura a la cual se observa que la columna de la muestra comienza a contraerse de manera franca contra las paredes del tubo, en un punto cualquiera, se define como el comienzo de la fusión; y la temperatura a la cual la sustancia se vuelve completamente líquida, se define como término de la fusión. Agitar continuamente el baño durante el calentamiento.

Para establecer exactamente el resultado obtenido como intervalo de fusión conviene repetir la determinación. Para ello, dejar enfriar el baño hasta 10 °C por debajo del punto de fusión o hasta una temperatura más baja y repetir el método descrito empleando nuevos tubos capilares y nuevas porciones de muestra. Anotar la temperatura registrada por el termómetro auxiliar al terminar la fusión de la muestra, si fuera necesario, aplicar la corrección por columna emergente (ver 720. *Termómetros*) empleando la fórmula siguiente:

$$t_c = 0,00016 \times N(T - t)$$

en la cual t_c , representa la corrección que debe agregarse al punto de fusión observado, N el número de grados de la columna del termómetro principal emergente del baño, T la temperatura al terminar la fusión y t la temperatura registrada por el termómetro auxiliar. La corrección se agrega a la lectura del termómetro principal.

Cuando se trata de muestras que funden a temperatura elevada, la determinación es más exacta si el capilar no se introduce en el baño de calefacción hasta que éste se encuentre a una temperatura de 10 °C por debajo del punto de fusión esperado. Esto es necesario cuando la sustancia pueda descomponerse al calentarla largo tiempo.

Los líquidos empleados como baños de calefacción apropiados son la vaselina líquida o

un aceite de silicona, debiéndose considerar para su elección la temperatura a determinar.

Método II

Este método se emplea para muestras que no se reducen fácilmente a polvo.

Procedimiento - Fundir cuidadosamente la muestra a la temperatura más baja posible e introducir el material fundido en un capilar abierto en ambos extremos, hasta formar una columna de unos 10 mm de altura. Enfriar el capilar cargado a una temperatura menor o igual a 10 °C durante aproximadamente 24 horas o a 0 °C durante al menos 2 horas. Unir el capilar al termómetro y cuidar que la muestra en el capilar quede junto al bulbo del termómetro. Introducir en un baño de agua y calentar, según se indica en el *Método I*, excepto que al llegar la temperatura a aproximadamente 5 °C debajo del punto de fusión esperado, se aumenta la temperatura a razón de medio grado por minuto. Se toma como punto de fusión la temperatura a la cual la muestra comienza a ascender dentro del tubo capilar.

Método III

Este método se emplea para el ensayo de vaselina.

Procedimiento - Fundir la muestra, agitando hasta alcanzar una temperatura de 90 a 92 °C y luego dejar enfriar la sustancia fundida hasta una temperatura de 8 a 10 °C sobre el punto de fusión calculado. Enfriar hasta 5 °C el bulbo de un termómetro, secar y, mientras esté aún frío, sumergirlo en la muestra fundida hasta la mitad del bulbo aproximadamente. Retirar inmediatamente y sostener en posición vertical, hasta que la superficie de la muestra depositada sobre el bulbo solidifique, introducir aproximadamente 5 minutos en un baño de agua a una temperatura que no exceda los 16 °C.

Adaptar el termómetro dentro de un tubo de ensayo, por medio de un corcho, de modo que su extremo inferior quede 15 mm por encima del fondo del tubo de ensayo. Suspender el tubo de ensayo en un baño de agua a una temperatura de 16 °C y elevar la temperatura del baño hasta 30 °C, a razón de 2 °C por minuto y luego a razón de 1 °C por minuto, hasta que la primera gota se desprenda del termómetro. La temperatura a la cual esto sucede representa el punto de fusión. Para cada determinación emplear una porción recién fundida de la muestra. Si la variación de tres determinaciones es menor de 1 °C, tomar el promedio. Si la variación es mayor de 1 °C realizar dos determinaciones más y promediar las cinco.

270. DETERMINACIÓN DEL RESIDUO DE IGNICIÓN

Pesar exactamente entre 1 y 2 g de muestra o la cantidad especificada en la monografía correspondiente en un crisol apropiado, previamente sometido a ignición, enfriado y pesado.

Calentar con un mechero, suavemente al principio y luego con mayor intensidad, hasta que la muestra se carbonice totalmente, evitando proyecciones y enfriar. Humedecer el residuo con 1 ml de ácido sulfúrico, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente. Calentar suavemente hasta que no se desprendan más vapores blancos y someter a ignición a 800 ± 50 °C a menos que se especifique otra temperatura en la monografía correspondiente, hasta que el residuo carbonoso se consuma. Enfriar en un desecador, pesar y calcular el porcentaje del residuo. Si la cantidad de residuo obtenido es mayor al límite especificado en la monografía correspondiente, humedecer nuevamente el residuo con 1 ml de ácido sulfúrico, calentar y someter a ignición como se indicó anteriormente y nuevamente calcular el porcenta-

je del residuo. Continuar la ignición hasta peso constante, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente.

Realizar la ignición bajo una campana extractora bien ventilada, pero protegida de las corrientes de aire y a la menor temperatura necesaria para lograr la combustión completa del residuo carbonoso. Puede emplearse una mufla, si se desea, y su uso se recomienda para la ignición final a 800 ± 50 °C.

Comprobar la exactitud de la medición y el sistema de circuitos de la mufla mediante el control de la temperatura en diferentes puntos del horno. Colocar la muestra en la posición más apropiada de acuerdo con las condiciones del método a aplicar. La variación de temperatura tolerada es de ± 25 °C para cada punto evaluado.

La calibración de la mufla debe llevarse a cabo mediante el empleo de un medidor de temperatura digital y una termocupla validada.

280. DISOLUCION COMPLETA

Colocar la cantidad de sustancia especificada en la monografía correspondiente en una probeta de vidrio de 10 ml, con tapa, perfectamente limpia.

Empleando el solvente especificado en la monografía correspondiente o en el rótulo del

producto, llenar la probeta. Agitar suavemente para favorecer la disolución: la solución no debe ser menos transparente que un volumen igual del mismo solvente contenido en una probeta similar examinada de la misma manera.

290. DISTRIBUCIÓN DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA EN POLVOS

El tamizado es el método generalmente empleado para determinar la granulometría de los polvos de uso farmacéutico. Es particularmente útil cuando la mayoría de las partículas son mayores de 100 μm .

Los tamices se fabrican preferentemente de acero inoxidable, bronce u otro material inerte. Constan de una malla de alambre tejido, con hilos simples y de aberturas cuadradas o casi cuadradas, la cual se fija a la base de un cilindro abierto.

La granulometría de los polvos se caracteriza en términos descriptivos, según la abertura nominal del tamiz por donde pasa dicho polvo. De esta manera se reconocen los siguientes tipos de polvos:

Polvo grueso - No menos de 100 % pasa a través de un tamiz N° 1,7 y no más de 40 % pasa a través de un tamiz N° 355.

Polvo moderadamente grueso - No menos de 100 % pasa a través de un tamiz N° 710 y no más de 40 % pasa a través de un tamiz N° 250.

Polvo moderadamente fino - No menos de 95 % pasa a través de un tamiz N° 355 y no más de 40 % pasa a través de un tamiz N° 180.

Polvo fino - No menos de 95 % pasa a través de un tamiz N° 180 y no más de 40 % pasa a través de un tamiz N° 125.

Polvo muy fino - No menos de 95 % pasa a través de un tamiz N° 125 y no más de 40 % pasa a través de un tamiz N° 90.

Las denominaciones empleadas para los tamices se detallan en la *Tabla* junto con la abertura nominal de cada uno. Como regla general en esta Farmacopea

se emplea la denominación recomendada por la norma ISO 3310-1990.

Método de tamizado

El método analítico consiste en colocar los tamices, indicados en la *Tabla*, uno sobre otro en orden creciente de abertura y luego transferir la muestra al tamiz superior. El conjunto de tamices se agita mediante un dispositivo mecánico que pueda impartir a los tamices ya sea un movimiento rotatorio con golpes de asentamiento (de 200 a 300 revoluciones horizontales y con 150 a 200 golpes de asentamiento por minuto) o un movimiento vibratorio (1 a 2 mm de amplitud), a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente. Luego se determina el peso del material retenido en cada tamiz. Los resultados se expresan en porcentaje de peso de polvo en cada uno de los intervalos determinados por el tamaño de abertura de los tamices.

Polvos gruesos y moderadamente gruesos: colocar de 25 a 100 g de muestra sobre un tamiz, normatizado. Agitar durante no menos de 20 minutos o hasta completar el pasaje del polvo. Determinar el peso de la muestra que atravesó la malla y el peso de la muestra remanente en el tamiz.

Polvos moderadamente finos, finos o muy finos: proceder según se indica en *Polvos gruesos y moderadamente gruesos* empleando cantidades que no excedan los 25 g y agitando no menos de 30 minutos.

Para los polvos que tiendan a obturar las aberturas del tamiz cepillar cuidadosamente las mismas periódicamente durante el ensayo.

Tabla. Denominaciones y tamaño de abertura de tamices

Denominaciones		Tamaño nominal de la abertura
ISO 3310(1990)	ASTM E11-70	
2	10	2,00 mm
1,7	12	1,70 mm
1,4	14	1,40 mm
850	20	850 μm
710	25	710 μm
500	35	500 μm
425	40	425 μm
355	45	355 μm
300	50	300 μm
250	60	250 μm
212	70	212 μm

180	80	180 μm
150	100	150 μm
125	120	125 μm
90	170	90 μm
75	200	75 μm
45	325	45 μm

*ASTM E 11 US: American Society for Testing and Materials Specification E 11 U.S. Standard Sieve Series.

300. ELECTROFORESIS

Las partículas cargadas, disueltas o dispersas en una solución electrolítica migran hacia el electrodo de polaridad opuesta, bajo la acción de un campo eléctrico.

En la electroforesis en gel, el desplazamiento de las partículas se retarda por las interacciones con la matriz de gel que constituye el medio de migración y se comporta como un tamiz molecular. Las interacciones entre las fuerzas eléctricas y la tamización molecular dan lugar a una velocidad de migración diferencial según el tamaño, la forma y la carga de las partículas. Las diferentes macromoléculas presentes en una mezcla migran a diferentes velocidades durante el proceso electroforético, debido a sus propiedades fisicoquímicas, separándose en fracciones concretas.

Las separaciones electroforéticas se pueden realizar sin soporte, como por ej., en la electroforesis capilar en solución libre o en medios estabilizantes como placas de capa delgada, películas y geles.

ELECTROFORESIS DE LIBRE MIGRACIÓN O FRONTAL

Este método se emplea fundamentalmente para determinar movilidades electroforéticas experimentalmente y se caracteriza por brindar medidas directas y reproducibles. Se aplica principalmente a sustancias de alto peso molecular y poco difundibles. Las bandas se localizan en principio mediante un método físico como refractometría o conductimetría. Luego de la aplicación de un campo eléctrico definido durante un tiempo exactamente medido, se observa la ubicación de las nuevas bandas obtenidas. Las condiciones operativas deben ser tales que permitan obtener tantas bandas como componentes haya en la muestra.

ELECTROFORESIS SOBRE UN SOPORTE O ELECTROFORESIS DE ZONA

Este método requiere el empleo de cantidades de muestra reducidas.

Existen diferentes tipos de soportes, como papel, gel de agar, acetato de celulosa, almidón, agarosa, metacrilamida y gel mixto. La naturaleza del soporte introduce numerosos factores que modifican la movilidad:

a) debido a las sinuosidades de los canalículos del soporte, la distancia recorrida aparentemente es menor que la real;

b) algunos soportes no son eléctricamente neutros; esto provoca, en muchas ocasiones, un flujo electroosmótico importante;

c) efectos de calentamiento debidos al efecto joule pueden provocar evaporación del solvente desde el soporte y por capilaridad, ocurriendo un movimiento de la solución desde los extremos hacia el centro. Por lo tanto, la fuerza iónica, tiende a aumentar progresivamente.

La velocidad de migración depende fundamentalmente de cuatro factores: movilidad de la partícula cargada, flujo electroosmótico, flujo de evaporación y campo eléctrico. Por lo tanto, es necesario trabajar en condiciones experimentales claramente definidas y emplear, siempre que sea posible, *Sustancias de referencia*.

Aparato - Consta de:

- *Generador de corriente continua*, cuyo voltaje se pueda controlar y estabilizar.

- *Cubeta electroforética*. Generalmente son rectangulares, de vidrio o plástico rígido, con dos compartimentos separados, el anódico y el catódico, que contienen la solución de electrolito. En cada compartimento se introduce un electrodo de, por ej., platino o grafito; los cuales se conectan por medio de un circuito convenientemente aislado a los correspondientes terminales del *Generador de corriente continua* para constituir el ánodo y el cátodo. El nivel de líquido en ambos compartimentos se debe mantener igualado para prevenir efecto sifón.

La cubeta electroforética se cierra herméticamente para mantener un ambiente saturado de humedad durante todo el proceso y reducir la evaporación de solvente. Se puede emplear un dispositivo de seguridad que corte el paso de corriente eléctrica cuando se levanta la tapa. Si la potencia eléctrica que pasa a través del soporte excede los 10 W, es recomendable refrigerar el soporte.

- *Dispositivo portasoportes*:

Para electroforesis en tiras. La tira soporte, previamente humedecida con la solución conductora y con los extremos sumergidos en los correspondientes compartimentos electrolíticos, se fija y se tensa sobre un portasoporte apropiado, diseñado para prevenir la difusión del electrolito conductor de la corriente eléctrica, como un bastidor horizontal, un caballete en V invertida o una superficie uniforme con puntos de contacto a intervalos apropiados.

Para electroforesis en gel. El dispositivo consta esencialmente de una placa de vidrio (por ej., un portaobjetos de microscopio) sobre la que se deposita, en la totalidad de su superficie, una capa firmemente adherida de gel de espesor uniforme. La conexión entre el gel y la solución conductora se realiza de varios modos, dependiendo del tipo de aparato empleado. Se deben tomar precauciones para evitar la condensación de humedad o el desecado de la capa sólida.

- *Dispositivo de medida o medio de detección.*

Procedimiento - Transferir la solución del electrolito a los compartimentos electródicos. Colocar el soporte apropiadamente impregnado con el electrolito en la cubeta según las condiciones indicadas para el tipo de aparato empleado. Localizar la zona de aplicación y aplicar la muestra. Aplicar la corriente eléctrica durante el tiempo especificado. Luego de desconectar la corriente, retirar el soporte de la cubeta electroforética, secar y revelar.

ELECTROFORESIS SOBRE GEL CILÍNDRICO DE POLIACRILAMIDA

En la electroforesis sobre gel cilíndrico de poli(acrilamida), la fase estacionaria está constituida por un gel preparado con una mezcla de acrilamida y N,N'-metileno-bisacrilamida; los geles se preparan en tubos, generalmente de 0,5 cm de diámetro interno y 7,5 cm de longitud; en cada tubo se aplica una sola muestra.

Aparato - Consta de dos compartimentos destinados a las soluciones reguladoras, fabricados con un material apropiado como polimetacrilato de metilo, dispuestos en posición vertical uno arriba del otro. Cada compartimento está provisto de un electrodo de platino que se conecta con un generador de corriente continua que permite trabajar a intensidad constante o voltaje constante. Para los geles cilíndricos, el compartimento superior está provisto en su base de varios dispositivos para los tubos situados equidistantes al electrodo.

Procedimiento - [NOTA: se recomienda desgasificar las soluciones antes de la polimerización y emplear el gel inmediatamente después de su preparación]. Preparar la mezcla de geles según se especifica en la monografía correspondiente. Verter la mezcla de gel en tubos apropiados, tapados en la parte inferior, igualar el nivel de gel en cada uno de los tubos y rellenar hasta 1 cm del borde superior. Evitar que queden burbujas de aire atrapadas en el interior de los tubos. Cubrir la mezcla de gel con una capa de agua para evitar el contacto con el aire y dejar

reposar para que ocurra la gelificación. Por lo general, la formación del gel requiere aproximadamente 30 minutos y se completa cuando se produce una interfase nítida entre el gel y la capa de agua. Eliminar la capa de agua, rellenar el compartimento inferior con la solución reguladora indicada en la monografía correspondiente y destapar los tubos. Introducir los tubos en los dispositivos del compartimento superior y ajustarlos de modo que la parte inferior de los tubos se encuentre inmersa en la solución reguladora del compartimento inferior. Rellenar los tubos cuidadosamente con la solución reguladora especificada. Preparar la solución muestra y la solución de referencia con el identificador especificado y aumentar la densidad de estas soluciones mediante el agregado de sacarosa. Aplicar ambas soluciones en la superficie del gel, empleando un tubo diferente para cada solución. Agregar la misma solución reguladora en el compartimento superior. Conectar los electrodos al generador de corriente y desarrollar la electroforesis a la temperatura y el voltaje o intensidad de corriente constantes especificados en la monografía correspondiente.

ELECTROFORESIS EN GEL DE POLIACRILAMIDA CON DODECIL SULFATO DE SODIO (SDS-PAGE)

La electroforesis en gel de poli(acrilamida) se emplea con fines de caracterización cualitativa de proteínas en preparaciones biológicas, control de pureza y determinaciones cuantitativas.

La electroforesis analítica en gel es un método apropiado para identificar y controlar la homogeneidad de las proteínas en productos farmacéuticos. También se emplea para estimar los pesos moleculares de subunidades proteicas y para determinar las subunidades que componen las proteínas purificadas.

Características de los geles de poli(acrilamida)

Las propiedades de tamización de los geles de poli(acrilamida) se deben a su particular estructura, una red tridimensional de fibras y poros obtenida mediante enlaces cruzados de unidades de bisacrilamida bifuncionales con cadenas adyacentes de poli(acrilamida). La polimerización se cataliza a través de un generador de radicales libres constituido por persulfato de amonio y tetrametilendiamina.

Si se aumenta la concentración de acrilamida del gel, disminuye su tamaño de poro efectivo. Este se define, desde el punto de vista operativo, por sus propiedades de tamización molecular; es decir, la resistencia con la que se opone a la migración de

macromoléculas. Las concentraciones de acrilamida que se pueden emplear se encuentran dentro de ciertos límites ya que a altas concentraciones los geles se rompen con mayor facilidad y su manejo es más dificultoso.

Cuando el tamaño de poro disminuye, la velocidad de migración de la molécula a través del gel decrece. La resolución para un producto determinado se puede optimizar ajustando el tamaño de poro del gel o modificando la concentración de acrilamida. Por lo tanto, las características físicas de un gel determinado dependen de su contenido de acrilamida y de bisacrilamida.

Además de la composición del gel, el estado de la molécula constituye un factor importante que afecta la movilidad electroforética. Para las proteínas, la movilidad electroforética depende del pK de los grupos cargados y del tamaño de la molécula; siendo afectada también por la naturaleza, concentración y pH de la solución reguladora, la temperatura, la intensidad del campo eléctrico aplicado y la naturaleza del material del soporte.

Electroforesis en gel de poliacrilamida con desnaturalización

Este método se emplea para el análisis de monómeros polipeptídicos de peso molecular comprendido entre 14.000 y 100.000.

La electroforesis en gel de poliacrilamida con desnaturalización, empleando dodecilsulfato de sodio (SDS-PAGE), es la técnica electroforética más empleada para la evaluación de la calidad de productos proteicos. De modo general, la electroforesis analítica de proteínas se realiza en geles de poliacrilamida en condiciones en las que se asegure la disociación de las proteínas en sus subunidades polipeptídicas individuales, limitándose los procesos de agregación. Se emplea frecuentemente para disociar las proteínas antes de la aplicación en el gel, el dodecilsulfato de sodio (SDS), un detergente aniónico fuerte, en combinación con calor. Los polipéptidos desnaturalizados se unen al SDS, adquieren carga negativa y presentan una relación carga/masa constante, independientemente del tipo de proteína considerada. La cantidad de SDS es casi siempre proporcional al peso molecular del polipéptido y es independiente de su secuencia ya que los complejos SDS-polipéptido migran a través de los geles de poliacrilamida con movilidades que dependen del tamaño del polipéptido.

Las movilidades electroforéticas de los complejos SDS-polipéptido resultantes presentan siempre la misma relación funcional con los pesos

moleculares. La migración de los complejos SDS-polipéptido se efectúa hacia el ánodo, a una velocidad superior para los complejos de peso molecular más bajo que para aquéllos con peso molecular alto. De este modo, es posible estimar el peso molecular de una proteína a partir de su movilidad relativa en un método SDS-PAGE calibrado, siendo la presencia de una única banda en dicho gel un criterio de pureza.

Las eventuales modificaciones del esqueleto polipeptídico, como por ej., una *O*- o *N*-glicosilación, tiene un impacto significativo sobre el peso molecular aparente de la proteína ya que el SDS no se une del mismo modo a los grupos glucídicos que a los grupos polipeptídicos, por lo que en este caso no se mantiene constante la relación carga/masa.

Condiciones reductoras - La asociación de las subunidades polipeptídicas y la estructura tridimensional de las proteínas se mantiene fundamentalmente por la existencia de enlaces disulfuro. Uno de los objetivos de la separación SDS-PAGE en condiciones reductoras es la ruptura de esta estructura por reducción de los enlaces disulfuro. La desnaturalización y disociación completa de las proteínas por tratamiento con 2-mercaptoetanol o ditioneitol (DTT) da lugar a un desdoblamiento de la cadena polipeptídica, seguido de la formación de un complejo con el SDS. En estas condiciones, el peso molecular de las subunidades polipeptídicas se puede calcular por regresión lineal en presencia de patrones con pesos moleculares apropiados.

Condiciones no reductoras - Para algunos análisis no es aconsejable la disociación completa de la proteína en subunidades peptídicas. Si no se emplean agentes reductores como el 2-mercaptoetanol o DTT, los enlaces covalentes disulfuro permanecen intactos manteniéndose la forma oligomérica de la proteína. Los complejos SDS-proteína oligomérica migran más lentamente que sus subunidades SDS-polipéptido. Además, las proteínas no reducidas no se pueden saturar completamente con SDS y por lo tanto, no pueden unirse al detergente en una proporción de masa constante. Esto hace que la determinación del peso molecular de estas moléculas por SDS-PAGE sea más difícil que los análisis de los polipéptidos totalmente desnaturalizados, ya que es necesario que tanto las proteínas patrón como las proteínas de la muestra presenten configuraciones similares para que se puedan comparar. Sin embargo, la obtención en el gel de una sola banda coloreada es un criterio de pureza.

CARACTERÍSTICAS DE LA ELECTROFORESIS EN GEL CON SISTEMA REGULADOR DISCONTINUO

El método electroforético más usado para la caracterización de mezclas complejas de proteínas se basa en el empleo de un sistema regulador discontinuo consistente en dos geles contiguos pero distintos: un gel inferior, llamado gel de separación o de resolución, y otro superior, gel de apilamiento. Estos dos geles presentan porosidad, pH y fuerzas iónicas diferentes. Además se emplean iones con diferentes movilidades iónicas en el gel y en la solución reguladora. La discontinuidad del sistema provoca una concentración de las muestras de mayor tamaño en el gel de apilamiento y por lo tanto se mejora la resolución. Cuando se aplica la corriente eléctrica, se desarrolla un gradiente de potencial negativo a través de la solución muestra que conduce a las proteínas hacia el gel de apilamiento. Los iones glicinato contenidos en la solución reguladora empujan a las proteínas hacia el gel de apilamiento. Se forma rápidamente una zona de frente móvil cuya cabecera está constituida por iones cloruro de alta movilidad, seguidos de iones glicinato más lentos en la cola. Se produce un gradiente de alto voltaje localizado entre los frentes iónicos de cabeza y cola, provocando que los complejos SDS-proteína se concentren en una zona muy estrecha (apilamiento) y migren entre las fases de cloruro y glicinato. Independientemente del volumen de muestra aplicado, el conjunto de complejos SDS-proteína se condensa en una región muy estrecha y penetran en el gel de separación en forma de banda estrecha, bien definida y de alta densidad proteica. El gel de apilamiento, de tamaño de poro, grande, no retarda la migración de la mayoría de las proteínas y actúa principalmente como medio anticonvectivo. En la interfase de ambos geles, las proteínas experimentan un incremento brusco de retardo electroforético debido al menor tamaño de poro del gel de resolución. Una vez que se encuentran en este gel, las proteínas continúan avanzando lentamente por el efecto de tamización molecular que ejerce la matriz. Los iones glicinato migran por delante de las proteínas, por lo que éstas se mueven en un medio de pH uniforme formado por el tris(hidroximetil)amino-metano y la glicina. La tamización molecular hace que la separación de los complejos SDS-polipéptido se base en sus correspondientes pesos moleculares.

PREPARACIÓN DE GELES DE POLIACRILAMIDA SDS VERTICALES CON SISTEMA REGULADOR DISCONTINUO

Preparación de los geles

En un gel de poliacrilamida con sistema regulador discontinuo, se recomienda verter el gel de resolución, dejar polimerizar y a continuación verter el gel de apilamiento ya que la constitución de los dos geles de acrilamida-bisacrilamida es diferente.

Preparación del gel de resolución - En un erlenmeyer, preparar el volumen apropiado de la solución de acrilamida que contenga la concentración deseada para el gel de resolución, empleando los valores indicados en la *Tabla 1*. Mezclar los componentes en el orden indicado. Antes del agregado de la solución de persulfato de amonio y del tetrametiletilendiamina (TEMED), filtrar la solución, si fuera necesario, empleando vacío, a través de una membrana de acetato de celulosa (de 0,45 mm de diámetro); mantener la solución bajo vacío por rotación de la unidad de filtración hasta que no se formen más burbujas. Agregar las cantidades apropiadas de solución de persulfato de amonio y de TEMED indicadas en la *Tabla 1*, agitar y verter rápidamente en el espacio de separación entre las dos placas de vidrio del molde. Dejar espacio suficiente para el gel de apilamiento (la longitud de un diente del peine más 1 cm). Empleando una pipeta de vidrio de punta larga, recubrir la solución con isobutanol saturado con agua. Dejar el gel en posición vertical a temperatura ambiente para que se produzca la polimerización.

Preparación del gel de apilamiento - Luego de la polimerización completa del gel de resolución (aproximadamente 30 minutos), retirar la capa superior de isobutanol y lavar varias veces con agua la parte superior del gel para eliminar la capa de isobutanol y la posible acrilamida no polimerizada. Eliminar la mayor cantidad posible de líquido de la superficie del gel eliminando el resto de agua con la ayuda de un papel de filtro.

En un erlenmeyer, preparar un volumen apropiado de solución que contenga la concentración requerida para el gel de resolución, según se indica en la *Tabla 2*. Mezclar los componentes en el orden indicado. Antes del agregado de la solución de persulfato de amonio y del tetrametiletilendiamina, filtrar la solución, si fuera necesario, empleando vacío, a través de una membrana de acetato de celulosa (de 0,45 mm de diámetro); mantener la solución bajo vacío por rotación de la unidad de filtración hasta que no se formen más burbujas. Agregar las cantidades apropiadas de solución de persulfato de amonio y de TEMED, indicadas en la *Tabla 2*, agitar y verter rápidamente en el espacio de separación entre las dos placas de vidrio del molde, directamente sobre la superficie del gel de resolución polimerizado. De

inmediato, insertar un peine limpio de politetrafluoroetileno en la solución del gel de apilamiento, evitando la formación de burbujas de aire. Agregar más solución del gel de apilamiento hasta rellenar completamente los espacios del peine. Colocar el gel en posición vertical y dejar polimerizar a temperatura ambiente.

Montaje del gel en el equipo de electroforesis y separación electroforética

Solución reguladora de desarrollo SDS-PAGE - Disolver en agua 151,4 g de tris(hidroximetil)aminoetano, 721,0 g de glicina y 50,0 g de lauril sulfato de sodio, y completar a 5 litros con agua. Inmediatamente antes del uso, diluir 10 veces su volumen con agua y mezclar. El pH de esta solución debe estar comprendido entre 8,1 y 8,8.

Procedimiento - Una vez completada la polimerización (aproximadamente 30 minutos), retirar cuidadosamente el peine de politetrafluoroetileno y lavar los pocitos, de inmediato, con agua o *Solución reguladora de desarrollo SDS-PAGE* para eliminar la posible acrilainida no polimerizada. Recortar los dientes del gel de apilamiento, si fuera necesario, con una aguja hipodérmica roma fijada a una jeringa. Quitar las pinzas de uno de los lados cortos, retirar el tubo con precaución y volver a colocarlas. Proceder del mismo modo en el otro. Retirar el tubo de la parte inferior del gel, montar el gel en el aparato de electroforesis y agregar las soluciones reguladoras en los compartimentos superior e inferior. Eliminar las burbujas que se formen en la parte inferior del gel, entre las dos placas de vidrio; preferiblemente efectuar este procedimiento con una aguja hipodérmica doblada fijada a una jeringa. [NOTA: nunca realizar un predesarrollo sin muestras ya que se destruye la discontinuidad de los sistemas reguladores]. Antes de aplicar las muestras, lavar cuidadosamente la ranura con *Solución reguladora de desarrollo SDS-PAGE*. Preparar la solución muestra y la solución de referencia en el medio recomendado y proceder según se especifica en la monografía correspondiente. Aplicar el volumen apropiado de cada solución en los pocitos del gel de apilamiento y desarrollar la electroforesis. En ocasiones resulta necesario modificar el tiempo y la relación intensidad/voltaje, para obtener una separación óptima. Comprobar que el frente del indicador se desplace en el gel de resolución. Cuando el indicador alcance la parte inferior del gel, detener la electroforesis. Retirar el montaje del gel del aparato y separar las placas de vidrio. Retirar los

espaciadores, cortar y tirar el gel de apilamiento y proceder inmediatamente a la tinción.

DETECCIÓN DE PROTEÍNAS EN GELES

Todas las etapas de tinción de geles se realizan a temperatura ambiente con agitación suave (por ej., en una placa de movimiento giratorio) en un recipiente apropiado.

Tinción con Coomassie - Es el método de tinción de proteínas más empleado, con un nivel de detección del orden de 1 a 10 µg de proteína por banda.

Solución colorante de Coomassie - Disolver 1,25 g de Azul brillante de Coomassie R-250 en 1 litro de una mezcla de agua, metanol y ácido acético glacial (5:4:1).

Solución de decoloración - Emplear una mezcla de agua, metanol y ácido acético glacial (5:4:1).

Procedimiento - Sumergir el gel en un exceso de *Solución colorante de Coomassie* y dejar en contacto por lo menos durante 1 hora. Eliminar la *Solución colorante de Coomassie*. Decolorar el gel con un exceso de *Solución de decoloración*. Cambiar la *Solución de decoloración* varias veces hasta que las bandas de proteínas teñidas se distingan nítidamente sobre un fondo claro. Cuanto más se lave, menor será la cantidad de proteína que se pueda detectar. La decoloración se puede acelerar agregando en la *Solución de decoloración* algunos gramos de resina de intercambio aniónico.

[NOTA: las soluciones ácido-alcohólicas empleadas en este procedimiento no fijan por completo las proteínas en el gel. Esto puede conducir a la pérdida de algunas proteínas de bajo peso molecular durante el proceso de tinción y decoloración de geles finos. La fijación permanente se obtiene introduciendo el gel en una mezcla de agua, metanol y ácido tricloroacético (5:4:1) durante 1 hora antes de introducirlo en la *Solución colorante de Coomassie*.]

Tinción con plata - Es el método más sensible para proteínas teñidas en geles y permite detectar bandas que contengan 10 a 100 ng de proteína.

Reactivo de nitrato de plata - A una mezcla de 3 ml de amoníaco concentrado y 40 ml de hidróxido de sodio 1 M, agregar 8 ml de una solución al 20 % de nitrato de plata, gota a gota, y con agitación. Diluir con agua a 200 ml.

Solución de fijación. - A 250 ml de metanol, agregar 0,27 ml de solución de formaldehído al 35 % y diluir con agua a 500 ml.

Solución de desarrollo - Diluir 2,5 ml de una solución al 2 % de ácido cítrico y 0,27 ml de solución de formaldehído al 35 % con agua a 500 ml.

Solución de bloqueo - Emplear una solución al 10 % v/v de ácido acético.

Procedimiento - Introducir el gel en exceso en *Solución de fijación* durante 1 hora. Eliminar la *Solución de fijación*, agregarla de nuevo e incubar otra vez durante por lo menos 1 hora o durante toda la noche, si es conveniente. Eliminar la *Solución de fijación* y lavar el gel con abundante agua durante 1 hora. Embeber el gel durante 15 minutos en una solución de glutaraldehído al 1 % v/v. Lavar el gel dos veces durante 15 minutos con abundante agua. Embeber el gel en *Reactivo de nitrato de plata* recientemente preparado, durante 15 minutos, en la oscuridad. Lavar el gel tres veces durante 5 minutos con abundante agua, sumergirlo durante aproximadamente 1 minuto en *Solución de desarrollo* hasta que se obtenga una tinción satisfactoria. Detener el desarrollo por incubación en *Solución de bloqueo* durante 15 minutos y lavar el gel con agua.

DESECADO DE GELES DE POLIACRILAMIDA SDS TEÑIDOS

Los geles se someten a diferentes tratamientos, dependiendo del método empleado para teñirlos. Cuando se emplea *Tinción con Coomassie*, luego de la etapa de decoloración, colocar el gel en una solución al 10 % de glicerol durante por lo menos 2 horas, siendo posible una incubación durante toda la noche. Cuando se emplea *Tinción con plata*, al finalizar el proceso de lavado, sumergir los geles en una solución al 2 % de glicerol, durante 5 minutos.

Sumergir dos hojas de celulosa porosa en agua durante 5 a 10 minutos, colocar una de las hojas en el cuadro de secado, levantar el gel cuidadosamente y colocarlo sobre la hoja de celulosa. Eliminar las burbujas de aire que eventualmente puedan haber sido retenidas y algunos ml de agua a lo largo de los bordes del gel. Recubrir con la segunda hoja de papel y eliminar nuevamente las posibles burbujas de aire retenidas. Colocar en estufa para completar el secado o dejar secar a temperatura ambiente.

DETERMINACIÓN DE PESO MOLECULAR

El peso molecular de las proteínas se determina mediante comparación de sus respectivas movilidades con las de varios marcadores de peso molecular conocido. Para la calibración de los geles se dispone de mezclas de proteínas de peso molecular conocido, que permiten obtener una tinción uniforme. Las soluciones madre

concentradas de proteínas de peso molecular conocido preparadas en la solución reguladora de muestra se aplican en el mismo gel contiene la muestra de la proteína a analizar.

Inmediatamente después del desarrollo electroforético, señalar la posición del indicador, azul de bromofenol, para identificar el frente de migración de los iones. Después de la tinción, medir las distancias de migración de cada banda proteica (marcadores y muestras). Dividir la distancia de migración de cada proteína por la distancia de migración del indicador. Las distancias de migración normalizadas así obtenidas se denominan movilidades relativas de las proteínas (relativas al frente del indicador) y, por convención, se expresan como R_f . Graficar el logaritmo de los pesos moleculares relativos (M_r) de las proteínas patrón en función de los valores de R_f . Los pesos moleculares desconocidos se pueden determinar por regresión lineal o por interpolación a partir de las curvas obtenidas; los valores obtenidos para las muestras se deben encontrar contenidos en la parte lineal del gráfico.

VALIDACIÓN DEL ENSAYO

El ensayo sólo es válido si las proteínas empleadas como marcadores de pesos moleculares se distribuyen a lo largo del 80 % de la longitud del gel y además si, en el intervalo de separación requerido, la separación obtenida para las bandas de proteínas relevantes, presenta una relación lineal entre el logaritmo de peso molecular y el R_f . En la monografía correspondiente se especifican los requisitos de validación adicionales referentes a la solución muestra.

CUANTIFICACIÓN DE IMPUREZAS

Cuando en la monografía se especifica el límite de impurezas, se debe preparar una solución de referencia correspondiente al nivel de impureza especificado, por dilución de la solución muestra. En el electroforegrama obtenido a partir de la solución muestra, ninguna impureza (ni ninguna banda, a excepción de la principal) puede ser más intensa que la banda principal obtenida a partir de la solución de referencia.

Cuando se trabaja en las condiciones validadas, es posible cuantificar las impurezas por normalización con relación a la banda principal, empleando un densitómetro. En estos casos, se debe comprobar la linealidad de las repuestas.

Tabla 1. Preparación del gel de resolución.

Componentes de la solución de acrilamida	Volumen de cada componente por volumen de gel de moldeado (ml)							
	5	10	15	20	25	30	40	50
6 %								
Agua	2,6	5,3	7,9	10,6	13,2	15,9	21,2	26,5
Solución de acrilamida ⁽¹⁾	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	8,0	10,0
Tris pH 8,8 (1,5 M) ⁽²⁾	1,3	2,5	3,8	5,0	6,3	7,5	10,0	12,5
SDS 10 % ⁽³⁾	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
PSA 10 % ⁽⁴⁾	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
TEMED ⁽⁵⁾	0,004	0,008	0,012	0,016	0,02	0,024	0,032	0,04
8 %								
Agua	2,3	4,6	6,9	9,3	11,5	13,9	18,5	23,2
Solución de acrilamida ⁽¹⁾	1,3	2,7	4,0	5,3	6,7	8,0	10,7	13,3
Tris pH 8,8 (1,5 M) ⁽²⁾	1,3	2,5	3,8	5,0	6,3	7,5	10,0	12,5
SDS 10 % ⁽³⁾	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
PSA 10 % ⁽⁴⁾	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
TEMED ⁽⁵⁾	0,003	0,006	0,009	0,012	0,015	0,018	0,024	0,03
10 %								
Agua	1,9	4,0	5,9	7,9	9,9	11,9	15,9	19,8
Solución de acrilamida ⁽¹⁾	1,7	3,3	5,0	6,7	8,3	10,0	13,3	16,7
Tris pH 8,8 (1,5 M) ⁽²⁾	1,3	2,5	3,8	5,0	6,3	7,5	10,0	12,5
SDS 10 % ⁽³⁾	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
PSA 10 % ⁽⁴⁾	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
TEMED ⁽⁵⁾	0,002	0,004	0,006	0,008	0,01	0,012	0,016	0,02
12 %								
Agua	1,6	3,3	4,9	6,6	8,2	9,9	13,2	16,5
Solución de acrilamida ⁽¹⁾	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0	12,0	16,0	20,0
Tris pH 8,8 (1,5 M) ⁽²⁾	1,3	2,5	3,8	5,0	6,3	7,5	10,0	12,5
SDS 10 % ⁽³⁾	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
PSA 10 % ⁽⁴⁾	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
TEMED ⁽⁵⁾	0,002	0,004	0,006	0,008	0,01	0,012	0,016	0,02

Tabla 1 - continuación. Preparación del gel de resolución.

Componentes de la solución de acrilamida	Volumen de cada componente por volumen de gel de moldeado (ml)							
	5	10	15	20	25	30	40	50
14 %								
Agua	1,4	2,7	3,9	5,3	6,6	8,0	10,6	13,8
Solución de acrilamida ⁽¹⁾	2,3	4,6	7,0	9,3	11,6	13,9	18,6	23,2
Tris pH 8,8 (1,5 M) ⁽²⁾	1,2	2,5	3,6	5,0	6,3	7,5	10,0	12,5
SDS 10 % ⁽³⁾	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
PSA 10 % ⁽⁴⁾⁻	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
TEMED ⁽⁵⁾	0,002	0,004	0,006	0,008	0,01	0,012	0,016	0,02
15 %								
Agua	1,1	2,3	3,4	4,6	5,7	6,9	9,2	11,5
Solución de acrilamida ⁽¹⁾	2,5	5,0	7,5	10,0	12,5	15,0	20,0	25,0
Tris pH 8,8 (1,5 M) ⁽²⁾	1,3	2,5	3,8	5,0	6,3	7,5	10,0	12,5
SDS 10 % ⁽³⁾	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
PSA 10 % ⁽⁴⁾⁻	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
TEMED ⁽⁵⁾	0,002	0,004	0,006	0,008	0,01	0,012	0,016	0,02

Tabla 2. Preparación del gel de apilamiento.

Componentes de la solución	Volumen de cada componente por volumen de gel de moldeado (ml)							
	1	2	3	4	5	6	8	10
Agua	0,68	1,4	2,1	2,7	3,4	4,1	5,5	6,8
Solución de acrilamida ⁽¹⁾	0,17	0,33	0,5	0,67	0,83	1,00	1,3	1,7
Tris pH 6,8 (1,0 M) ⁽²⁾	0,13	0,25	0,38	0,5	0,63	0,75	1,0	1,25
SDS 10 % ⁽³⁾	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,08	0,1
PSA 10 % ⁽⁴⁾⁻	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,08	0,1
TEMED ⁽⁵⁾	0,001	0,002	0,003	0,004	0,005	0,006	0,008	0,01

1 - Solución de acrilamida: solución de acrilamida/bisacrilamida (29:1) al 30 % - Preparar una solución que contenga 290 g de acrilamida y 10 g de metilbisacrilamida por litro de agua.

2 - Tris pH 8,8 (1,5 M): solución reguladora tris – clorhídrico de pH 8,8 con ácido clorhídrico (1,5 M) - Disolver 90,8 g de tris(hidroximetil)aminoetano en 400 ml de agua. Ajustar a pH 8,8 con ácido clorhídrico y completar a 500 ml con agua.

3 - SDS 10 %: solución de laurilsulfato de sodio al 10 %.

4 - PSA 10 %: solución de persulfato de amonio al 10 %. El persulfato de amonio forma los radicales libres que inducen la polimerización de la acrilamida y la bisacrilamida. Esta solución se descompone lentamente y debe renovarse cada semana.

5 - TEMED: tetrametiletilendiarnina.

6 - Tris pH 6,8 (1,0 M): solución reguladora tris-clorhídrico de pH 6,8 (1,0 M) - Disolver 60,6 g de tris(hidroximetil)aminoetano en 400 ml de agua. Ajustar a pH 6,8 con ácido clorhídrico y completar a 500 ml con agua.

310. ENSAYO DE DISGREGACIÓN

Por medio de este ensayo se determina si la forma farmacéutica se disgrega dentro de un lapso de tiempo determinado, en las condiciones especificadas. Este ensayo se aplica a comprimidos y cápsulas con excepción de aquellos que estén diseñados como formas farmacéuticas de liberación modificada (ver 530. *Liberación de principios activos*) y comprimidos masticables.

En este ensayo la disgregación no implica disolución completa de la unidad o de su principio activo. Disgregación completa se define como el estado en el que el residuo de la unidad que quede sobre la malla metálica del aparato, excepto fragmentos insolubles de la cubierta o de la cápsula, sea una masa blanda sin restos duros palpables.

Aparato (ver *Figura*) - Consta de un vaso de precipitados de 1 litro donde se sumerge una cesta que oscila verticalmente con una frecuencia constante de 29 a 32 ciclos por minuto, recorriendo una distancia de no menos de 5,3 cm y no más de 5,7 cm. El volumen de líquido en el recipiente debe ser tal que cuando la cesta se encuentre en el punto más alto del recorrido ascendente, la malla metálica permanezca al menos 2,5 cm debajo de la superficie del líquido y descienda a no menos de 2,5 cm del fondo del recipiente cuando se encuentre en el punto más bajo del recorrido descendente. El tiempo requerido para llegar al punto más alto debe ser igual al tiempo requerido para alcanzar el punto más bajo y el cambio de dirección debe ser una transición suave. La cesta se debe desplazar verticalmente a lo largo de su eje sin desviarse.

Cesta - La cesta consta de seis tubos transparentes de extremos abiertos, de $77,5 \pm 2,5$ mm de longitud, diámetro interno de aproximadamente 21,5 mm y pared de aproximadamente 2 mm de espesor. Los tubos se mantienen en posición vertical por medio de dos placas, cada una de aproximadamente 9 cm de diámetro y 6 mm de espesor con seis orificios, cada uno de aproximadamente 21,5 mm de diámetro, equidistantes del centro de la placa y a

la misma distancia uno de otro. La malla metálica, de acero inoxidable (con hilo de 0,602 a 0,655 mm de diámetro) y de trama cuadrada con 15,5 aberturas por cm^2 , se fija a la cara inferior de la placa inferior. Las partes del aparato se sostienen firmemente por medio de tres pernos que pasan a través de las dos placas. El eje de la cesta se suspende de modo apropiado del dispositivo mecánico que proporcione el movimiento vertical.

El diseño de la cesta puede modificarse siempre que se mantengan las especificaciones para los tubos de vidrio y el tamaño de la malla metálica.

Discos - Cada tubo está provisto de un cilindro, ranurado y perforado, de $9,50 \pm 0,15$ mm de espesor y $20,70 \pm 0,15$ mm de diámetro. El disco está construido de material plástico, transparente y de densidad relativa entre 1,18 y 1,20. Entre ambas caras del cilindro se extienden cinco orificios de 2 mm de diámetro, uno de ellos pasa a través del eje del cilindro y los otros están centrados a 6 mm del eje, en líneas imaginarias perpendiculares al eje. En las paredes del cilindro están tallados cuatro planos trapezoidales idénticos, casi perpendiculares a las caras del cilindro. La forma trapezoidal es simétrica, sus lados paralelos coinciden con las caras del cilindro y son paralelos a una línea imaginaria que une los centros de dos orificios adyacentes a 6 mm del eje del cilindro. El lado paralelo del trapecioide en la base del cilindro tiene una longitud de 1,6 mm y su centro está ubicado a una profundidad de 1,8 mm desde la circunferencia del cilindro. El lado paralelo del trapecioide en la parte superior del cilindro tiene una longitud de 9,2 mm y su centro está a una profundidad de 2,6 mm desde la circunferencia del cilindro. Todas las superficies del disco son lisas. Los discos deben emplearse sólo cuando se indique en *Procedimiento*. En dichos casos luego de introducir comprimido agregar un disco a cada tubo, poner en funcionamiento el equipo y continuar con el ensayo según se indica en *Procedimiento*.

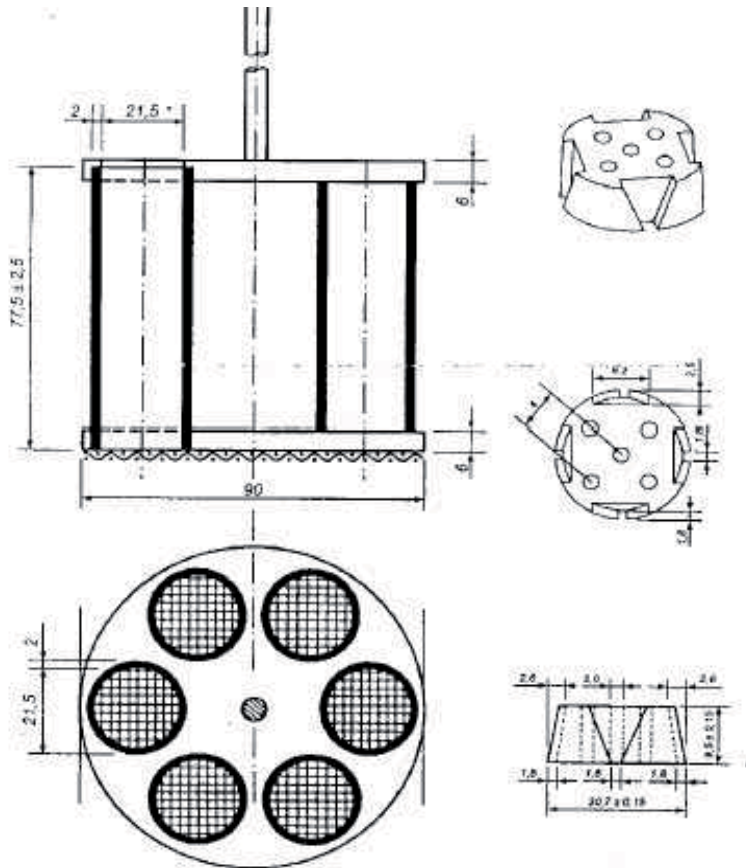


Figura. Aparato para el ensayo de disgregación.

Procedimiento

Comprimidos no recubiertos - Colocar un comprimido en cada uno de los seis tubos de la cesta, agregar los *Discos* e iniciar el movimiento vertical, emplear agua a $37,0 \pm 2,0$ °C como medio de inmersión y un tiempo de 30 minutos, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente. Transcurrido dicho tiempo, levantar la cesta del líquido y observar los comprimidos: todos los comprimidos deben haberse disgregado completamente. Si sólo uno de los comprimidos no se disgregara completamente, repetir el ensayo con seis comprimidos adicionales: los comprimidos cumplen con el ensayo si todos los comprimidos adicionales se disgregan completamente.

Comprimidos con cubiertas simples - Proceder según se indica para *Comprimidos no recubiertos*. Poner en funcionamiento el aparato durante

60 minutos o por el tiempo especificado en la monografía correspondiente.

Comprimidos con cubierta entérica - Colocar un comprimido en cada uno de los seis tubos de la cesta y agregar los *Discos*. Si los comprimidos poseen un recubrimiento externo soluble, sumergir la cesta en agua a temperatura ambiente durante 5 minutos. Luego poner en funcionamiento el equipo empleando fluido gástrico simulado (SR), mantenido a $37,0 \pm 2,0$ °C, como líquido de inmersión. Después de 2 horas, levantar la cesta del líquido y observar los comprimidos: no deben presentar evidencias de disgregación, resquebrajamiento o ablandamiento. Si dos o más comprimidos presentan evidencias de disgregación, resquebrajamiento o ablandamiento, repetir el ensayo con seis comprimidos adicionales: los comprimidos cumplen con esta etapa si ninguno de los comprimidos adicionales se disgregan

completamente. A continuación sumergir la cesta en fluido intestinal simulado (SR), mantenido a $37,0 \pm 2,0$ °C, durante 60 minutos o por el tiempo especificado en la monografía correspondiente. Levantar la cesta del líquido y observar los comprimidos: todos los comprimidos deben disgregarse completamente. Si sólo uno de los comprimidos no se disgrega completamente, repetir el ensayo con seis comprimidos adicionales: los comprimidos cumplen con el ensayo si todos los comprimidos adicionales se disgregan completamente.

Comprimidos sublinguales - Proceder según se indica para *Comprimidos no recubiertos*. Observar los comprimidos a los 2 minutos o al tiempo especificado en la monografía correspondiente: todos los comprimidos deben disgregarse. Si sólo uno de los comprimidos no se disgrega completamente, repetir el ensayo con seis comprimidos adicionales: los comprimidos cumplen con el ensayo si todos los comprimidos adicionales se disgregan completamente.

Cápsulas rígidas - Proceder según se indica para *Comprimidos no recubiertos*. Colocar una malla metálica desmontable según se describe en *Cesta* sobre la superficie de la placa superior de la cesta. Observar las cápsulas a los 30 minutos o al tiempo especificado en la monografía correspondiente: todas las cápsulas deben disgregarse excepto los fragmentos de la cápsula. Si sólo una de las cápsulas no se disgregara completamente, repetir el ensayo con seis cápsulas adicionales: las cápsulas cumplen con el ensayo si todas las cápsulas adicionales se disgregan completamente.

Cápsulas blandas - Proceder según se indica en *Cápsulas rígidas*.

Comprimidos dispersables - Aplicar este ensayo a aquellos comprimidos no recubiertos destinados a dispersarse en agua antes de su administración. Proceder según se indica para *Comprimidos no recubiertos*. Observar los comprimidos a los 3 minutos o al tiempo especificado en la monografía correspondiente empleando agua, mantenida entre 19 y 21 °C, como líquido de inmersión: todos los comprimidos deben disgregarse. Si sólo uno de los comprimidos no se disgregara o disolviera completamente, repetir el ensayo con seis comprimidos adicionales: los comprimidos cumplen con el ensayo si todos los comprimidos adicionales se disgregan o se disuelven completamente.

Comprimidos efervescentes - Transferir un comprimido efervescente a un vaso de precipitados que contiene 200 ml de agua entre 15 y 25 °C, se

observará un abundante desprendimiento de burbujas. Cuando la evolución de gas alrededor del comprimido o sus fragmentos haya cesado, el comprimido debe haberse disuelto o disgregado completamente. Repetir el procedimiento con cinco comprimidos adicionales. El producto cumple con el ensayo si los seis comprimidos ensayados se disuelven o disgregan completamente dentro de los 5 minutos o en el tiempo especificado en la monografía correspondiente.

320. ENSAYO DE DISOLUCIÓN

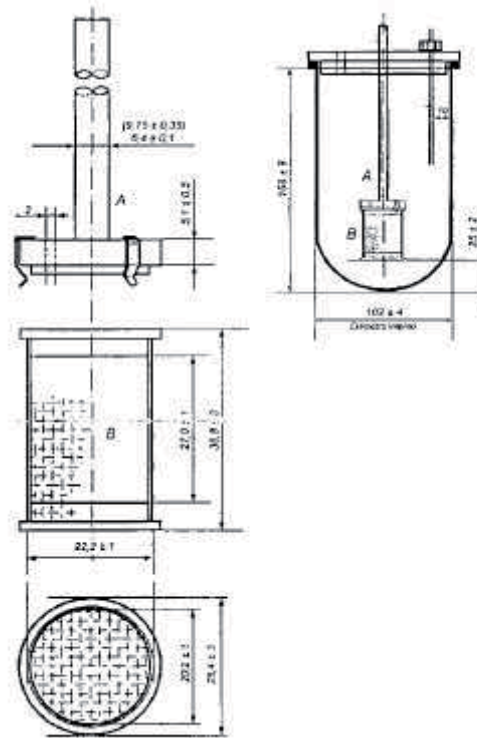
Este ensayo se emplea para determinar el comportamiento de la disolución de los principios activos contenidos en una forma farmacéutica sólida de uso oral, estableciendo un criterio de evaluación de las propiedades físicas y biofarmacéuticas del producto. Los métodos descritos se aplican en las monografías que establecen un límite de principio activo disuelto bajo el título *Disolución*.

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, este ensayo no se aplica a comprimidos cuyo rótulo indica que deben masticarse antes de ingerirse. Cuando se declara que un producto posee cubierta entérica y la monografía correspondiente incluye un ensayo de disolución o de disgregación que no es específico para productos con cubierta entérica, se aplica el ensayo para *Productos de liberación retardada* en <530>. *Liberación de principios activos*, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente.

Aparato 1 (ver *Figura 1*) - Consta de: un vaso transparente provisto de una tapa, construido de vidrio u otro material inerte, un eje metálico y un canastillo cilíndrico. El vaso debe estar parcialmente sumergido en un baño de agua que permita mantener la temperatura dentro del vaso a $37,0 \pm 0,5$ °C durante el ensayo. Ninguna parte del aparato, ni el área donde está instalado, debe producir movimiento significativo, agitación o vibración más allá de la debida al elemento de agitación. El vaso es cilíndrico con fondo semiesférico con una altura de 185 ± 25 mm, un diámetro interior de 102 ± 4 mm y una capacidad nominal de 1 litro. El vaso puede tener una tapa para retardar la evaporación. El eje se coloca de manera que su vertical no se separe más de 2 mm, en cualquier punto, del eje vertical del vaso y rote sin desviaciones significativas. El aparato posee además, un dispositivo que permite seleccionar la velocidad de rotación de los ejes de acuerdo a lo especificado en la monografía correspondiente y mantenerla dentro de ± 4 %.

El eje y el canastillo deben ser de acero inoxidable, tipo 316 o equivalente, según las especificaciones que se muestran en la *Figura 1*. A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente se debe emplear tela metálica de malla N° 40. Puede emplearse un canastillo con una cubierta de oro de $2,5 \mu\text{m}$ de espesor. Esta cubierta le otorga resistencia a la corrosión especialmente cuando se emplean medios de disolución de pH ácido. El comprimido o la

cápsula se coloca en un canastillo seco al comienzo de cada ensayo. Cuando la unidad de dosificación tiende a flotar se le puede enrollar unas pocas vueltas de un alambre inerte, para evitar que esto ocurra. En estos casos se debe evitar que el alambre sea colocado en forma ajustada lo que podría interferir con los resultados. Se pueden emplear otros dispositivos para evitar la flotación, siempre y cuando hayan sido debidamente validados. A menos que en la monografía correspondiente se especifique otro valor, la distancia entre el fondo del vaso y el canastillo se debe mantener a 25 ± 2 mm durante el ensayo.



Aparato 2 - Se trata básicamente del mismo aparato descrito en *Aparato 1*, pero en este caso el elemento de agitación es una paleta que se ajusta a las especificaciones dadas en la *Figura 2*. La paleta se coloca de tal modo que su eje vertical no se separe más de 2 mm, en cualquier punto, del eje vertical del vaso y rote sin desviarse significativamente. A menos que en la monografía correspondiente se especifique otro valor, la distancia entre el borde inferior de la paleta y el fondo del vaso se debe mantener a 25 ± 2 mm durante el ensayo. La paleta puede recubrirse con un material inerte apropiado. El comprimido o la cápsula se coloca en el vaso, de modo que se

deposite en el fondo, antes de que comience la rotación de la paleta. Cuando la unidad de dosificación tiende a flotar se le puede enrollar unas pocas vueltas de un alambre inerte, para evitar que esto ocurra. En estos casos se debe evitar que el

alambre sea colocado en forma ajustada lo que podría interferir con los resultados. Se pueden emplear otros dispositivos para evitar la flotación, siempre y cuando hayan sido debidamente validados.

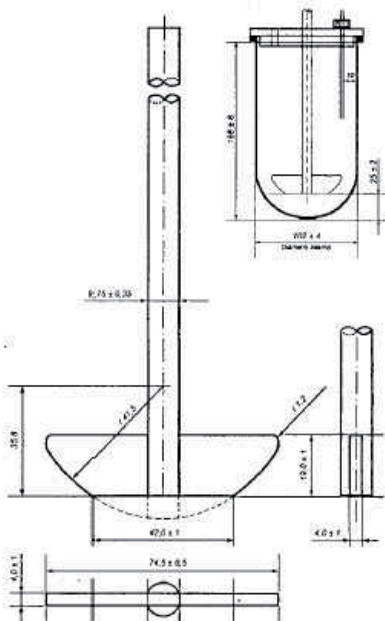


Figura 2. Aparato 2 (las dimensiones son en mm).

Medio - El medio de disolución es preferentemente agua desgasificada. Pueden emplearse, según las características de solubilidad del principio activo o de la formulación, soluciones reguladoras de pH 4 a 8 o ácido clorhídrico 0,001 a 0,1 N. El volumen empleado es 900 ml pudiendo variar entre 500 y 900 ml. Si el medio es una solución reguladora, ajustar el pH a $\pm 0,05$ unidades del pH especificado en la misma. Los gases disueltos pueden producir burbujas que pueden modificar los resultados del ensayo. En esos casos los mismos deben eliminarse antes del ensayo. Para ello puede emplearse el siguiente método: calentar el medio a $45\text{ }^\circ\text{C}$ aproximadamente, agitando suavemente, filtrar inmediatamente aplicando vacío empleando un filtro de $0,45\text{ }\mu\text{m}$ o porosidad menor, agitando vigorosamente y continuar la agitación aplicando vacío aproximadamente durante 5 minutos. Pueden emplearse otras técnicas de desgasificación validadas.

Tiempo - Si se especifican dos o más tiempos, las muestras se retirarán sólo en los tiempos especificados con una tolerancia de $\pm 2\%$.

Muestreo individual -

Procedimiento - Este procedimiento se realiza sobre seis unidades de la forma farmacéutica.

Colocar en cada uno de seis vasos el volumen de *Medio* especificado, colocar los vasos en el equipo, equilibrar el *Medio* a $37,0 \pm 0,5\text{ }^\circ\text{C}$ y retirar los termómetros. Colocar un comprimido o una cápsula en cada vaso, teniendo cuidado de excluir las burbujas de aire de la superficie de la unidad de dosificación y de inmediato, iniciar la rotación del elemento de agitación a la velocidad especificada en la monografía correspondiente. Cumplido el tiempo especificado, o a cada uno de los tiempos establecidos, retirar una alícuota de una zona a una distancia media entre la superficie del *Medio* y la parte superior del canastillo o de la paleta rotatoria y a no menos de 10 mm de la pared del vaso. [NOTA: reemplazar las alícuotas retiradas para el análisis con volúmenes iguales de *Medio* calentado a $37\text{ }^\circ\text{C}$ o, cuando se demuestra que la reposición de medio no es necesaria, aplicar en los cálculos una corrección por el cambio de volumen]. Mantener el vaso cubierto durante el tiempo que dure el ensayo y verificar la temperatura dentro de cada vaso a intervalos apropiados. Filtrar y analizar las alícuotas extraídas según se especifica en la monografía correspondiente. [NOTA: emplear un filtro inerte que no produzca adsorción del principio activo o contenga sustancias extraíbles que

interfieran el análisis. Si se emplea un equipo con toma de muestra automática; cada vez que se introduzcan modificaciones en el equipo, es necesaria la validación del mismo para demostrar que no hay cambios durante el desarrollo del ensayo].

Cuando la cubierta de la cápsula interfiere con el análisis, extraer el contenido de no menos de seis cápsulas y disolver las cubiertas de las cápsulas en el volumen especificado de *Medio*. Realizar el análisis según se especifica en la monografía correspondiente, empleando la solución anterior como blanco y hacer las correcciones necesarias. El factor de corrección no debe ser mayor de 25 % del contenido declarado.

Muestreo unificado -

Procedimiento - Emplear este procedimiento cuando en la monografía correspondiente se especifique un *Procedimiento para muestreo unificado*. Proceder según se indica en *Muestreo*

individual pero combinar volúmenes iguales de las alícuotas filtradas, extraídas de cada uno de los vasos y emplear la muestra unificada como solución muestra. Determinar la cantidad promedio de principio activo disuelto en la muestra unificada.

Interpretación -

Muestreo individual - A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, los requisitos se cumplen si la cantidad de principio activo disuelto se ajusta a la *Tabla 1*. En caso que los resultados no se ajusten al límite especificado en E_1 continuar el ensayo con E_2 y si no cumple con la exigencia de E_2 proseguir hasta E_3 . La cantidad, Q , es la cantidad de principio activo disuelto, especificada en la monografía correspondiente, expresada como un porcentaje del contenido declarado. Los valores de 5, 15 y 25 % en la *Tabla 1* corresponden a porcentajes del contenido declarado de modo que estos valores y Q están en los mismos términos.

Tabla 1. Aceptación para muestreo individual

Etapa	Unidades ensayadas	Criterios de aceptación
E_1	6	Cada unidad no debe ser menor de $Q + 5\%$.
E_2	6	El promedio de 12 unidades ($E_1 + E_2$) debe ser igual o mayor de Q y ninguna unidad menor de $Q - 15\%$.
E_3	12	El promedio de 24 unidades ($E_1 + E_2 + E_3$) debe ser igual o mayor de Q , no más de 2 unidades menores de $Q - 15\%$ y ninguna unidad menor de $Q - 25\%$.

Muestreo unificado - A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, los requisitos se cumplen si la cantidad de principio activo disuelto en la muestra unificada se ajusta a la *Tabla 2*. En caso de que los resultados no se ajusten al límite especificado en E_1 continuar el ensayo con E_2 y si no cumple con la exigencia de E_2 , proseguir hasta E_3 . La cantidad,

Q , es la cantidad de principio activo disuelto, especificada en la monografía correspondiente, expresada como un porcentaje del contenido declarado. Los valores de 5 y 10 % en la *Tabla 2* corresponden a porcentajes del contenido declarado de modo que estos valores y Q están en los mismo términos.

Tabla 2. Aceptación para muestreo unificado

Etapa	Unidades ensayadas	Criterios de aceptación
E_1	6	Cada unidad no debe ser menor de $Q + 10\%$.
E_2	6	La cantidad promedio disuelta ($E_1 + E_2$) debe ser igual o mayor de $Q + 5\%$.
E_3	12	La cantidad promedio disuelta ($E_1 + E_2 + E_3$) debe ser igual o mayor de Q .

330. ENSAYOS DE ENDOTOXINAS BACTERIANAS

El ensayo de endotoxinas bacterianas se aplica a la determinación o cuantificación de endotoxinas provenientes de las bacterias Gram negativas, empleando como reactivo, lisados de amebocitos circulantes del cangrejo herradura de *Limulus polyphemus* (ensayo LAL), de *Tachypleus tridentatus*, etc. Cuando se enfrenta el reactivo a soluciones que contienen endotoxinas produce gelificación. La reacción requiere la presencia de cationes bivalentes. La velocidad de la reacción depende de la concentración de endotoxina, del pH y de la temperatura. El lisado contiene un sistema enzimático que actúa en cascada y que se activa progresivamente en presencia de endotoxinas. Como resultado final, la proteína coagulable (coagulígeno) se transforma en un gel (coagulina), siendo la base del método de gel en tubo.

Se han desarrollado otros métodos basados en los cambios turbidimétricos que ocurren durante la formación del gel y métodos cromogénicos, basados en el desarrollo de color luego del clivaje de un péptido sintético que contiene un cromóforo. Estos métodos permiten estimaciones cuantitativas del contenido de endotoxina, mientras que el método de gel en tubo se emplea como ensayo límite y también como método semicuantitativo. Los métodos cuantitativos podrán emplearse si satisfacen los requisitos para métodos alternativos (ver *Consideraciones generales*) pero, en caso de discrepancias, el resultado obtenido con el método de gel en tubo es el definitorio.

Los métodos descriptos en este capítulo son:

- a) gel en tubo: ensayo límite y semicuantitativo;
- b) cromogénico de punto final;
- c) cinético cromogénico;
- d) cinético turbidimétrico.

El ensayo debe realizarse en condiciones tales de evitar la contaminación microbiana.

Antes de llevarlo a cabo es necesario verificar:

1) que todos los materiales y reactivos a usar no contengan endotoxinas bacterianas.

2) la sensibilidad del lisado, λ , de acuerdo a los requisitos posteriormente descriptos en cada método.

3) la ausencia de factores interferentes en las muestras a analizar. Los resultados son válidos siempre que se haya demostrado previamente que las muestras a analizar no inhiban ni intensifiquen la reacción.

Materiales y reactivos

Es necesaria la aplicación de tratamientos controlados para la eliminación de endotoxinas.

Para el material de vidrio, el método más empleado es el calentamiento a 250 °C por lo menos durante 30 minutos o 180 °C durante 3 horas. Si se emplean materiales plásticos de único uso (microplacas, puntas para pipetas automáticas, etc.) es necesario verificar que los mismos estén libres de endotoxinas y que no interfieran con el ensayo.

Agua reactivo - El agua empleada en este ensayo debe estar libre de endotoxinas. Puede ser preparada por destilación doble o triple y debe ser recolectada en envases convenientemente despirogenados. Es necesario efectuar el control de calidad de la misma, que debe cumplir con las condiciones del ensayo.

Reactivo LAL (Lisado de Amebocitos) - Reconstituir el lisado según se indica en el rótulo y/o prospecto. La sensibilidad del lisado, λ , establecida en el rótulo y que debe ser confirmada, se expresa en Unidades de Endotoxina por ml (UE/ml).

Otras soluciones - El ácido clorhídrico 0,1 N y el hidróxido de sodio 0,1 N, empleados para ajustar el pH entre 6,0 y 8,0, deben prepararse con *Agua reactivo*.

Endotoxina de referencia y Endotoxina control - Existe una *Endotoxina de referencia internacional*. Se designa a la unidad de endotoxina como unidad internacional, siendo la relación 1 UI = 1 UE. En esta Farmacopea se designa a la unidad como UE (Unidad de endotoxina).

La *Endotoxina control* es una preparación de endotoxina distinta de la *Endotoxina de referencia*, que se ha calibrado contra esta última. Las endotoxinas deben ser reconstituidas con *Agua reactivo*, mediante agitación con mezclador por vórtice, de acuerdo a las indicaciones de los rótulos y certificados de calibración. Estos concentrados se pueden conservar en heladera el tiempo especificado por el elaborador. Para la preparación de soluciones de endotoxinas, agitar vigorosamente con mezclador por vórtice los concentrados de endotoxinas durante no menos de 5 minutos y preparar diluciones seriadas en *Agua reactivo* con tiempos de agitación que pueden variar entre 30 segundos y 1 minuto. No se deben almacenar las diluciones porque pueden perder actividad por adsorción al vidrio.

Límite de Endotoxinas

En las monografías individuales de materia prima y producto terminado, bajo el subtítulo de *Ensayo de endotoxinas bacterianas* se indica el límite de endotoxinas requerido para el producto.

Es necesario demostrar que los productos a analizar contienen una concentración de endotoxinas bacterianas menor al límite especificado. La misma se expresa en unidades entotóxicas por peso (UE/mg), por droga activa (UE/UI) o por volumen (UE/ml).

Cuando no se cuenta con especificación de límite de endotoxinas en las monografías, se puede calcular tomando en cuenta la dosis y vía de administración, empleando la dosi siguiente:

$$K/M$$

en la cual K es la dosis máxima de endotoxinas admitida (UE) por Kg de peso corporal en humano y M es la dosis máxima (en mg o UI) recomendada para ser administrada por Kg de peso corporal en humanos.

-Para administración parenteral K es igual a 5 UE/Kg.

- Para administración intratecal K es igual a 0,2 UE/Kg.

Para productos (usualmente cancerígenos) administrado por metro cuadrado de superficie corporal, la fórmula es:

$$K/M$$

en la cual K es igual a 5 UE/Kg y M es [(máxima dosis/m²/hora) × 1,80 m²]/70 Kg.

Para productos radiofármacos de administración parenteral el límite de endotoxinas se calcula empleando la fórmula siguiente:

$$175/V$$

y para la administración intratecal,

$$14/V$$

en la cual V es la dosis máxima recomendada en ml para ser administrada en humanos.

MÉTODO DE GEL EN TUBO

El método de gel en tubo permite establecer la presencia de endotoxinas bacterianas empleándose como ensayo límite o como determinación semicuantitativa; el punto final es la constitución de un gel firme. La determinación del punto final de la reacción se hace mediante comparación directa con una *Endotoxina control* o *de referencia*; y las cantidades de endotoxina se expresan en las unidades de endotoxinas definidas. El pH de la mezcla a ensayar y del *Reactivo LAL* debe estar comprendido entre 6,0 y 8,0, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente. El pH puede ajustarse, antes del ensayo, por el agregado de hidróxido de sodio

0,1 N, ácido clorhídrico 0,1 N o soluciones reguladoras apropiadas estériles y libres de endotoxinas.

La determinación de endotoxinas sobre dispositivos médicos debe realizarse sobre extractos, eluatos o soluciones de lavado según la naturaleza del dispositivo.

Antes de llevar a cabo la determinación, se deben realizar los ensayos de confirmación de sensibilidad del lisado y de inhibición o intensificación.

Ensayo para la confirmación de la sensibilidad del lisado

La sensibilidad del lisado se define como la menor concentración de endotoxinas que puede formar un gel firme en las condiciones del ensayo. Se debe confirmar la sensibilidad indicada en el rótulo del *Reactivo LAL* de cada lote, empleando *Endotoxina control* o *de referencia*.

Preparar una serie de diluciones de *Endotoxina control* o *de referencia* con concentraciones de 2 λ; 1 λ; 0,5 λ y 0,25 λ, por cuadruplicado; siendo λ, la sensibilidad declarada en el rótulo del *Reactivo LAL* en UE/ml. Incluir controles negativos. La media geométrica en el punto final (ver *Cálculos*) debe ser mayor o igual a 0,5 λ, y menor o igual a 2 λ.

Máxima dilución válida (MDV)

La máxima dilución válida es la dilución máxima de la muestra que corresponde a la máxima dilución en la cual el límite de endotoxina puede ser determinado en las condiciones del ensayo.

Se aplica a soluciones inyectables o a soluciones de administración parenteral reconstituidas o diluidas para su administración o, cuando sea aplicable, a la droga en peso si el volumen de administración de la forma farmacéutica pudiera ser variable.

El cálculo se realiza empleando la fórmula siguiente:

$$MDV = L_E C / \lambda$$

en la cual L_E representa el límite de endotoxina y C la concentración del principio activo en la solución a ensayar o reconstituido, que según las especificaciones del elaborador puede estar dada en:

- mg por ml, si el límite de endotoxina especificado en la monografía es en UE/mg.

- UI/ml, si el límite de endotoxina especificado en la monografía es en UE/UI.

Cuando en la monografía, el límite de endotoxina especificado es en UE/ml, se debe dividir el límite de endotoxina por λ (que es la sensibilidad del lisado, en UE/ml, declarada en el rótulo).

Ensayo de inhibición o intensificación

El ensayo de inhibición o intensificación se debe repetir cada vez que se emplee un nuevo lote de *Reactivo LAL* o la formulación del producto.

Llevar a cabo el ensayo sobre alícuotas de la muestra o sobre una dilución que no exceda la máxima dilución válida (MDV), en las cuales no exista endotoxina detectable. El ensayo se realiza sobre la muestra sin adición y con adición de endotoxina; en este caso, preparar las diluciones de muestra de manera de obtener concentraciones finales de endotoxina de 2,0 λ ; 1,0 λ ; 0,5 λ ; 0,25 λ . Probar en paralelo las mismas concentraciones de endotoxina en *Agua reactivo* y los controles negativos de éste. Ensayar cada solución al menos por cuadruplicado. Calcular la media geométrica de la concentración del punto final según se indica en *Cálculos*.

El ensayo sólo es válido si la sensibilidad del *Reactivo LAL*, determinada en presencia de la preparación ensayada, no difiere en más de un factor de 2 con respecto a la determinada en *Agua reactivo*; es decir, si la media geométrica de la concentración del punto final en la muestra con endotoxina es mayor o igual que 0,5 λ , y menor o igual que 2 λ . Si el análisis indica inhibición o intensificación repetir el ensayo empleando las muestras diluidas apropiadamente por un factor que no exceda la MDV. De este modo, para subsecuentes determinaciones de endotoxina en las muestras se debe emplear la dilución que no exceda la MDV y sea suficiente para superar la inhibición o intensificación.

Otras formas de eliminar interferencias, además de las diluciones, pueden ser filtraciones, neutralizaciones, diálisis o adición de sustancias que desplacen la endotoxina adsorbida. El empleo de un *Reactivo LAL* de mayor sensibilidad permite realizar diluciones mayores de las preparaciones a ensayar y contribuye a la eliminación de interferencias. Si bajo las condiciones del ensayo de inhibición o intensificación son detectadas endotoxinas endógenas en las muestras no tratadas, las mismas pueden adecuarse separando la endotoxina presente por ultrafiltración, siempre y cuando esta metodología permita la separación de la endotoxina del producto.

Procedimiento - Transferir a sendos tubos de ensayo de 10 mm \times 75 mm, los volúmenes indicados de: controles negativos, las diluciones seleccionadas de *Endotoxina control* o de *referencia*, la muestra sin diluir y/o las diluciones de la muestra a ensayar y los controles positivos de ésta/s (preparados por la adición de una concentración de endotoxina igual a 2 λ). Agregar

a cada tubo volúmenes iguales de *Reactivo LAL* reconstituido y agitar suavemente para mezclar. Colocar en un dispositivo para incubar, como por ej., un baño de agua o un calefactor apropiado, registrando exactamente la hora. Los tubos de reacción deben ser incubados simultáneamente en las mismas condiciones y realizarse al menos por duplicado. Incubar sin agitar, durante 60 ± 2 minutos a 37 ± 1 °C y retirar cada tubo cuidadosamente para su observación. Un resultado positivo (+) se caracteriza por la formación de un gel firme que se mantiene cuando se invierte el tubo 180°. Un resultado negativo (-) se caracteriza por la ausencia del gel o por la formación de un gel viscoso que no mantiene su integridad al invertir el tubo 180°. [NOTA: manipular los tubos con cuidado y evitar someterlos a vibraciones indeseables, porque de lo contrario pueden resultar falsos negativos].

Ensayo límite

Se aplica cuando el objetivo del ensayo es comprobar que el producto a ensayar presenta un contenido de endotoxinas menor al especificado en la monografía correspondiente. Se prepara la muestra o la dilución de la misma determinada en *Ensayo de inhibición o intensificación*, que no exceda la MDV. El control positivo de la muestra se prepara mediante el agregado de una concentración de endotoxina igual a 2 λ . El control negativo es *Agua reactivo*. Se prepara la dilución de *Endotoxina control* o de *referencia* a una concentración de endotoxina igual a 2 λ . Cada solución debe realizarse por duplicado.

Interpretación - El ensayo sólo es válido cuando los controles negativos (-) y positivos (+) dan el resultado apropiado. La muestra cumple con el ensayo si el resultado de ambos duplicados de la muestra o dilución de ésta resulta negativo (-). No cumple si los duplicados resultan positivos (+). Repetir el ensayo si los duplicados no son coincidentes. Se puede repetir el ensayo hasta la MDV.

Ensayo Semicuantitativo

Si se desea obtener un resultado semicuantitativo, se realizan diluciones con concentraciones decrecientes, que correspondan a series geométricas donde el cociente de cada dilución con la inmediata siguiente es una constante. Preparar los controles positivos de la muestra con una dilución que no exceda la MDV y con el agregado de una concentración de endotoxina igual a 2 λ . Cada dilución de la muestra a ensayar debe hacerse al menos por duplicado, realizando en paralelo una serie duplicada de tubos

de reacción con diluciones de *Endotoxina control o de referencia* con concentraciones de 2,0 λ ; 1,0 λ ; 0,5 λ ; 0 25 λ y los controles negativos de *Agua reactivo*. Calcular el contenido de endotoxina según se indica en *Cálculos*.

Interpretación - El ensayo sólo es válido cuando los controles negativos (-) y positivos (+) dan el resultado apropiado y la media geométrica en el punto final de la *Endotoxina control o de referencia* es mayor o igual a 0,5 λ , y menor o igual a 2 λ . La muestra cumple con los requisitos del ensayo si la concentración de endotoxina es menor que la especificada en la monografía correspondiente.

Cálculos

Cálculo de la media geométrica - El punto final es la última dilución positiva en una serie de concentraciones decrecientes de endotoxina. Registrar la concentración en cada punto final, para cada serie de diluciones.

Determinar el logaritmo de la concentración del punto final (*e*) y calcular la media geométrica de la concentración del punto final por la fórmula siguiente:

$$\text{anti log}(\sum e / f)$$

en la cual $\sum e$ es la suma de los logaritmos de las concentraciones finales de la serie de diluciones y *f* es el número de tubos de reacción en el punto final.

Cálculo del contenido de endotoxina - Calcular la concentración de endotoxinas en el producto a ensayar, por la fórmula siguiente:

$$\lambda / \text{anti log}(\sum d / f)$$

en la cual *d* es el logaritmo de los factores dilución del producto (expresados como fracciones), en el punto final para la muestra ensayada. [NOTA: los resultados finales deben ser expresados en las unidades de límite de endotoxina especificadas (UE/ml o UE/mg o UE/UI)].

MÉTODOS

ESPECTROFOTOMÉTRICOS: turbidimétrico y cromogénico

Método turbidimétrico - Mide el cambio de turbidez (por absorbancia o transmitancia) durante la transformación final de la proteína coagulante en coagulina. El valor de velocidad del cambio de turbidez es función de la concentración de endotoxina. Los ensayos deben ser realizados a la temperatura de incubación de 37 ± 1 °C.

Método cromogénico - Mide la concentración de un cromóforo liberado a partir de un péptido cromogénico contenido en una solución de

endotoxina incubada con un lisado y un sustrato peptídico cromogénico (unido a *p*-nitroanilina), empleando un espectrofotómetro a la longitud de onda apropiada para la reacción. En casos de interferencia, se puede copular el cromóforo de *p*-nitroanilina por medio de una reacción de diazotación. Existen metodologías de punto final y cinéticas.

Método cromogénico de punto final

En este método se detiene la reacción enzimática, a un tiempo preseleccionado, con una cantidad apropiada de ácido acético. La concentración de endotoxina en la muestra o diluciones apropiadas de la misma se determina midiendo la absorbancia e interpolando la misma en una curva de calibración preparada con soluciones de *Endotoxina control o de referencia* en *Agua reactivo*. El pH de las soluciones debe estar comprendido en el intervalo especificado por el elaborador del reactivo. Los valores de pH deben estar comprendidos entre 6,0 y 8,0. Si fuera necesario, ajustar el pH antes del ensayo, mediante el agregado de ácido clorhídrico 0,1 N o hidróxido de sodio 0,1 N o soluciones reguladoras apropiadas, estériles y libres de endotoxinas.

Los criterios de validación de la curva de calibración, la verificación de ausencia de factores interferentes y la determinación de endotoxinas en las muestras son descriptos a continuación.

Validación de la curva de calibración - Debe realizarse cada vez que se emplee un nuevo lote de lisado o cuando se modifique alguna condición que pueda influir en el resultado del ensayo.

Preparar al menos cuatro series de soluciones de por lo menos cuatro concentraciones de *Endotoxina control o de referencia* en *Agua reactivo*, dentro del intervalo especificado por el elaborador. La curva debe incluir el límite (λ) especificado por el elaborador y un blanco de reactivos. Realizar el ensayo y graficar la absorbancia en función de la concentración de endotoxina para cada tubo. Efectuar una regresión de la curva de absorbancia en función de concentración. La recta de regresión debe tener una pendiente y linealidad significativas. El coeficiente de correlación *r* debe ser $\geq 0,98$ en valor absoluto en el intervalo de concentraciones de endotoxinas indicados por el elaborador del lisado.

Determinar la concentración de endotoxina, λ m, a partir de la media aritmética de la concentración más alta (λ a) y la concentración más baja (λ b) para la cual la curva de regresión es lineal, siendo todos los valores expresados en UE/ml.

Factores interferentes - La muestra debe ser diluida de acuerdo a un factor de dilución calculado a partir de la fórmula siguiente:

Concentración de endotoxina límite/ λ_m

La concentración de endotoxina límite es igual a la endotoxina límite especificada o calculada, en UE/mg o UE/UI multiplicada por la concentración de la solución muestra, en mg o UI de producto por ml. Preparar al menos cuatro soluciones conteniendo *Endotoxina control o de referencia* a una concentración de λ_m .

Realizar el ensayo y calcular la media de la concentración de endotoxinas. Cuando la media de la concentración de endotoxina calculada es mayor o igual a 50 % y menor a 200 % de λ_m , la muestra ensayada no contiene factores interferentes. Cuando la media de la concentración de endotoxina calculada es menor a 50 % o mayor 200 %, los factores interferentes deben eliminarse según se indica en *Método de gel en tubo*.

Cuando la media de la concentración de endotoxina calculada es mayor a la concentración más alta en la parte lineal de la curva de regresión repetir el ensayo con un factor de dilución mayor de la muestra a ensayar, calculado por la fórmula siguiente:

Concentración de endotoxina límite/ λ_m'

en la cual $\lambda_b < \lambda_m' < \lambda_m$.

Procedimiento - Preparar las muestras, con las modificaciones apropiadas para eliminar factores interferentes y/o ajustar el pH, si fuera necesario.

En el protocolo de análisis deben prepararse las siguientes soluciones y ensayar cada solución por duplicado:

a) solución de la muestra a ensayar, en la dilución y condiciones que cumpla con el ensayo de interferencias;

b) solución de los controles positivos de la muestra por duplicado conteniendo *Endotoxina control o de referencia* a una concentración de λ_m o λ_m' , en la misma dilución de la muestra a ensayar que en (a);

c) solución de *Endotoxina control o de referencia* en *Agua reactivo* a una concentración de λ_a , λ_b y de λ_m o λ_m' ;

d) *Agua reactivo* como control negativo.

Emplear los volúmenes indicados de las soluciones descriptas, del lisado y del cromógeno (de acuerdo a la forma de lectura, en microplaca o microcubas) e incubar el tiempo especificado por el elaborador. Detener la reacción y medir la absorbancia a la longitud de onda apropiada para la reacción.

Para realizar la curva de calibración para el análisis de las muestras, proceder según se indica en *Validación de la curva de calibración*. Calcular la concentración de endotoxina de cada solución (a) y

(b) empleando la regresión lineal obtenida con los controles (c).

El ensayo sólo es válido si se cumplen las siguientes condiciones:

- El resultado del control de *Agua reactivo* es negativo si no es mayor al límite del valor del blanco obtenido en *Validación de la curva de calibración*.

- El resultado de la solución control (c) cumple con los requisitos de *Validación de la curva de calibración*.

- La recuperación de endotoxina del control positivo no debe ser menor de 50 % ni mayor de 200 %, calculada por la media aritmética de la concentración de endotoxina de la solución (b) luego de sustraída la media aritmética de la concentración de endotoxina de la solución (a), calculando el porcentaje de recuperación dividiendo el resultado de la sustracción anterior por λ_m o λ_m' y multiplicando por 100.

El resultado de la muestra ensayada es aceptable si la concentración de endotoxina de cada uno de los duplicados es menor que λ_m o λ_m' en UE/ml. Si los resultados no son coincidentes, como por ej., si la concentración de una de las soluciones es más baja y la otra más alta que este límite, debe repetirse el ensayo. La muestra ensayada cumple con los requisitos del ensayo si ambas soluciones, en la repetición, cumplen con el límite del ensayo. Los resultados deben ser expresados en las unidades de endotoxinas límite especificadas (UE/mg, UE/ml o UE/UI).

Interpretación - La muestra cumple con los requisitos del ensayo si la concentración de endotoxina es menor que la especificada en la monografía correspondiente.

METODOS CINÉTICOS: turbidimétrico y cromogénico

Método turbidimétrico - Mide el tiempo de reacción necesario para el desarrollo de un grado predeterminado de turbidez de una solución sobre la cual se agrega lisado, empleando un aparato apropiado.

Método cromogénico - Mide el tiempo de reacción necesario para el desarrollo de una intensidad predeterminada de color después de la liberación de un péptido cromogénico, empleando un espectrofotómetro a la longitud de onda apropiada.

En ambos métodos cinéticos, el logaritmo del tiempo de reacción guarda una relación lineal con el logaritmo de la concentración de endotoxina.

Los criterios de validación de la curva de calibración, la verificación de ausencia de factores interferentes y la determinación de endotoxinas en

las muestras a ensayar son descriptos a continuación.

Validación de la curva de calibración - Debe realizarse cada vez que se emplee un nuevo lote de lisado o cuando se modifique alguna condición que pueda influir en el resultado de ensayo.

Preparar al menos dos series de soluciones de por lo menos cuatro concentraciones de *Endotoxina control* o *de referencia* en *Agua reactivo*, dentro del intervalo requerido (no se recomienda emplear concentraciones más allá de los límites especificados por el elaborador). Emplear un control negativo de *Agua reactivo*. Agregar a cada tubo volúmenes iguales de lisado y, para el *Método cromogénico*, el volumen apropiado de péptido cromogénico. Medir el tiempo de reacción como se definió anteriormente. Graficar el logaritmo del tiempo de reacción en función del logaritmo de la concentración de cada tubo y efectuar un análisis de regresión de la curva correspondiente, empleando un método apropiado, como por ej., regresión lineal. La recta de regresión debe tener una pendiente y linealidad significativas. El coeficiente de correlación r debe ser $\geq 0,98$ en valor absoluto en el intervalo de concentraciones de endotoxinas especificado por el elaborador del lisado.

Determinar la cantidad de concentraciones equidistantes exponencialmente para las cuales la curva de regresión es lineal. Si ésta es 3 (λ_1 , λ_2 y λ_3), emplear la segunda concentración (λ_2) como λ_m en el ensayo de factores interferentes y en el ensayo para determinación de endotoxinas en la muestra a ensayar. Si es igual a 4 ó 5, emplear la tercera concentración (λ_3) como λ_m .

Factores interferentes - La muestra a ensayar debe ser diluida de acuerdo a un factor de dilución calculado a partir de la fórmula siguiente:

Concentración de endotoxina límite/ λ_m

La concentración de endotoxina límite es igual a la endotoxina límite especificada o calculada, en UE/mg o UE/UI multiplicada por la concentración de la solución, en mg o UI de producto por ml. Preparar al menos cuatro soluciones conteniendo *Endotoxina control* o *de referencia* a una concentración de λ_m .

El pH de las soluciones debe estar comprendido en el intervalo especificado por el elaborador. Este es generalmente entre 6,0 y 8,0.

Si fuera necesario ajustar el pH, antes del ensayo, por el agregado de ácido clorhídrico 0,1 N o hidróxido de sodio 0,1 N o soluciones reguladoras apropiadas, estériles y libres de endotoxinas.

Realizar el ensayo con estas cuatro soluciones y calcular la media de la concentración de endotoxinas como el antilogaritmo de la media

logarítmica de concentración de endotoxinas. Cuando la media de la concentración de endotoxina calculada es por lo menos el 50 % de λ_m , la muestra ensayada no contiene factores que puedan interferir con la actividad del lisado bajo las condiciones del ensayo; las muestras pueden entonces ser analizadas sin tratamiento previo para eliminar estas interferencias. Cuando la media de la concentración de endotoxina calculada es menor a 50 %, los factores interferentes deben ser eliminados según se indica en *Método de gel en tubo*.

Cuando la media de la concentración de endotoxina calculada es mayor a la concentración más alta en la parte lineal de la curva de regresión, repetir el ensayo con un factor de dilución mayor de la muestra a ensayar, calculado por la fórmula siguiente:

Concentración de endotoxina límite/ λ_m'

en la cual $\lambda_b < \lambda_m' < \lambda_m$.

Procedimiento - Preparar las muestras, con las modificaciones apropiadas para eliminar factores interferentes y/o ajustar el pH, si fuera necesario.

En el protocolo de análisis deben prepararse las siguientes soluciones y ensayar cada solución por duplicado:

a) solución de las soluciones de la muestra a ensayar en la dilución que cumpla con el ensayo de interferencias;

b) solución de los controles positivos de la muestra, conteniendo *Endotoxina control* o *de referencia* a una concentración de λ_m o λ_m' en la misma dilución de la muestra a analizar que en (a).

c) solución de tres concentraciones logarítmicamente equidistantes de *Endotoxina control* o *de referencia* que cubran la parte lineal de la curva de regresión.

d) *Agua reactivo* como control negativo.

Para realizar la curva de calibración para el análisis de las muestras, proceder según se indica en *Validación de la curva de calibración*. Calcular la concentración de endotoxina de cada solución (a) y (b) empleando la regresión lineal generada por los controles (c).

El ensayo es válido si se cumplen las siguientes condiciones:

- El resultado del control de *Agua reactivo* es negativo si no es mayor al límite del valor del blanco obtenido en *Validación de la curva de calibración*.
- El resultado de la solución control (c) cumple con los requisitos de *Validación de la curva de calibración*.
- La recuperación de endotoxina del control positivo no debe ser menor de

50 % ni mayor de 200 % de λ_m o $\lambda_{m'}$, calculada por la media aritmética de la concentración de endotoxina de la solución (b) luego de sustraída la media aritmética de la concentración de endotoxina de la solución (a), calculando el porcentaje de recuperación dividiendo el resultado de la sustracción anterior por λ_m o $\lambda_{m'}$ y multiplicando por 100.

El resultado de la muestra ensayada es aceptable si la concentración de endotoxina de cada uno de los duplicados es menor que λ_m o $\lambda_{m'}$ en UE/ml. Si los resultados no son coincidentes, como por ej., si la concentración de una de las soluciones es menor y la otra mayor que este límite, debe repetirse el ensayo. La muestra ensayada cumple con los requisitos del ensayo si ambas soluciones, en la repetición, cumplen con el límite del ensayo. Los resultados deben ser expresados en las unidades de endotoxinas límite especificadas (UE/mg, UE/ml o UE/UI).

Interpretación - La muestra cumple con los requisitos del ensayo si la concentración de endotoxina es menor que la especificada en la monografía correspondiente.

340. ENSAYO DE PIRETÓGENOS

El ensayo de piretógenos consiste en medir el aumento de la temperatura corporal en el conejo, provocado por la inyección intravenosa de una solución estéril del producto a ensayar.

Materiales y diluyentes - Emplear materiales y diluyentes estériles y libres de piretógenos. Se sugiere el calentamiento a 250 °C durante 30 minutos o 180 °C durante 3 horas, como método para despirogenar las jeringas de vidrio, agujas y el material de vidrio. Periódicamente se debe verificar ausencia de piretógenos en porciones representativas de los diluyentes y soluciones que se emplean para el lavado y enjuague de dispositivos.

Registro de la temperatura - Emplear un termómetro de mercurio o un dispositivo eléctrico capaz de medir la temperatura con una exactitud de $\pm 0,1$ °C y que la lectura máxima se alcance en menos de 5 minutos. Introducir el dispositivo elegido en el recto del conejo a una profundidad no menor de 7,5 cm. El sensor debe permanecer en el recto durante todo el período de registro, se debe inmovilizar al conejo mediante un cepo holgado que le permita adoptar una postura natural. Cuando se emplea un termómetro de mercurio, dejar transcurrir el tiempo necesario (previamente determinado) para que se alcance la temperatura máxima, antes de proceder a la lectura.

Animales para el ensayo - Emplear conejos blancos, adultos, sanos, machos o hembras, cuyo peso no sea menor a 1,5 kg, alimentados con una dieta exenta de antibióticos y que no hayan perdido peso dentro de la semana previa al ensayo.

Alojamiento - Alojamiento de los animales en un ambiente apropiado, a una temperatura uniforme entre 20 y 23 °C.

Ensayo preliminar para animales nuevos - Los animales que nunca hayan sido empleados para este ensayo deben someterse a un período de acostumbamiento y control previo. Para ello se colocarán en el cepo 2 horas diarias durante 2 semanas. Durante la segunda semana además se registrará su temperatura a los 60 y 120 minutos de colocados en el cepo. Finalmente se realizará un ensayo con Solución fisiológica libre de piretógenos (SR); no debiendo observarse aumentos de temperatura en cada animal superiores a 0,6 °C.

Selección de animales - Pueden emplearse conejos que hayan sido previamente utilizados cuando:

a) - ha transcurrido un período mayor de 3 días desde el último ensayo;

b) - ha transcurrido un período de por lo menos 14 días en caso que el animal haya presentado un aumento de temperatura de 0,6 °C o más durante el ensayo, o ha recibido un producto declarado piretogénico en un ensayo previo.

Procedimiento - Realizar el ensayo sobre un grupo de tres conejos del mismo sexo, en un área con condiciones ambientales similares al espacio donde están alojados habitualmente y que ésta no presente una variación de temperatura mayor a ± 2 °C. Los animales serán privados de alimento y agua desde la noche anterior hasta el final del ensayo.

Preparación e inyección de la muestra - La muestra puede disolverse o diluirse en Solución fisiológica (SR) estéril o en el líquido que se especifique en la monografía correspondiente. Calentar la solución a inyectar hasta alcanzar una temperatura de 37 ± 2 °C. Inyectar lentamente la solución en la vena marginal de la oreja del conejo durante un tiempo no mayor a 10 minutos a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente. El volumen inyectado no debe ser mayor a 10 ml por kg de peso del animal.

Registro de las temperaturas inicial y máxima - La temperatura inicial de cada conejo es la media de dos valores medidos con un intervalo de 30 a 60 minutos previo a la inyección de la muestra: la temperatura máxima es la temperatura más alta registrada para ese mismo conejo en las 3 horas siguientes a la inyección. Se define la respuesta del animal como la diferencia entre la temperatura máxima y la temperatura inicial de cada conejo. Cuando esta diferencia es negativa el resultado se toma como cero.

Medir la temperatura de cada conejo a intervalos regulares de 30 minutos como máximo, comenzando por lo menos 90 minutos antes de la inyección de la muestra y durante las 3 horas siguientes. Los conejos que presentan una variación de temperatura mayor a 0,2 °C entre dos lecturas sucesivas de las efectuadas para la determinación de la temperatura inicial no deben emplearse. Así como tampoco deben emplearse aquellos conejos cuyas temperaturas iniciales se desvían más de 1 °C con respecto a los restantes animales ni aquellos que tengan una temperatura inicial superior a 39,8 °C.

Interpretación de los resultados - El producto cumple con los requisitos del ensayo si ningún conejo presenta una respuesta con una variación

mayor o igual a 0,5 °C. Si uno o más de los tres conejos presenta un aumento de temperatura mayor a 0,5 °C se debe repetir el ensayo empleando cinco conejos adicionales. El producto cumple con los requisitos del ensayo si no más de tres de los ocho conejos presentan un aumento de temperatura mayor o igual a 0,5 °C y si la suma de los aumentos de temperatura de los ocho conejos no es mayor de 3,3 °C.

350. ENSAYOS DE SUSTANCIAS FÁCILMENTE CARBONIZABLES

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, agregar la cantidad de muestra en pequeñas porciones a un tubo de Nessler de vidrio incoloro, neutro, resistente al ácido sulfúrico y que contenga el volumen especificado de ácido sulfúrico (SR) (ver *Reactivos y Soluciones*).

Agitar la mezcla con una varilla de vidrio hasta disolución completa. Dejar la solución en reposo durante 15 minutos, a menos que se especifique de otro modo y comparar el color de la solución muestra con el de la solución de comparación especificada en la monografía correspondiente (ver *Tabla*), contenida en un tubo

de Nessler igual al anterior. Examinar las soluciones transversalmente contra un fondo blanco.

Cuando se indica que se debe calentar para lograr la disolución de la muestra en ácido sulfúrico (SR), mezclar ambos en un tubo de ensayo, calentar como se indica y transferir la solución al tubo de Nessler.

Preparación de las soluciones de comparación
- Medir exactamente los volúmenes de las soluciones colorimétricas (SC) (ver *Soluciones colorimétricas* en *Reactivos y Soluciones*) y de agua indicados en la *Tabla*. Transferir la solución resultante a un tubo de Nessler y mezclar.

Tabla.

Soluciones de comparación	Partes de cloruro cobaltoso (SC)	Partes de cloruro férrico (SC)	Partes de sulfato cúprico (SC)	Partes de agua
A	0,1	0,4	0,1	4,4
B	0,3	0,9	0,3	3,5
C	0,1	0,6	0,1	4,2
D	0,3	0,6	0,4	3,7
E	0,4	1,2	0,3	3,1
F	0,3	1,2	0,0	3,5
G	0,5	1,2	0,2	3,1
H	0,2	1,5	0,0	3,3
I	0,4	2,2	0,1	2,3
J	0,4	3,5	0,1	1,0
K	0,5	4,5	0,0	0,0
L	0,8	3,8	0,1	0,3
M	0,1	2,0	0,1	2,8
N	0,0	4,9	0,1	0,0
O	0,1	4,8	0,1	0,0
P	0,2	0,4	0,1	4,3
Q	0,2	0,3	0,1	4,4
R	0,3	0,4	0,2	4,1
S	0,2	0,1	0,0	4,7
T	0,5	0,5	0,4	3,6

360. ENSAYO DE TOXICIDAD ANORMAL

El siguiente ensayo se emplea para determinar una reactividad biológica inaceptable o inesperada en productos farmacéuticos. Para productos de origen biológico realizar el ensayo según se indica en *Productos biológicos*.

Procedimiento - Seleccionar cinco ratones sanos que pesen 20 ± 3 g y que no hayan sido empleados en ningún ensayo previo.

Preparar la solución muestra según se especifica en la monografía correspondiente e inyectar a cada ratón 0,5 ml de la misma por vía intravenosa.

Observar los animales durante las 48 horas posteriores a la inyección. Si al cabo de 48 horas todos los animales sobreviven y no más de uno presenta signos externos de una reacción inesperada para el nivel de toxicidad del producto, el mismo cumple con los requisitos del ensayo. Si uno de los animales muere o si más de uno presenta signos de toxicidad anormal, repetir el ensayo empleando al menos diez ratones similares a los del ensayo original que pesen 20 ± 1 g. El producto cumple con los requisitos del ensayo si a las 48 horas todos los ratones sobreviven y no presentan signos de toxicidad anormal.

Productos biológicos - Este ensayo no está indicado para productos como sangre entera, glóbulos rojos, plaquetas o plasma.

Animales - Seleccionar dos cobayos que pesen 400 ± 40 g y dos ratones que pesen 22 ± 2 g, que no hayan sido empleados en ningún ensayo previo.

Procedimiento - La duración del ensayo será de 7 días para cada especie, a menos que se especifique un período más largo en la monografía correspondiente. Cada animal debe ser pesado antes de la primera inyección y al finalizar el ensayo, registrando los pesos individualmente. La observación de los animales debe realizarse diariamente.

Los productos deben ser administrados como se detalla a continuación:

Productos líquidos o liofilizados a ser reconstituidos según se indica en el rótulo - Inyectar por vía intraperitoneal 0,5 ml del producto en cada ratón y 5 ml del producto en cada cobayo.

Productos liofilizados sin indicación de volumen de reconstitución en el rótulo y productos sólidos no liofilizados - Inyectar por vía intraperitoneal una dosis no mayor de 1 ml a los ratones y 5 ml a los cobayos.

Interpretación de los resultados - El producto cumple con los requisitos si todos los animales sobreviven al ensayo, no presentan respuestas

inesperadas al producto y el peso de los animales al finalizar el período de ensayo no es menor al que tenían al comienzo del mismo.

Si el producto no cumple con los requisitos del ensayo, repetir según se indica en *Procedimiento* empleando las especies de animales en las cuales no se cumplieron los requisitos originales. El producto cumple con los requisitos del ensayo, si los animales satisfacen el criterio especificado para el ensayo original. Si el producto no cumple con los requisitos y si han sobrevivido por lo menos el 50% de los animales (incluyendo el ensayo original y la repetición), repetir nuevamente con el doble de animales de las especies que no cumplieron los requisitos. El producto cumple los requisitos del ensayo si los animales satisfacen el criterio especificado en el ensayo original.

370. ENSAYOS DE ESTERILIDAD

El siguiente ensayo se emplea para verificar la ausencia de contaminación por microorganismos en productos esterilizados o preparados asépticamente. Durante el desarrollo del ensayo, el área de trabajo no debe estar expuesta a la luz ultravioleta directa ni sometida a otros agentes esterilizantes. Deben realizarse monitoreos microbiológicos del área durante los ensayos.

La ausencia de contaminación microbiana, evidenciada por este procedimiento, confirma que el producto cumple con los requisitos del ensayo aunque el mismo no es suficiente para suponer la total esterilidad del lote ensayado, dadas las limitaciones inherentes a la estadística del muestreo.

MEDIOS DE CULTIVO

Los medios de cultivo se preparan de acuerdo a las siguientes fórmulas. También se pueden emplear fórmulas deshidratadas que luego de reconstituidas cumplan con el *Ensayo de promoción del crecimiento*.

Medio Tioglicolato

(Para incubación en condiciones aeróbicas)

L-Cistina.....	0,5 g
Agar (con menos de 15 % de humedad).....	0,75 g
Cloruro de sodio.....	2,5 g
Glucosa Monohidrato.....	5,5 g
Extracto de levadura (soluble en agua).....	5,0 g
Digerido pancreático de caseína.....	15,0 g
Tioglicolato de sodio*.....	0,5 g g
Solución de resazurina sódica (0,1 %), recién preparada.....	1,0 ml
Agua c.s.p.....	1.000 ml
pH después de la esterilización: $7,1 \pm 0,2$	

Mezclar y calentar hasta disolución completa. Ajustar el pH del medio con hidróxido de sodio 1 N para obtener, después de la esterilización, un pH de $7,1 \pm 0,2$. Filtrar en caliente, si fuera necesario, a través de un papel de filtro humedecido. Distribuir el medio en recipientes de vidrio que mantenga una relación entre la superficie expuesta y la profundidad de medio tal que no más de la mitad superior experimente un cambio de color, indicativo de la fijación de oxígeno, al final del período de incubación. Tapar para evitar la contaminación y la evaporación excesiva del medio durante el almacenamiento. Esterilizar en autoclave empleando un procedimiento validado. Enfriar inmediatamente a 25 °C. Si más del tercio superior ha tomado una

coloración rosada, el medio podrá regenerarse una sola vez, calentando los recipientes en un baño de agua o con vapor fluente, hasta que desaparezca el color. Cuando el medio está listo para emplear, no más del décimo superior debe tener un color rosado.

*En caso de reemplazarse por Ácido tioglicólico emplear 0,3 ml.

Caldo Tioglicolato Alternativo

(Para incubación en condiciones anaeróbicas)

L-cisteína.....	0,5 g
Cloruro de sodio.....	2,5 g
Glucosa Monohidrato.....	5,5 g
Extracto de levadura (soluble en agua).....	5,0 g
Digerido pancreático de caseína.....	15,0 g
Tioglicolato de sodio.....	0,5 g
O Ácido tioglicólico.....	0,3 g
Agua c.s.p.....	1.000 ml
pH después de la esterilización : $7,1 \pm 0,2$	

Disolver los componentes sólidos en el agua, calentando suavemente, si fuera necesario, hasta obtener una solución. Ajustar la solución con hidróxido de sodio 1 N para obtener, después de la esterilización, un pH de $7,1 \pm 0,2$. Filtrar, si fuera necesario, transferir a recipientes apropiados y esterilizar en autoclave empleando un procedimiento validado. El medio debe ser recientemente preparado o calentado en un baño de vapor y enfriado rápidamente antes de su empleo. No se debe recalentar.

Caldo Digerido de Caseína-Soja

(Para incubación en condiciones aeróbicas)

Digerido pancreático de caseína.....	17,0 g
Digerido papaínico de harina de soja.....	3,0 g
Glucosa Monohidrato.....	2,5 g
Fosfato dibásico de potasio.....	2,5 g
Cloruro de sodio.....	5,0 g
Agua c.s.p.....	1000 ml
pH después de la esterilización: $7,3 \pm 0,2$	

Disolver los componentes sólidos en el agua, calentando suavemente. Enfriar la solución a temperatura ambiente y ajustar con hidróxido de sodio 1 N para obtener, después de la esterilización, un pH de $7,3 \pm 0,2$. Filtrar, si fuera necesario, y envasar en recipientes apropiados. Esterilizar en autoclave empleando un procedimiento validado.

Medios para penicilinas y cefalosporinas

Cuando se empleen en el *Método de transferencia directa* para penicilinas o cefalosporinas, *Medio Tioglicolato* y *Caldo Digerido de Caseína-Soja*, transferir en forma aséptica a cada tubo con medio, una cantidad suficiente de penicilinas para inactivar la cantidad de antibiótico presente en la muestra. Determinar la cantidad apropiada de penicilinas para este propósito empleando una preparación de penicilinas, cuya actividad haya sido determinada previamente o confirmar que la cantidad de penicilinas transferida es la apropiada. Efectuar para ello, el *Ensayo de validación para bacteriostasis y fungistasis*, empleando menos de 100 unidades formadoras de colonias (ufc) de *Staphylococcus aureus* (ATCC 29737) y observando desarrollo microbiano típico. [NOTA: en los medios empleados para el método de filtración por membrana, también puede ser necesario el agregado de penicilinas].

Esterilidad de los medios de cultivo

Verificar la esterilidad de cada lote incubando una porción del lote a la temperatura especificada durante 7 días o incubando un recipiente con medio no inoculado como control negativo.

Ensayo de promoción del crecimiento

Examinar la carga esterilizada de cada lote de medio para determinar su capacidad de promover el crecimiento microbiano a través de la inoculación, por duplicado, en envases separados de cada medio, con menos de 100 microorganismos viables de cada una de las cepas descritas en la *Tabla 1* e incubando en las condiciones especificadas.

Los medios de cultivo son aceptables si existen evidencias de crecimiento en todos los envases inoculados dentro de los 5 días de incubación. Los ensayos pueden ser llevados a cabo simultáneamente con los ensayos de esterilidad. El ensayo de esterilidad no es válido si el medio de cultivo presenta una respuesta inapropiada al crecimiento microbiano.

Almacenamiento

Si los medios recientemente preparados no se emplean en el término de 2 días, se deben almacenar entre 2 y 25 °C.

Si los medios se almacenan en envases sellados pueden ser empleados durante no más de 1 año, pero se deben llevar a cabo los ensayos de promoción del crecimiento cada 3 meses y confirmar si cumplen con los requisitos correspondientes al color del indicador.

SOLUCIONES DE LAVADO Y DILUCIÓN

Solución A - Disolver 1 g de digerido péptico de tejido animal en agua hasta obtener 1 litro, filtrar o centrifugar para obtener una solución transparente. Ajustar a pH $7,1 \pm 0,2$, envasar en recipientes apropiados y esterilizar. [NOTA: cuando la *Solución A* deba ser empleada para realizar el ensayo de esterilidad de una muestra de antibióticos del tipo penicilina o cefalosporina, agregar asépticamente una cantidad de penicilinas estéril a la *Solución A*, suficiente para inactivar el antibiótico residual en las membranas después que la solución muestra haya sido filtrada].

Solución D - Agregar 1 ml de polisorbato 80 por cada litro de *Solución A* cuando la muestra contiene lecitina o aceite o en los ensayos para determinar la esterilidad de las partes internas de dispositivos estériles por filtración a través de membrana. Ajustar a pH $7,1 \pm 0,2$. Transferir a los envases y esterilizar.

Solución K -

Diégerido péptico de tejido animal..... 5,0 g
 Extracto de carne..... 3,0 g
 Polisorbato 80..... 10,0 g
 Agua c.s.p..... 1.000 ml
 pH después de la esterilización: $6,9 \pm 0,2$

Distribuir en recipientes apropiados y esterilizar.

[NOTA: la solución de lavado y dilución empleada, no deberá tener propiedades antibacterianas o antifúngicas. Esto se comprueba efectuando el *Ensayo de validación para bacteriostasis y fungistasis*.]

ENSAYO DE VALIDACIÓN PARA BACTERIOSTASIS Y FUNGISTASIS

Antes de efectuar un ensayo de esterilidad de un producto dado, se determinará el nivel de actividad bacteriostática y fungistática del mismo a través de los procedimientos que se describen a continuación. Estos procedimientos se efectúan al menos cada vez que se cambia alguna condición del ensayo o la composición del producto.

Preparar cultivos diluidos de bacterias y hongos de al menos los microorganismos indicados en la *Tabla 1* e incubando en las condiciones especificadas, para obtener una concentración final de cada uno de los microorganismos empleados menor a 100 ufc por ml.

Ensayo de validación del método de filtración por membrana

Filtrar la cantidad de muestra a emplear para realizar el ensayo de esterilidad. Lavar la membrana, si fuera necesario, con tres porciones de 100 ml de la *Solución de lavado y dilución* apropiada, inoculando el lavado final con menos de 100 ufc. Repetir el lavado en otro filtro en el que no hubo pasaje de muestra (control positivo). Colocar la membrana o la mitad de la membrana en 100 ml del medio de cultivo especificado o agregar el medio especificado al embudo que contiene la membrana. Repetir el procedimiento para los microorganismos y los medios especificados en la *Tabla 1* e incubar los envases a la temperatura apropiada y bajo las condiciones señaladas, por un período no menor a 7 días.

Si el crecimiento de los microorganismos en la mezcla de producto y medio de cultivo fuera visualmente comparable al observado en los frascos del control positivo, se debe emplear la misma cantidad de producto y de medio de cultivo cuando se realice el ensayo de esterilidad.

Si el desarrollo microbiano del medio de cultivo con producto no es visualmente comparable al observado en el control positivo, el producto posee propiedades bacteriostáticas y/o fungistáticas. Repetir aumentando el número de lavados, cambiando el tipo de membrana, o empleando un agente neutralizante. Si no se logró neutralizar el residuo antimicrobiano de la membrana aún con 5 lavados de 500 ml cada uno, proceder con el ensayo de esterilidad.

Ensayo de validación del método de transferencia directa

Inocular dos recipientes de cada medio de cultivo con menos de 100 ufc de los microorganismos especificados en la *Tabla 1*, empleando los volúmenes de cada medio especificados en la *Tabla 2*. Agregar la cantidad de muestra especificada a uno de los recipientes. El otro será el control positivo. Repetir el procedimiento para cada cepa e incubar durante no más de 7 días.

Si el crecimiento de los microorganismos en la mezcla de producto y medio de cultivo fuera visualmente comparable al observado en los frascos de control positivo, se emplea la misma cantidad de producto y de medio de cultivo cuando se efectúa el ensayo de esterilidad.

Si el desarrollo microbiano del medio de cultivo con producto no es visualmente comparable al observado en el control positivo, el producto posee propiedades bacteriostáticas y/o fungistáticas. Repetir el ensayo empleando

agentes neutralizantes estériles, como polisorbato 80, lecitina o penicilinas, o incrementar el volumen de medio. Emplear la menor cantidad de volumen de medio para no afectar el crecimiento de microorganismos en presencia del producto a ensayar. Si se incrementó el volumen del medio para no afectar el crecimiento de microorganismos en presencia del producto a ensayar. Si se incrementó el volumen del medio a 2 litros y aún posee propiedades antimicrobianas, proceder con el ensayo de esterilidad.

PROCEDIMIENTO GENERAL

El ensayo puede realizarse de dos maneras: por transferencia directa al medio o mediante el método de filtración por membrana. A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, emplear el método de filtración por membrana.

Apertura de envases

Limpiar la superficie exterior de las ampollas, los tapones de viales y frascos con un agente descontaminante apropiado y acceder al contenido de los mismos en forma aséptica. Si el contenido de los viales fuera envasado al vacío, se debe introducir en ellos aire estéril por medio de un dispositivo estéril a la que se adosa un filtro esterilizante.

Los envases de algodón purificado, gasas, apósitos quirúrgicos, suturas y materiales similares, deben abrirse mediante técnicas asépticas.

Cantidad de muestra y condiciones de incubación

Cuando se emplea el *Método de Filtración por membrana*, a menos que se especifique de otro modo en este capítulo o en la monografía y correspondiente, emplear, en lo posible, el contenido total de cada unidad, pero no menos de las cantidades especificadas en las *Tablas 2 y 3*. Cuando se emplee el método de *Transferencia directa*, emplear las cantidades indicadas en las *Tablas 2 y 3*. Si el contenido de las unidades fuera suficiente, se puede dividir para agregar a cada uno de los dos medios especificados para el ensayo. Si cada unidad no tuviera un contenido suficiente para ambos medios, emplear el doble de unidades.

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente o en una sección de este capítulo, incubar la mezcla de ensayo durante 14 días con *Medio Tioglicolato* o *Caldo Tioglicolato Alternativo* a una temperatura de

32,5 ± 2,5 °C y con *Caldo Digerido de Caseína-Soja* a una temperatura de 22,5 ± 2,5 °C, empleando volúmenes de medio no menores a los indicados en las *Tablas 2 y 3*.

METODO DE FILTRACION POR MEMBRANA

Membrana - Una membrana apropiada para los ensayos de esterilidad posee un tamaño de poro de 0,45 µm y un diámetro aproximado de 47 mm y tiene un borde hidrofóbico o de baja retención de producto para minimizar la inhibición microbiana de los residuos. Si el producto no tiene sustancias inhibitoras puede emplearse una membrana sin borde hidrofóbico, pero debe humedecerse antes de agregar la solución con el producto. La membrana puede esterilizarse por separado, por cualquier método que conserve sus características de filtración. Cuando el producto a ser ensayado es un aceite, la membrana debe estar completamente seca antes de realizar el ensayo.

Membrana filtrante - Es un dispositivo que posibilita la manipulación aséptica de las muestras a ensayar, permitiendo la remoción aséptica de la membrana y su incorporación al medio de cultivo o un sistema donde el medio pueda ser agregado y la membrana incubada *in situ*. El dispositivo puede ser montado y esterilizado con la membrana colocada antes de su empleo.

Líquidos miscibles en vehículos acuosos - Transferir asépticamente los volúmenes requeridos para ambos medios, según se indica en la *Tabla 2*. Filtrar inmediatamente con la ayuda de vacío o presión.

Si los líquidos son viscosos y difíciles de filtrar, se pueden emplear más de dos dispositivos, se incuba en cada medio la mitad del número de membranas empleadas, cuidando que los volúmenes y el número de envases se ajusten a las condiciones especificadas. Si el producto tiene propiedades bacteriostáticas o fungistáticas, lavar la membrana o membranas con tres porciones de 100 ml de *Solución A*.

Retirar asépticamente la membrana o membranas de sus respectivos dispositivos (si se emplea una sola membrana cortarla por la mitad). Sumergir cada mitad o cada membrana entera, según corresponda, en los medios de cultivo correspondientes e incubar. Si se emplea un sistema cerrado, llenar cada recipiente con el medio correspondiente cuidando que este procedimiento no cause excesiva alteración del *Medio tioglicolato*.

Líquidos inmiscibles en vehículos acuosos - Transferir asépticamente el volumen requerido para ambos medios de cultivo según se indica en la *Tabla 2*. De este modo, la membrana representa el contenido de los veinte envases filtrados. Puede incubarse media membrana en cada medio. Filtrar inmediatamente con ayuda de vacío o presión.

Si la muestra es un líquido viscoso o una suspensión que no se adapta a la filtración rápida, agregar asépticamente el diluyente al líquido recolectado de todos los envases para aumentar la velocidad de filtración. Si la muestra a ensayar tiene propiedades bacteriostáticas o fungistáticas o posee algún conservador, lavar el filtro de 1 a 3 veces con 100 ml de *Solución A*. Si el producto contiene lecitina, reemplazar la *Solución A* por *Solución D*. Al finalizar la filtración y el lavado, proceder con la membrana o membranas según se indica en *Líquidos miscibles en vehículos acuosos*, comenzando donde dice "*Retirar asépticamente la membrana...*".

Sólidos filtrables - Transferir una cantidad del producto sólido (una solución o suspensión del producto reconstituido) correspondiente a la cantidad indicada en la *Tabla 3*. A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, el número de unidades a ensayar es el mismo especificado en *Líquidos miscibles en vehículos acuosos*. Transferir la muestra en forma aséptica a un recipiente que contenga 200 ml de *Solución A* y agitar hasta disolución.

Si la muestra no se disuelve totalmente, emplear 400 ml de la *Solución A* o dividirla en 2 porciones iguales y disolver cada una en 200 ml de *Solución A*. Transferir asépticamente la solución o soluciones a uno o dos sistemas filtrantes y filtrar con la ayuda de vacío o presión.

Proceder según se indica en *Líquidos miscibles en vehículos acuosos* comenzando donde dice "*Si el producto tiene propiedades bacteriostáticas...*".

Formas semisólidas y aceites solubles en miristato de isopropilo - Disolver la cantidad de cada unidad especificada en la *Tabla 3* en no menos de 100 ml de miristato de isopropilo cuyo extracto acuoso posee un pH no menor a 6,5 (ver *Especificaciones de reactivos en Reactivos y Soluciones*) el cual se ha esterilizado previamente empleando una membrana de 0,22 µm de porosidad. [NOTA: calentar el solvente esterilizado y, si fuera necesario, la muestra a ensayar a no más de 44 °C antes de ser empleado]. Agitar el frasco para disolver la muestra. Transferir en forma aséptica a uno o dos sistemas filtrantes y filtrar con ayuda de vacío o presión.

Mantener la membrana filtrante cubierta-con líquido para una máxima eficiencia de filtración. Lavar la/s membrana/s con dos alícuotas de 200 ml de *Solución D*; posteriormente con 100 ml de *Solución A*. Proceder según se indica en *Líquidos miscibles en vehículos acuosos* comenzando donde dice "*Retirar asépticamente la membrana...*" agregando 1 g de polisorbato 80 por litro de medio de cultivo empleado.

Si la muestra a ensayar contiene vaselina, emplear *Solución K*. Humedecer la/s membranas con aproximadamente 200 µl de solución de lavado antes de comenzar la filtración y mantener la/s membrana/s cubierta/s con líquido durante el filtrado para obtener la máxima eficiencia en la filtración. Posteriormente lavar las membranas con tres alícuotas de 100 ml de *Solución K*. Proceder según se indicó anteriormente.

Inyectables sólidos - Disolver o suspender el polvo como se indica en el rótulo y proceder según se indica en *Líquidos miscibles en vehículos acuosos*.

Aerosoles estériles - Colocar las unidades de aerosoles líquidos en una mezcla de alcohol y hielo seco a una temperatura no mayor de -20 °C durante aproximadamente 1 hora. Dejar escapar el propelente, si es posible; antes de abrir asépticamente las unidades y transferir el contenido a un frasco estéril. Agregar 100 ml de *Solución D* y mezclar suavemente. Proceder según se indica en *Líquidos miscibles en vehículos acuosos* o *Líquidos inmiscibles en vehículos acuosos* según corresponda.

Dispositivos médicos esterilizados - Los dispositivos que tienen pasos o conductos estériles se ensayan según se describe a continuación. Transferir asépticamente a través de cada dispositivo diez veces un volumen suficiente de *Solución D*, de modo de recuperar no menos de 100 ml de cada dispositivo. Recoger la solución en recipientes estériles y filtrar el total del volumen recogido a través de embudo/s con membrana filtrante, según se indica en *Líquidos miscibles en vehículos acuosos*, comenzando donde dice "*Retirar asépticamente la membrana...*".

Jeringas prellenadas - Drenar el contenido de cada jeringa a través de la aguja o directamente si no tiene la aguja colocada. Proceder según se indica en *Líquidos miscibles en vehículos acuosos*.

METODO DE TRANSFERENCIA DIRECTA

Líquidos no filtrables - Transferir asépticamente, a partir de los envases originales, el volumen de muestra especificado, empleando pipetas o jeringas con agujas estériles, a un frasco con medio de cultivo. Mezclar el líquido con el medio sin airear excesivamente. Proceder según se indica en *Procedimiento*.

Formas semisólidas y aceites insolubles en miristato de isopropilo - Dividir los envases en dos grupos de diez para llevar a cabo el siguiente procedimiento con cada uno de ellos. En forma aséptica, transferir de cada uno de los envases la cantidad indicada en la *Tabla 3*, a un recipiente con 200 ml de un vehículo acuoso estéril capaz de dispersar homogéneamente el producto a ensayar. [NOTA: la elección del dispersante incorporado al vehículo acuoso depende de la naturaleza del producto]. Antes de iniciar el ensayo con un dispersante, determinar que, a la concentración empleada, no posea efectos antimicrobianos, empleando los procedimientos establecidos en *Ensayo de validación para bacteriostasis y fungistasis*. Mezclar una alícuota de 20 ml de la muestra dispersada con 200 ml de cada medio de cultivo y proceder según se indica en *Procedimiento*.

Sólidos no filtrables - Transferir una cantidad del producto sólido (una solución o suspensión del producto reconstituido) correspondiente a no menos de la cantidad indicada en la *Tabla 3*, a un recipiente que contenga no menos de 200 ml de *Medio Tioglicolato* y mezclar. Repetir el procedimiento con la misma cantidad de *Caldo Digerido de Caseína-Soja* y mezclar. Proceder según se indica en *Procedimiento*.

Algodón purificado, gasa, apósitos quirúrgicos, material para suturas y productos relacionados - De cada envase de algodón, gasa en rollos o vendas de gasa, extraer en forma aséptica dos o más porciones de 100 a 500 mg de la parte más interna del envase. En el caso de materiales envueltos individualmente, extraer asépticamente una sola porción de 250 a 500 mg o la muestra entera en el caso de productos pequeños.

Transferir asépticamente estas porciones al número especificado de recipientes con medio de cultivo. Incubar. Proceder según se indica en *Procedimiento*.

Dispositivos médicos esterilizados - Para dispositivos, que por su tamaño y forma, permitan la completa inmersión en el medio de cultivo, puede emplearse el método de transferencia directa sumergiendo el dispositivo completo en el

medio apropiado siempre que el lumen o el interior del material quede lleno con medio. Incubar y proceder según se indica en *Procedimiento*.

Para guías de transfusión o perfusión o cuando el tamaño de la muestra hace impracticable su inmersión y si sólo la cara interna del tubo debe ser estéril, lavar los lúmenes de veinte unidades con una cantidad suficiente de *Medio Tioglicolato* y el lumen de veinte unidades con una cantidad suficiente de *Medio Digerido de Caseína-Soja* para obtener no menos de 15 ml de cada medio. Para instrumentos en los cuales el lumen es demasiado pequeño como para permitir el paso del *Medio Tioglicolato*, se lo debe sustituir por el *Caldo Tioglicolato Alternativo* siempre que el medio se emplee en condiciones anaeróbicas.

Cuando a causa del tamaño y forma de un dispositivo no pueda llevarse a cabo el ensayo de esterilidad por inmersión, sumergir en los medios de cultivo las partes que estarán en contacto con el paciente. Para catéteres en los que es requisito de esterilidad tanto su interior como su exterior, cortarlos en porciones tales que el medio se encuentre en contacto con todo el dispositivo.

Cuando la muestra en el medio interfiera con el ensayo debido a su acción bacteriostática o fungistática, proceder según se indica en *Método de filtración por membrana*.

Procedimiento

Examinar el medio visualmente para comprobar si hay crecimiento microbiano al tercer, cuarto o quinto día; al séptimo u octavo y el último día del período del ensayo.

Cuando el material ensayado produce turbidez en el medio y la observación visual del crecimiento de bacterias u hongos es dificultosa, transferir porciones apropiadas de la mezcla que contiene la muestra y el medio a envases con

medio de cultivo nuevo, durante el período del tercer al séptimo día después de haber empezado el ensayo. Se debe continuar con la incubación de varias muestras, la inicial y la de transferencia por no menos de 14 días desde la incubación inicial.

INTERPRETACION DEL ENSAYO DE ESTERILIDAD

En zonas limpias y en áreas limpias - En los intervalos indicados durante y al final del período de incubación, se debe observar el contenido de todos los recipientes empleados para la detección de desarrollo microbiano. Si no se observa desarrollo, el producto cumple con los requisitos del ensayo de esterilidad.

Si se observa desarrollo microbiano, pero si los monitoreos de las instalaciones donde se lleva a cabo el ensayo, de los materiales empleados, la técnica empleada y los controles negativos indican que el procedimiento fue inapropiado, el ensayo se declara nulo y debe repetirse. Si se observa desarrollo microbiano confirmado microscópicamente y no existen evidencias suficientes para anular el ensayo, el producto no cumple con los requisitos del ensayo de esterilidad.

En aisladores - Cuando el ensayo de esterilidad se realiza en aislador, el producto cumple con los requisitos del ensayo de esterilidad cuando no se observa desarrollo microbiano. Cuando se observa desarrollo microbiano y es confirmado microscópicamente, el producto no cumple con los requisitos del ensayo de esterilidad. El ensayo no se considera válido cuando se demuestra pérdida de integridad física del aislador, por falla en la técnica aséptica o por materiales no estériles dentro del aislador. En estos casos se debe repetir el ensayo.

Tabla 1.

Medio	Microorganismos de ensayo	Incubación	
		Temperatura	Condiciones
Medio Tioglicolato	(1) <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC N° 6538) ⁽¹⁾	32,5 ± 2,5 °C	Aeróbicas
	(2) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC N° 9027) ⁽²⁾	32,5 ± 2,5 °C	
	(3) <i>Clostridium sporogenes</i> (ATCC N° 11437) ⁽³⁾	32,5 ± 2,5 °C	
Caldo Tioglicolato Alternativo ⁽⁴⁾	(1) <i>Clostridium sporogenes</i> (ATCC N° 11437)	32,5 ± 2,5 °C	Anaeróbicas
Caldo Digerido de Caseína-Soja	(1) <i>Bacillus subtilis</i> (ATCC N° 6633) ⁽¹⁾	22,5 ± 2,5 °C	Aeróbicas
	(2) <i>Candida albicans</i> (ATCC N° 10231)	22,5 ± 2,5 °C	
	(3) <i>Aspergillus Niger</i> (ATCC N° 16404)	22,5 ± 2,5 °C	

(1) Como alternativa a *Staphylococcus aureus* (ATCC N° 6538), puede emplearse *Bacillus subtilis* (ATCC N° 6633).

(2) Como alternativa a *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC N° 9027), puede emplearse *Micrococcus luteus* (ATCC N° 9341).

(3) Como alternativa a *Clostridium sporogenes* (ATCC N° 11437) y en caso de no ser requerido un esporoformador, puede emplearse *Bacteroides vulgatus* (ATCC N° 8482).

(4) Emplear para el ensayo de esterilidad de dispositivos médicos que contengan tubos de pequeño diámetro.

Tabla 2. Cantidades para productos líquidos

Contenido del envase (ml)	Volumen mínimo de cada envase para cada medio	Volumen mínimo de cada medio	
		Empleado para transferencia directa del volumen tomado de cada envase (ml)	Empleado para membrana o media membrana representando el total del volumen de un número apropiado de envases (ml)
< 10	1 ml o el contenido total si es menor de 1 ml	15	100
≥ 10 y < 50	5 ml	40	100
≥ 50 y < 100	10 ml	80	100
≥ 50 y < 100, para administración intravenosa	Contenido completo	-	100
100 a 500	-	-	100
> 500	500 ml	-	100

Tabla 3. Cantidades para productos sólidos

Contenido del envase	Cantidad mínima tomada de cada envase para cada medio	Volumen mínimo de cada medio	
		Transferencia directa	Filtración por membrana
< 50 mg	Contenido completo	200 ml	100 ml
> 50 mg y < 200 mg	Mitad del contenido	200 ml	100 ml
200 a 300 mg	100 mg	200 ml	100 ml
> 300 a 600 mg	200 mg	200 ml	100 ml
> 600	200 mg	200 ml	100 ml
Antibióticos (sólidos)	150 mg	200 ml	100 ml
Algodón, gasa	100 mg	200 ml	-
Suturas y otros materiales descartables	Envase completo	No más de 2 litros	-
Dispositivos médicos	Dispositivo completo	No más de 2 litros	-

Tabla 4. Número mínimo de unidades a ensayar en relación al tamaño del lote

Tamaño del lote	Tamaño de la muestra
<i>Productos inyectables</i>	
<100 unidades	10 % o 4 (el que sea mayor)
> 100 y ≤ 500	10
> 500	2 % o 20 (el que sea menor)
Parenterales de gran volumen	2 % o 10 (el que sea menor)
<i>Antibióticos sólidos</i>	
Envases de < 5	20
Envases ≥ 5 g	6
Graneles y mezclas	Ver <i>Granel de productos sólidos</i>
<i>Productos no inyectables</i>	
≤ 200	5 % o 2 (el que sea mayor)
> 200	10
<i>Dispositivos médicos</i>	
≤ 100	10 % o 4 (el que sea mayor)
> 100 y ≤ 500	10
> 500	2 % o 20 (el que sea menor)
<i>Granel de productos sólidos</i>	
≤ 4 envases	Todos
> 4 y ≤ 50	20 % o 4 (el que sea mayor)
> 50	2 % o 10 (el que sea mayor)

380. ENSAYOS DE REACTIVIDAD BIOLÓGICA

Estos ensayos están diseñados para determinar la reactividad biológica de materiales elastoméricos, plásticos y otros polímeros destinados a estar en contacto directo o indirecto con pacientes. Pueden realizarse *in vitro* o *in vivo*.

Para los objetivos establecidos en este capítulo se aplican las siguientes definiciones: la muestra es el material o un extracto preparado a partir del mismo; el blanco consiste en la misma cantidad del mismo medio empleado en la extracción de la muestra, tratado de la misma forma que el medio que contiene la muestra a ensayar; el control negativo es un material que produce una reactividad reproducible y despreciable en las condiciones del ensayo y el control positivo es un material que produce una reactividad reproducible y de citotoxicidad moderada en las condiciones del ensayo, como por ej., látex de goma.

Los materiales poliméricos deben ensayarse en las condiciones en que van a ser empleados. Si los materiales van a ser sometidos a procedimientos de limpieza y/o esterilización, la muestra debe ser preparada con material preacondicionado del mismo modo.

ENSAYOS DE REACTIVIDAD BIOLÓGICA *IN VITRO*

Estos ensayos evalúan la reactividad biológica de cultivos de células de mamíferos después del contacto con materiales elastoméricos, plásticos y otros polímeros o de extractos específicos preparados a partir de los mismos.

Se describen tres ensayos: el *Ensayo de Difusión en Agarosa*, el *Ensayo de Contacto Directo* y el *Ensayo de elución*. La elección del tipo o número de ensayos a emplear para la evaluación de la respuesta biológica de una determinada muestra o extracto depende del material empleado, del producto final y del uso posterior.

Preparación del cultivo celular - Preparar múltiples cultivos de la línea celular L-929 (tejido conectivo de ratón, monocapa epitelial) en medio de cultivo Dulbecco's modified Eagles Medium (DMEM) suplementado con suero fetal bovino al 10 %, glutamina 0,3 %, aminoácidos no esenciales 1 %, con una densidad de sembrado de 4.10^5 células por ml. Incubar a 37 ± 1 °C en una estufa de cultivo en atmósfera humidificada de 5 ± 1 % de dióxido de carbono en aire durante 24 horas hasta que la monocapa alcance una confluencia mayor al 80 %. Examinar los cultivos preparados con un

microscopio invertido para asegurar monocapas uniformes casi confluentes.

[NOTA: la reproducibilidad de los ensayos de reactividad biológica *in vitro* depende de la obtención de una densidad de cultivo uniforme.]

Solventes de extracción - Emplear Solución fisiológica (SR) estéril. Pueden emplearse también medios de cultivo para células de mamífero sin suero o medios de cultivo de células de mamífero suplementados con suero cuando la extracción se realiza a 37°C durante 24 horas.

Aparatos - Emplear un autoclave; una estufa, preferiblemente de convección forzada, que mantenga las temperaturas de operación entre 50 y 70 ± 2 °C; una estufa de cultivo, capaz de mantener una temperatura de 37 ± 1 °C y una atmósfera humidificada de 5 ± 1 % de dióxido de carbono en aire.

Materiales –

Envases de extracción - Emplear envases con tapa a rosca de vidrio Tipo I. Si la tapa a rosca contiene una cubierta interna elastomérica, ésta debe estar totalmente protegida con material inerte de 50 a 75 µm de espesor.

Preparación del material - Limpiar cuidadosamente todo el material de vidrio con mezcla sulfocrómica y, si fuera necesario, con ácido nítrico caliente seguido de lavados con *Agua para Inyectables*. Esterilizar y secar los envases e instrumental empleados para la extracción, transferencia o administración del material de ensayo.

Procedimiento –

Preparación muestra - Seleccionar y subdividir la muestra según se indica en la *Tabla 1*.

Es esencial la relación entre la superficie expuesta a la extracción y el volumen de solvente de extracción. Cuando la superficie de la muestra no pueda ser determinada emplear 0,1 g de elastómero ó 0,2 g de material plástico u otro material por cada ml de medio de extracción.

Transferir la muestra subdividida a una probeta graduada, estéril, de vidrio Tipo I de 100 ml, provista de un tapón de vidrio. Lavar dos veces con aproximadamente 70 ml de *Agua para Inyectables*, agitando durante 30 segundos en cada lavado y eliminando completamente el agua de lavado. Secar las piezas destinadas a la extracción con *Aceite Vegetal*, en estufa que no exceda los 50 °C. [NOTA: la muestra no se debe limpiar con paño húmedo o seco, ni lavar o enjuagar con solventes

orgánicos, detergentes, etc.]. Se deben tomar precauciones para evitar la contaminación con microorganismos u otros materiales extraños.

Preparación de extractos - Transferir al envase de extracción 20 ml de solución fisiológica (SR) estéril o medio de cultivo para células de mamífero sin suero como solvente de extracción y agregar las piezas de la muestra individualmente. Repetir este procedimiento para cada medio de extracción requerido en el ensayo. Preparar un blanco con 20 ml de cada medio de extracción. Realizar la extracción por calentamiento en autoclave a 121 °C durante 60 minutos o en estufa a 70 °C durante 24 horas o a 50 °C durante 72 horas. [NOTA: si la extracción se realiza a 37 °C durante 24 horas, en estufa de cultivo, emplear el medio de cultivo celular suplementado con suero.]

[NOTA: las condiciones de extracción no deben causar alteraciones físicas como fusión o aglomeración de los trozos del material plástico, pues esto provocaría una reducción del área expuesta; sólo es aceptable una leve adherencia del material. Siempre agregar las piezas limpias individualmente al medio de extracción.]

Enfriar a temperatura ambiente, pero no menor de 20 °C. Agitar vigorosamente durante algunos minutos y transferir, inmediatamente en forma aséptica, cada extracto a un recipiente seco y estéril. Almacenar los extractos a temperatura entre 20 y 30 °C y emplearlos dentro de las 24 horas.

ENSAYO DE DIFUSIÓN EN AGAROSA

Este ensayo se emplea para evaluar materiales poliméricos o sus respectivos extractos. En este ensayo la capa de agarosa protege a la monocapa celular de un eventual daño mecánico, al mismo tiempo que permite la difusión de productos químicos cedidos por la muestra. Cuando se analizan extractos, éstos se aplican sobre una porción de papel de filtro atóxico.

Preparación muestra - Emplear porciones de la muestra que tengan una superficie plana no menor de 100 mm² o preparar extractos según se indica en *Preparación de extractos* y aplicar 50 µl del extractivo sobre papel de filtro de superficie no menor de 100 mm².

Preparación de controles positivos y negativos - Proceder según se indica en *Preparación muestra*.

Procedimiento - Preparar monocapas en placas de cultivo de 35 mm de diámetro, sembrando 2 ml de la suspensión celular según se indica en *Preparación del cultivo celular*. Luego de la incubación aspirar el medio de cultivo y

reemplazarlo con un medio preparado mezclando partes iguales del medio de cultivo y de agarosa al 0,7 %.

Transferir la muestra, el *control positivo* y el *control negativo*, o sus respectivos extractos, por duplicado, en contacto con la superficie de la agarosa solidificada de diferentes placas. Incubar todas las placas durante 24 horas a 37 ± 1 °C, en la estufa de cultivo. Fijar, remover la capa de agarosa y teñir con un colorante citoquímico. Examinar en cada cultivo la reactividad alrededor de la muestra, del *control positivo* y del *control negativo*.

Interpretación de los resultados - La reactividad biológica (degeneración y malformación celular) se describe y se califica en una escala de 0 a 4 (ver *Tabla 2*). Medir las respuestas obtenidas con el *control negativo*, el *control positivo* y la muestra. El ensayo es válido si la respuesta observada con el *control negativo* es grado 0 (ninguna reactividad) y para el *control positivo* no es menor que grado 3 (reactividad moderada). La muestra cumple con los requisitos del ensayo si la respuesta observada no es mayor de grado 2 (reactividad leve). Repetir el ensayo si no se confirma su validez.

ENSAYO DE CONTACTO DIRECTO

Este ensayo se emplea para evaluar materiales poliméricos. El procedimiento permite la extracción y ensayo simultáneo de los componentes químicos extraídos desde la muestra con un medio suplementado con suero. Este ensayo no es apropiado para materiales de muy baja densidad ni alta densidad que puedan causar daño mecánico a las células.

Preparación muestra - Emplear porciones de muestra que tengan superficies planas no menores de 100 mm².

Preparación de controles positivos y negativos - Proceder según se indica en *Preparación muestra*.

Procedimiento - Preparar monocapas en placas de cultivo de 35 mm de diámetro empleando 2 ml de la suspensión de células preparadas según se indica en *Preparación del cultivo celular*. Luego de la incubación, aspirar el sobrenadante del medio de cultivo y reemplazarlo con 0,8 ml de medio de cultivo fresco. Colocar en diferentes placas de cultivo la muestra, el *control positivo* y el *control negativo*, todos por duplicado. Incubar todas las placas durante 24 horas a 37 ± 1 °C, en estufa de cultivo. Fijar, lavar y teñir con un colorante citoquímico. Examinar en cada cultivo la

reactividad alrededor de la muestra, del *control positivo* y del *control negativo*.

Interpretación de los resultados – Proceder según se indica para *Interpretación de los Resultados* en *Ensayo de Difusión en Agarosa*. La muestra cumple con los requisitos del ensayo si la respuesta observada no es mayor que grado 2 (reactividad leve). Repetir el ensayo si no se confirma su validez.

ENSAYO DE ELUCIÓN

Este ensayo se emplea para evaluar extractos de materiales poliméricos. El procedimiento permite la extracción de la muestra a temperatura fisiológica o no fisiológica, variando los intervalos de tiempo. Es apropiado para materiales de alta densidad y para evaluaciones dosis-respuesta.

Preparación muestra – Proceder según se indica en *Preparación de los extractos*. Alternativamente, emplear medio de cultivo de células de mamífero suplementado con suero como medio de extracción para simular las condiciones fisiológicas. Preparar los extractos incubando 24 horas en estufa de cultivo para evitar la desnaturalización de las proteínas del suero.

Preparación de los controles positivos y negativos – Proceder según se indica en *Preparación muestra*.

Procedimiento – Preparar las monocapas en placas de 35 mm de diámetro empleando 2 ml de suspensión de células, preparada según se indica en la *Preparación del cultivo celular*. Luego de la incubación, aspirar el medio de cultivo de las monocapas y reemplazarlo con los extractos de la muestra, del *control positivo* y del *control negativo*. Los extractos con medio de cultivo con y sin suero se ensayan por duplicado sin dilución. El extracto preparado con Solución fisiológica (SR) estéril se diluye con medio de cultivo suplementado con suero hasta una concentración del 25 % del extracto y se realiza el ensayo por duplicado. Incubar todas las placas durante 48 horas a 37 ± 1 °C, con estufa de cultivo. Fijar, lavar y teñir con un colorante citoquímico. Examinar en cada cultivo la reactividad de la monocapa celular bajo microscopio.

Interpretación de los resultados – Proceder según se indica para *Interpretación de los Resultados* en *Ensayo de Difusión en Agarosa* pero empleando la *Tabla 3*. La muestra cumple con los requisitos del ensayo si la respuesta observada no es mayor que grado 2 (reactividad media). Repetir el ensayo si no se confirma su validez. Para evaluaciones dosis-respuestas, repetir el

procedimiento, empleando diluciones cuantitativas de los extractos.

ENSAYOS DE REACTIVIDAD BIOLÓGICA IN VIVO

Estos ensayos evalúan la respuesta biológica de animales frente a materiales elastoméricos, plásticos y otros polímeros o de extractos específicos preparados a partir de los mismos.

Se describen tres ensayos: el *Ensayo de Inyección Sistémica*, el *Ensayo Intracutáneo* y el *Ensayo de Implantación*.

El *Ensayo de Inyección Sistémica* y el *Ensayo Intracutáneo* se emplean para evaluar la respuesta sistémica y local respectivamente, luego de la inyección de una sola dosis de extractos específicos del material a ensayar. El *Ensayo de Implantación* evalúa la reacción del tejido vivo luego de la implantación del material como tal.

El *Ensayo de Inyección Sistémica* y el *Ensayo Intracutáneo* se aplican a materiales elastoméricos, especialmente cierres elastoméricos, con significativa reactividad positiva en el *Ensayo de Reactividad Biológica in vitro*.

Estos tres ensayos se emplean también para evaluar materiales destinados a la fabricación de envases y otros accesorios para uso en preparaciones parenterales y para uso en dispositivos biomédicos e implantes.

Sustancia de referencia - Polietileno de alta densidad SR-FA (control negativo).

Medios de extracción –

Solución fisiológica (SR) estéril.

Solución de alcohol en Solución fisiológica (SR) estéril (1 en 20).

Polietilenglicol 400.

Aceite Vegetal - Aceite de sésamo (preferentemente recién refinado) u otro aceite vegetal apropiado.

Vehículo de la droga (cuando corresponda).

Agua para Inyectables.

[NOTA: el aceite de sésamo u otro aceite vegetal debe cumplir con el siguiente requisito: obtener el aceite, si es posible recién refinado. Emplear tres animales e inyectarles el aceite por vía intracutánea en una dosis de 0,2 ml en diez sitios diferentes por animal y observarlos a las 24, 48 y 72 horas posteriores a la inyección. Calificar la reacción en cada sitio según se indica en la *Tabla 4*. Para tres conejos (treinta sitios de inyección), en cualquier período de observación, la respuesta promedio eritematosa no debe ser mayor de 0,5 y la repuesta promedio edematosa no debe ser mayor de 1,0 y ningún sitio de inyección debe presentar una reacción de diámetro mayor que 10 mm. El residuo

de aceite en el sitio de inyección no debe mal interpretarse como edema. El tejido edematoso se blanquea cuando se presiona suavemente.]

Aparatos - Emplear un autoclave y una estufa, preferentemente de convección forzada, que mantenga las temperaturas entre 50 y 70 ± 2 °C.

Materiales - Proceder según se indica en *Materiales en Ensayo de reactividad biológica in vitro*.

[NOTA: limpiar el instrumental para cortar la muestra por un método apropiado (por ej., sucesivas limpiezas con acetona y cloruro de metileno), antes de subdividir el material.]

Procedimiento –

Preparación muestra - Proceder según se indica para *Preparación muestra en Ensayos de reactividad biológica in vitro*. El *Ensayo de Inyección Sistémica* y el *Ensayo Intracutáneo* se llevan a cabo empleando el mismo extracto o, si se prefiere, se preparan extractos individuales para cada ensayo.

Preparación de extractos - Proceder según se indica para *Preparación de extractos en Ensayos de reactividad biológica in vitro* pero empleando un medio de extracción apropiado.

ENSAYO DE INYECCION SISTEMICA

Este ensayo se emplea para evaluar la respuesta sistémica a los extractos de los materiales bajo ensayo, luego de la inyección a ratones.

Animales - Emplear ratones albinos sanos, no empleados en ensayos anteriores, que pesen entre 17 y 23 g. Para cada grupo emplear ratones de un mismo origen. Proveer agua y alimento *ad libitum*.

Procedimiento - [NOTA: agitar cada extracto vigorosamente antes de extraer la dosis a inyectar, asegurando una perfecta homogeneización del extracto]. Tratar un grupo de cinco ratones con la muestra o el blanco según se indica en la *Tabla 5*, pero diluir cada gramo de muestra preparada con polietilenglicol 400 y su correspondiente blanco con 4,1 volúmenes de Solución fisiológica (SR) estéril, hasta obtener una solución que contenga aproximadamente 200 mg de polietilenglicol 400 por ml.

Interpretación de los resultados - Luego de la inoculación, observar los animales a las 4, 24, 48 y 72 horas. La muestra cumple con los requisitos del ensayo si, durante el período de observación, ninguno de los animales inoculados con la muestra presenta un grado de reactividad biológica significativamente mayor que los animales inoculados con el blanco. Si dos o más ratones

mueren o presentan un comportamiento anormal como convulsiones o postración; o si la pérdida de peso es mayor de 2 g en tres o más ratones, la muestra no cumple con los requisitos del ensayo.

Si algunos animales inyectados con la muestra presentan síntomas leves de reactividad biológica y no más de un animal presenta graves síntomas de reactividad biológica o muere, repetir el ensayo empleando grupos de diez ratones.

Luego de repetir el ensayo, la muestra cumple con los requisitos del ensayo si, durante el período de observación, ninguno de los animales inyectados con la muestra presenta un grado de reacción mayor que el observado en los animales inyectados con el blanco.

ENSAYO INTRACUTÁNEO

Este ensayo se emplea para evaluar las respuestas locales a los extractos en estudio, luego de la inyección intracutánea en conejos.

Animales - Seleccionar conejos albinos de piel fina, cuyo pelaje pueda ser rasurado sin provocar irritación o trauma mecánico en la piel. En el manipuleo de los animales evitar tocar el lugar de la inyección, salvo para discriminar entre edema y residuo de aceite. [NOTA: pueden emplearse conejos que hayan sido empleados previamente en ensayos no relacionados, como por ej., para la determinación de pirogénos y hayan permanecido sin tratar durante el período de recuperación indicado, además de presentar la piel totalmente limpia y sin manchas.]

Procedimiento - [NOTA: agitar vigorosamente cada extracto antes de extraer la dosis a inyectar para asegurar una perfecta homogeneización de la muestra.] Rasurar el pelo del animal antes del ensayo, a ambos lados de la columna vertebral en una extensión suficientemente amplia para el ensayo. Evitar irritación o traumatismo mecánico. Extraer el pelo remanente por aspiración. Si fuera necesario, limpiar la piel suavemente con alcohol diluido y secarla antes de la inyección. Puede emplearse más de un extracto por cada tipo de material por conejo, si se ha determinado que esto no altera el resultado del ensayo. Emplear dos animales para cada muestra e inyectarlos intracutáneamente empleando un lado para la muestra y el opuesto para el blanco, según se indica en la *Tabla 6*. [NOTA: diluir cada gramo del *Extracto de la muestra* preparado con polietilenglicol 400 y el blanco correspondiente, con 7,4 volúmenes de Solución fisiológica (SR) estéril, hasta obtener una concentración de aproximadamente 120 mg de polietilenglicol por ml.]

Interpretación de los resultados - Examinar la presencia de eritema, edema y necrosis como reacciones del tejido en los sitios de inyección. Lavar la piel suavemente, si fuera necesario, con alcohol diluido para facilitar la observación de los sitios de inyección. Observar todos los animales a las 24, 48 y 72 horas posteriores a la inyección.

Calificar las observaciones según se indica en la *Tabla 4*. Recortar el pelo, si fuera necesario, durante el período de observación. La calificación promedio para eritema y edema en los sitios de inyección de muestra y blanco se determina en cada período de tiempo (24, 48 y 72 horas) para cada conejo. Una vez transcurridas las 72 horas, todas las calificaciones para eritema más todas las calificaciones para edema se totalizan separadamente para muestra y blanco. Dividir cada total por 12 (dos animales por 3 períodos de calificación por 2 categorías de calificación) para determinar la calificación promedio total de cada muestra frente a su correspondiente blanco. La muestra cumple con los requisitos del ensayo si la diferencia entre la calificación promedio total de la muestra y del blanco es igual o menor a 1,0. Si en algún período de observación la reacción promedio de la muestra es significativamente mayor a la reacción promedio del blanco, repetir el ensayo empleando tres conejos adicionales. La muestra cumple con los requisitos del ensayo si la diferencia entre la calificación promedio de la muestra y del blanco es igual o menor a 1,0.

ENSAYO DE IMPLANTACIÓN

Este ensayo se emplea para evaluar materiales plásticos y otros materiales poliméricos destinados a estar en contacto directo con tejidos vivos. Es sumamente importante la apropiada preparación de los implantes y su implantación en condiciones asépticas.

Preparación muestra - Preparar para la implantación 8 tiras de muestra y 4 tiras de la *Sustancia de referencia*. Cada tira debe medir no menos de 10 mm x 1 mm. Los bordes de las tiras deben ser tan lisos como sea posible para evitar traumas mecánicos, adicionales a la implantación. Las tiras se implantan por medio de una aguja hipodérmica con punta intravenosa. Emplear agujas preesterilizadas dentro de las cuales las tiras de plástico son insertadas asépticamente o insertar cada tira limpia dentro de una aguja y someterla luego a un procedimiento de esterilización apropiado. [NOTA: realizar un desgasificado apropiado si agentes tales como óxido de etileno son empleados.]

Animales - Seleccionar conejos adultos sanos que pesen no menos de 2,5 kg y cuyo músculo paravertebral sean suficientemente grandes en tamaño para permitir la implantación de las muestras. No emplear ningún otro tejido muscular distinto que el paravertebral. Los animales deben ser anestesiados con un grado de profundidad que inhiba los movimientos musculares.

Procedimiento - Realizar el ensayo en un área limpia. En el día del ensayo o dentro de las 20 horas previas, rasurar el pelo de los animales a ambos lados de la columna vertebral. Extraer el pelo remanente por aspiración. Limpiar suavemente la piel con alcohol diluido antes de la inyección.

Implantar en el músculo paravertebral de dos conejos, 4 tiras de la muestra en sitios ubicados a una distancia de 2,5 a 5 cm de la línea media, paralelos a la columna vertebral y separados entre sí por 2,5 cm. De manera similar, implantar 2 tiras de la *Sustancia de referencia*, en el lado opuesto de la columna vertebral de cada animal. Insertar un estilete estéril dentro de la aguja para ayudar a implantar la muestra en el tejido mientras se retira la aguja. Si se observa excesivo sangrado luego de la implantación de una tira, colocar un duplicado en otro sitio.

Mantener los animales por un período no menor de 120 horas y sacrificarlos al finalizar dicho período administrando una sobredosis de un agente anestésico u otro agente apropiado.

Esperar suficiente tiempo para cortar el tejido sin sangrado.

Interpretación de los resultados - Examinar empleando una lupa y una fuente de luz auxiliar el área de tejido que rodea cada implante. Observar los sitios de implante de la muestra y de la *Sustancia de referencia* para detectar hemorragia, necrosis; decoloraciones e infecciones y registrar las observaciones. Medir la encapsulación, si la hubiere, registrando el ancho de la cápsula (desde la periferia del sitio del implante de la muestra o de la *Sustancia de referencia* hasta la periferia de la cápsula) con una aproximación de 0,1 mm. Calificar la encapsulación de acuerdo a la *Tabla 7*. Calcular las diferencias entre el promedio de la calificación para los sitios de la muestra y de la *Sustancia de referencia*. La muestra cumple con los requisitos si la diferencia no es mayor de 1,0 o si la diferencia entre las calificaciones medidas de la muestra y la *Sustancia de referencia* para más de uno de los cuatro sitios de implante no es mayor de 1,0 para alguno de los animales implantados.

Tabla 1. Superficie de la muestra a emplear.

Forma del material	Espesor	Cantidad de muestra por cada 20 ml de solvente de extracción	Subdivisión (mm)
Láminas	< 0,5 mm	120 cm ² de superficie total (ambas caras)	Tiras de 5 × 0,3 cm
	0,5 a 1 mm	60 cm ² de superficie total (ambas caras)	
Tubos	< 0,5 mm (pared)	Longitud (en cm) = 120 cm ² /suma diámetro interno y diámetro externo circunferencia	Secciones de 5 × 0,3 cm
	0,5 a 1 mm (pared)	Longitud (en cm) = 60 cm ² /suma diámetro interno y diámetro externo circunferencia	
Moldeados	> 1 mm	60 cm ² de superficie total (todas las superficies expuestas)	Piezas de hasta 5 × 0,3 cm
Elastómeros	> 1 mm	25 cm ² de superficie total (todas las superficies expuestas)	No subdividir

[NOTA: los cierres elastoméricos moldeados de ensayan intactos]

Tabla 2. Grados de reactividad para el Ensayo de difusión en agar y Contacto directo.

Grado	Reactividad	Descripción de la zona de reactividad
0	Ninguna	No hay zona detectable alrededor de o debajo de la muestra.
1	Débil	Algunas células degeneradas o con malformaciones debajo de la muestra.
2	Leve	Zona limitada al área debajo de la muestra.
3	Moderada	Zona que se extiende 0,5 a 1,0 cm mas allá de la muestra.
4	Severa	Zona que se extiende más de 1,0 cm desde la muestra, pero que no abarca la placa en su totalidad.

Tabla 3. Grados de reactividad en el Ensayo de elusión

Grado	Reactividad	Condición de todos los cultivos
0	Ninguna	Discretos gránulos intracitoplasmáticos sin lisis celular.
1	Leve	No más del 20 % de las células son redondas, levemente adheridas, sin gránulos intracitoplasmáticos, con escasa lisis celular.
2	Media	No más del 50 % de las células son redondas y desprovistas de gránulos intracitoplasmáticos ; no hay lisis celular extensiva y áreas vacías entre células.
3	Moderada	No más del 70 % de las células son redondas o están lisadas.
4	Severa	Destrucción casi total de la capa de células.

Tabla 4. Análisis de las reacciones en piel para el Ensayo intracutáneo.

Formación de eritema o escara	Valor
Ausencia de eritema	0
Ligero eritema (casi imperceptible)	1
Eritema bien definido	2
Eritema moderado a severo	3
Eritema severo a ligera formación de escara	4
Formación de edema	Valor
Ausencia de edema	0
Edema muy ligero (casi imperceptible)	1
Edema ligero con bordes bien definidos	2
Edema moderado (elevado aproximadamente 1 mm)	3
Edema severo (elevado más de 1 mm y extendido más allá del área de inoculación)	4

Tabla 5. Ensayo de inyección sistémica.

Solución extractiva o blanco	Dosis por Kg de peso corporal	Vía	Velocidad de inoculación (ml/s)
Solución fisiológica (SR) estéril	50 ml	IV*	0,1
Solución 1:20 de alcohol en solución fisiológica (SR) estéril	50 ml	IV	0,1
Solución inyectable de polietilenglicol 400	10 g	IP*	–
Vehículos de la droga	50 ml	IV	0,1
(si corresponde)	50 ml	IP	–
Aceite vegetal	50 ml	IP	–

*IV = Intravenosa (solución acuosa de muestra y blanco); *IP = Intraperitoneal (solución oleosa de muestra y blanco).

Tabla 6. Ensayo intracutáneo.

Extracto o blanco	Número de sitios (por animal)	Dosis, µl por sitio
Muestra	5	200
Blanco	5	200

Tabla 7. Evaluación de la encapsulación en el Ensayo de implantación.

Tamaño de la cápsula	Valor
Ninguno	0
Hasta 0,5 mm	1
0,6 – 1,0 mm	2
1,1 – 2,0 mm	3
Mayor que 2,0 mm	4

390. ENSAYOS FARMACOTÉCNICOS PARA AEROSOLÉS

PROPELENTES

Precaución - Algunos hidrocarburos empleados como propelentes en aerosoles son altamente inflamables y explosivos. Tomar las precauciones necesarias y realizar la toma de muestra en un lugar ventilado.

Procedimiento general de toma de muestra - Este procedimiento se emplea para obtener muestras de propelentes que se encuentran en estado gaseoso a 25 °C y que se almacenan en cilindros presurizados. Para la toma de muestra, emplear un cilindro de acero inoxidable con una capacidad no menor de 200 ml y que soporte una presión de 240 psi o mayor, equipado con una válvula de acero inoxidable. Secar el cilindro con la válvula abierta a 110 °C durante 2 horas y efectuar vacío en el cilindro caliente a menos de 1 mm Hg. Cerrar la válvula, enfriar y pesar. Conectar un extremo de la línea de carga al envase del propelente y el otro extremo, sin ajustar, al cilindro. Cuidadosamente abrir el envase del propelente y dejar que éste escape por la línea de carga, a través de la conexión floja. [NOTA: evitar un escape excesivo, ya que esto causa la congelación de la humedad condensada en la línea de carga y en las conexiones.] Ajustar la conexión al tubo y abrir la válvula del cilindro para que el propelente pase al cilindro. Continuar hasta obtener la cantidad de muestra deseada luego cerrar la válvula del envase de propelente y finalmente cerrar la válvula del cilindro. Nuevamente pesar el cilindro y calcular el peso de muestra.

Temperatura de ebullición aproximada - Transferir 100 ml de muestra a un balón de destilación, el cual contiene unos pocos trozos de material poroso, y pesar. Suspender un termómetro en el líquido y colocar el balón en un medio mantenido a una temperatura 32 °C por encima de la temperatura de ebullición esperada. Cuando la lectura del termómetro permanezca constante, registrar ésta como la temperatura de ebullición, luego que el 5 % de la muestra haya destilado. Conservar el resto de la muestra para la determinación de *Residuos de alto punto de ebullición*.

Residuos de alto punto de ebullición -

Método I - Destilar 85 ml de muestra según se indica en el ensayo para *Temperatura de ebullición aproximada* y transferir el balón que contiene los restantes 15 ml a un medio mantenido a una temperatura 10 °C por encima de la

temperatura de ebullición. Después de 30 minutos, retirar el balón del baño de agua, secarlo externamente y pesarlo. Calcular el peso del residuo.

Método II - Emplear una serpentina de enfriamiento con un tubo de cobre (aproximadamente de 6,1 m de largo y 6 mm de diámetro exterior). Sumergir la serpentina de enfriamiento en un frasco Dewar que contiene una mezcla de hielo seco y acetona y conectar un extremo del tubo al cilindro que contiene la muestra. Abrir cuidadosamente la válvula del cilindro y lavar la serpentina de enfriamiento con aproximadamente 50 ml de propelente, descartando esta porción de propelente licuado. Continuar licuando el propelente a través de la serpentina de enfriamiento y recolectar el líquido en un vaso de precipitados de 1 litro, previamente enfriado, hasta completar a volumen. Dejar que el propelente se evapore, empleando un baño de agua mantenido aproximadamente a 40 °C para acelerar la evaporación. Cuando todo el líquido se haya evaporado, lavar el vaso de precipitados con dos porciones de 50 ml de pentano y combinar los lavados en un cristizador de 150 ml, previamente pesado. Transferir 100 ml de pentano a un segundo cristizador de 150 ml, previamente pesado, colocar ambos cristizadores en un baño de agua, evaporar hasta sequedad y calentar los cristizadores en una estufa a 100 °C durante 60 minutos; enfriarlos en un desecador y pesar. Repetir el calentamiento durante períodos de 15 minutos hasta que la variación de peso en sucesivas pesadas no sea mayor de 0,1 mg. Calcular el peso del residuo obtenido a partir del propelente como la diferencia entre los pesos de los residuos en los dos cristizadores.

Contenido de agua - Proceder según se indica en <120>. *Determinación de agua*, considerando las siguientes modificaciones:

a) Emplear un recipiente de titulación cerrado, con una abertura para introducir un tubo de dispersión de gases, de porosidad gruesa, conectado al cilindro para la toma de muestra.

b) Diluir el reactivo con metanol anhidro hasta obtener un factor de equivalencia de agua de 0,2 a 1,0 mg por ml. Dejar en reposo esta solución durante no menos de 16 horas antes de la estandarización.

c) Obtener una muestra de 100 g según se indica en *Procedimiento general de toma de muestra*, e introducirla en el recipiente de

titulación mediante el tubo de dispersión de gases a un flujo de aproximadamente 100 ml por minuto.

AEROSOLES

Aerosoles de válvula continua

Contenido neto - Los aerosoles de válvula continua deben cumplir con los requisitos para aerosoles indicados en <220>. *Determinación del contenido neto del envase*.

Velocidad de pérdida - Seleccionar doce unidades y registrar fecha y hora. Registrar el peso de cada unidad, en mg, como P_1 . Dejar los envases en posición vertical a temperatura ambiente durante no menos de 3 días y nuevamente registrar el peso de cada unidad, en miligramos, como P_2 . Registrar además la fecha y hora. Determinar el tiempo de duración del ensayo, T , en horas. Calcular la velocidad de pérdida, en mg por año, de cada unidad ensayada, por la fórmula siguiente:

$$(365)(24/T)(P_1 - P_2)$$

Cuando se ensayen envases de vidrio recubiertos por plástico, secarlos en un desecador durante 12 a 18 horas y mantenerlos en un ambiente de humedad controlada durante 24 horas antes de determinar el peso inicial. Vaciar el contenido de cada envase. Retirar el contenido residual mediante el lavado con solventes apropiados y posteriormente lavar con porciones de metanol. Retener como una unidad el envase, la válvula y todas las partes asociadas al mismo y calentar a 100 °C durante 5 minutos. Enfriar, pesar y registrar el peso como P_3 . Determinar el peso neto como $(P_1 - P_3)$ para cada unidad. Los requisitos se cumplen si la velocidad de pérdida promedio por año para las doce unidades es menor de 3,5 % del peso neto, y ninguna debe tener pérdidas mayores a 5,0 % del peso neto por año. Si una unidad tiene pérdidas mayores a 5,0 % por año pero ninguna tiene pérdidas mayores a 7,0 % por año, se debe determinar la velocidad de pérdida sobre veinticuatro unidades adicionales. No más de dos de las treinta y seis unidades deben tener pérdidas mayores a 5,0 % del peso neto por año y ninguna de las treinta y seis unidades deben tener pérdidas mayores a 7,0 % del peso neto por año. Cuando el peso neto es menor de 15 g, los requisitos se cumplen si la velocidad de pérdida promedio de las doce unidades es menor a 525 mg por año y ninguna debe tener pérdidas mayores a 750 mg por año. Si una unidad tiene pérdidas mayores a 750 mg por año, pero menores a 1,1 g por año, determinar la velocidad de pérdida sobre

veinticuatro unidades adicionales. No más de dos de las treinta y seis unidades deben tener pérdidas mayores a 750 mg por año y ninguna de las treinta y seis unidades deben tener pérdidas mayores a 1,1 g por año.

Ensayo de presión - Seleccionar no menos de cuatro unidades, quitarles las tapas y sumergirlas en un baño a 25 °C. Extraer los aerosoles del baño, agitar, retirar el disparador (comúnmente llamado también actuador) y el agua, si la hubiera, del extremo de la válvula. Colocar cada aerosol en posición vertical y determinar la presión en cada unidad colocando un manómetro en el extremo de la válvula, sostener firmemente y accionar la válvula para que se abra completamente. Leer y registrar la presión directamente del manómetro.

Caudal de válvula - Seleccionar no menos de cuatro unidades. Accionar cada válvula durante 2 a 3 segundos. Pesar cada unidad con exactitud y sumergirlas en un baño a 25 °C. Retirar los envases del baño y secarlos. Accionar cada válvula durante 5,0 segundos (tomando exactamente el tiempo con un cronómetro) y pesar cada unidad nuevamente. Regresar los envases al baño de temperatura constante y repetir el procedimiento tres veces para cada unidad. Calcular el caudal emitido promedio, en g por segundo, para cada unidad.

Aerosoles dosificadores

Número total de descargas por envase - Realizar este ensayo a los aerosoles dosificadores al mismo tiempo y en los mismos envases empleados para el ensayo de *Uniformidad de contenido de la dosis*. Determinar el número total de descargas incluyendo el número de descargas de purga (preparatorias) más aquellas empleadas en la determinación del contenido y continuar descargando hasta vaciar completamente el envase. Los requisitos se cumplen si todos los envases ensayados proporcionan un número de descargas no menor al declarado en el rótulo.

Peso de la dosis - Seleccionar diez aerosoles completos con sus respectivos disparadores, identificar claramente cada envase y realizar el siguiente procedimiento para cada una de las diez unidades. Agitar durante no menos de 5 segundos y con el extremo de la válvula orientado según el sentido de uso emitir una sola descarga. Repetir el procedimiento hasta eliminar un total de 5 descargas. Después de 1 minuto, pesar la unidad y registrar el peso, como P_1 . Agitar nuevamente durante 5 segundos y con el extremo de la válvula orientado según el sentido de uso,

emitir una sola descarga. Después de 1 minuto, pesar la unidad y registrar el peso, como P_2 . Calcular el peso, PD_1 , descargado de cada unidad, según la fórmula siguiente:

$$P_1 - P_2$$

Colocar cada uno de los diez aerosoles, equipados con su disparador, en posición vertical con el extremo de la válvula según el sentido inverso al uso y mantener las unidades sin perturbaciones durante 6 horas o el período que debe transcurrir entre dosis, según se declare en el rótulo. Transcurrido el período indicado, invertir cada unidad con el extremo de la válvula orientado según el sentido de uso, agitar bien la unidad y de inmediato emitir una sola descarga. Pesar la unidad y registrar el peso, como P_3 . Calcular el peso, PD_2 , descargado de cada unidad, según la fórmula siguiente:

$$P_2 - P_3$$

Para cada unidad ensayada, calcular el porcentaje de variación en los pesos de las descargas empleando la fórmula siguiente:

$$100 (PD_2 / PD_1)$$

Los requisitos del ensayo se cumplen si no más de uno de los diez resultados se encuentra fuera del intervalo comprendido entre 75,0 y 125,0 %. Si no más de dos resultados se encuentran fuera del intervalo comprendido entre 75,0 y 125,0 % realizar el ensayo con diez aerosoles adicionales. Los requisitos del ensayo se cumplen si no más de dos de los veinte resultados se encuentran fuera del intervalo comprendido entre 75,0 y 125,0 % del peso declarado de la dosis.

Uniformidad de contenido de la dosis - La determinación del contenido del principio activo en la descarga de un aerosol dosificador puede llevarse a cabo mediante el empleo del aparato que se describe en *Aparato para toma de muestra*. El mismo, se considera apropiado para toma de muestras a caudales bajos (12,5 litros por minuto).

Aparato para toma de muestra - El aparato descrito en la *Figura 1* se emplea para obtener la muestra de una dosis a partir de un aerosol dosificador mediante el disparador de inhalación provisto por el fabricante. El aparato consta de un sistema de entrada que comprende: el disparador *A*, el adaptador de entrada *B* y el tubo de admisión *C* de aproximadamente 5 cm x 15 cm, el cual se afina a 8 mm en uno de sus extremos; un tubo colector al cual se adjunta un difusor de vidrio sinterizado de porosidad gruesa *D*; una cámara de recolección *E*, que consiste en un frasco lavador de gases que contiene una solución absorbente y un sistema de vacío que comprende: una fuente de vacío, un regulador de flujo y un caudalímetro. El adaptador de entrada se acopla perfectamente con el disparador de inhalación provisto con el aerosol. Para evitar pérdidas del principio activo cuando el aerosol se descarga, el aire se extrae continuamente, a través del sistema, a una velocidad de 12 litros por minuto.

Criterios de aceptación - El ensayo para *Uniformidad de contenido de la dosis* se especifica para los aerosoles dosificadores y los pulverizadores dosificadores (no presurizados).

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, aplicar los criterios de aceptación dados para *aerosoles dosificadores* en <740>. *Uniformidad de unidades de dosificación.*

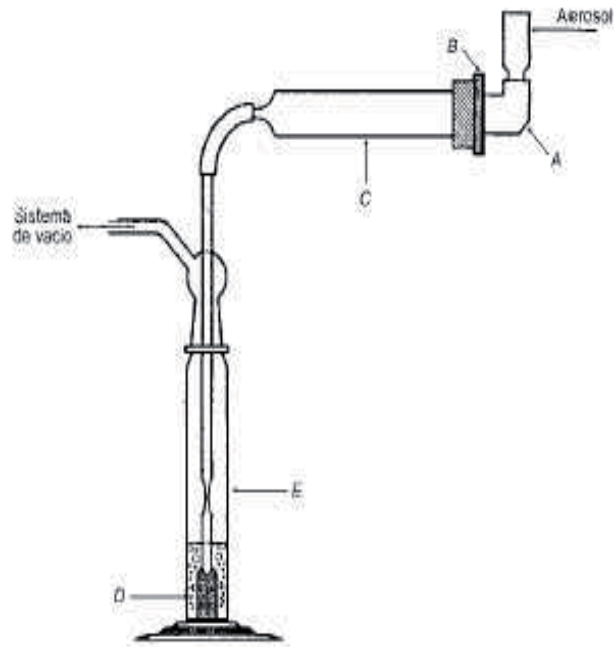


Figura 1. Aparato para toma de muestra de aerosoles dosificadores

Tamaño de partícula –

La distribución del tamaño de partículas y gotas en el rocío descargado por los aerosoles dosificadores es un parámetro importante empleado para juzgar su comportamiento. Las partículas de las suspensiones, envasadas en aerosoles dosificadores, no deben ser mayores de $10\ \mu\text{m}$ si deben depositarse en el pulmón durante la inhalación. Generalmente, para este caso, se micronizan a tamaños menores de $5\ \mu\text{m}$, pudiendo emplearse la técnica de *Microscopía* para evaluar el número de partículas grandes en las emisiones de estos aerosoles. Sin embargo, la *Evaluación aerodinámica del tamaño de las partículas* mediante el empleo de impactadores puede dar una idea más certera del comportamiento del aerosol. Esta determinación se realiza con el objeto de definir la fracción respirable, que es la porción de partículas que se espera penetren en los pulmones durante la inhalación de la dosis emitida.

Microscopía - Purgar la válvula de un aerosol dosificador agitando alternativamente y emitiendo varias dosis y, por último, emitir una dosis sobre un portaobjetos para microscopía, limpio y seco, desde una distancia de 5 cm a partir del extremo del disparador, perpendicular a la dirección de la pulverización. Examinar la muestra en el

portaobjetos bajo un microscopio equipado con un micrómetro ocular con una magnificación de 500x. Enfocar las partículas en 25 campos distintos, cercanos al centro de impacto de la muestra y observar el tamaño de la mayoría de las partículas individuales encontradas en esos campos: deben ser menores de $5\ \mu\text{m}$ a lo largo del eje mayor. Registrar el número y tamaño de todas las partículas cristalinas individuales (no aglomeradas) que sean de más de $10\ \mu\text{m}$ de longitud, medidas a lo largo del eje mayor: no se deben observar más de 10 partículas de tales características.

Evaluación aerodinámica de las partículas –

Los dispositivos de impacto (impactador) miden el diámetro aerodinámico. Mediante el empleo de métodos de valoración espectrofotométricos o cromatográficos apropiados y de un impactador cuidadosamente calibrado, puede determinarse la distribución aerodinámica de partículas de la muestra según su tamaño.

Impactador - El aparato descrito en la *Figura 2* se emplea para determinar la fracción de partículas finas presentes en la dosis emitida desde aerosoles dosificadores mediante los disparadores suministrados por el fabricante. Las unidades que componen el aparato mostrado en la *Figura 2* se enumeran en la *Tabla*.

La cámara de impacto inferior del aparato está diseñada de modo que, con un caudal de aire de 60 litros por minuto a través del sistema, el límite del tamaño aerodinámico efectivo de partícula que la alcanza es $6,4 \mu\text{m}$. En la cámara de impacto superior se produce una colisión vertical del chorro de aire sobre una superficie líquida para formar un vórtice (depresión) que atrapa en forma efectiva las partículas de la muestra mayores de $6,4 \mu\text{m}$. En la cámara de impacto superior *D* (ver *Figura 2*), se introducen los volúmenes de solventes especificados en la monografía correspondiente. La cámara de impacto inferior *H*, y las otras partes del aparato se arman de modo de asegurar que quede sostenido verticalmente en forma apropiada y que el botón espaciador del difusor *G*, apoye en el fondo de la cámara de impacto inferior *H*. Resulta sumamente importante que el adaptador para el disparador *A*, esté en la orientación correcta para que cuando se inserte la boquilla del aerosol, apunte a lo largo del eje horizontal de la garganta *B*, mientras que el eje vertical del envase presurizado, que debe estar invertido, esté en el mismo plano vertical que el aparato.

Procedimiento - Conectar una bomba al tubo de salida *F*. El caudal de aire a través del aparato, medido en la entrada a la garganta *B*, se ajusta con la bomba a 60 ± 5 litros por minuto. Purgar la válvula dosificadora del aerosol con su disparador agitando durante 30 segundos, descargando y repitiendo la secuencia de agitación y descarga una segunda vez dentro de los 5 segundos de completada la primera secuencia. Retirar el disparador y lavar las superficies internas y externas del vástago de la válvula y el disparador con un solvente apropiado. Luego que el disparador y la válvula estén completamente

secos, colocar nuevamente el disparador en el envase y completar el secado con un chorro de aire. Agitar el aerosol durante aproximadamente 30 segundos, poner en funcionamiento la bomba del aparato de recolección y ubicar el disparador en el adaptador *A*. Inmediatamente después de ajustada la boquilla, descargar el aerosol una vez y separar el disparador y el envase del adaptador. Agitar la unidad durante no menos de 5 segundos, colocar nuevamente el envase en el adaptador y nuevamente descargar el aerosol. Repetir esta secuencia ocho veces más. Al cabo de un intervalo de al menos 5 segundos después de la décima descarga, apagar la bomba y desarmar el aparato. Empleando un solvente apropiado, lavar la superficie interna del tubo *E*, y la superficie externa del tubo que queda en el interior de la cámara inferior, recolectando los lavados en la cámara inferior. Transferir el contenido de la cámara inferior *H*, a un matraz aforado, lavar la cámara inferior con un solvente apropiado, agregando el lavado al matraz y diluir a volumen con el mismo solvente, a menos que se especifique otro en la monografía correspondiente. Empleando el método de análisis especificado en la monografía correspondiente, determinar la cantidad de principio activo en esta solución. Calcular la cantidad de principio activo recolectado en la cámara de impacto inferior y expresar los resultados como una fracción o porcentaje (*Fracción respirable* o *Porcentaje respirable*, respectivamente) del resultado promedio obtenido en la determinación de *Uniformidad de contenido de unidades de pulverización*. El Porcentaje respirable cumple con los requisitos declarados en la monografía correspondiente.

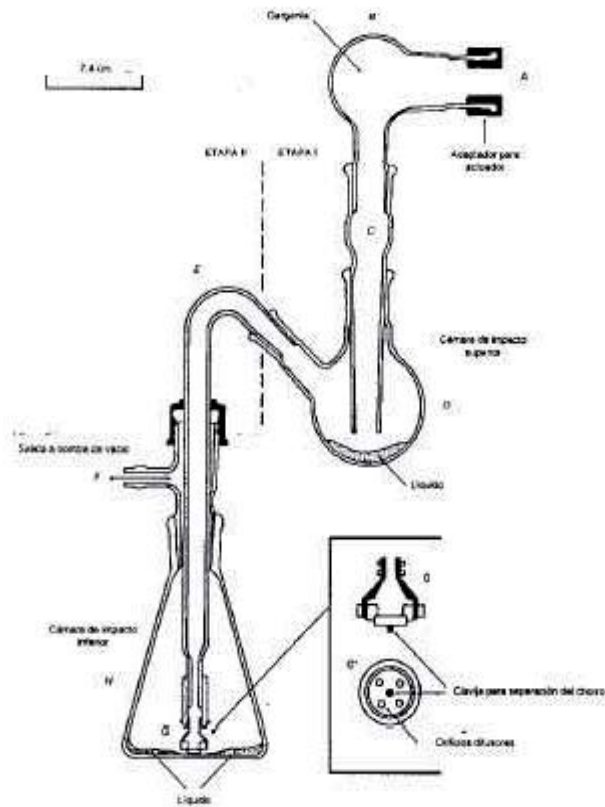


Figura 2. Impactador.

Tabla. Componentes del impactador (ver figura 2).

Código	Elemento	Descripción	Dimensiones (mm)*
A	Adaptador para disparador	Adaptador de caucho modelado para la unión con el disparador	
B	Garganta	Balón modificado	50 ml
		Entrada: junta cónica esmerilada hembra	29/32
		Salida: junta cónica esmerilada macho	24/29
C	Cuello	Adaptador de vidrio modificado	
		Entrada: junta cónica esmerilada hembra	24/29
		Salida: junta cónica esmerilada macho	24/29
		Parte inferior: tubo de vidrio calibrado: diámetro interno	14
		Tubo de vidrio de paredes delgadas: diámetro externo	17
D	Cámara de impacto superior	Balón modificado	100 ml
		Entrada: junta cónica esmerilada hembra	24/29
		Salida: junta cónica esmerilada hembra	14/23
E	Tubo de conexión	Tubo de vidrio de pared media: unión cónica esmerilada macho	14/23
		Codo y parte recta superior: diámetro exterior	13
		Parte recta inferior: diámetro exterior	8
F	Adaptador con tubuladura lateral y capuchón roscado	Capuchón roscado de plástico	28/13
		Junta de silicona	28/11

Código	Elemento	Descripción	Dimensiones (mm)*
		Arandela de politetrafluoroetileno	28/11
		Rosca de vidrio: paso de rosca	28
		Salida lateral (salida hacia la bomba de vacío): diámetro interior mínimo	11
<i>G</i>	Difusor	Porta-filtros modificados, de polipropileno, unido al extremo del tubo mediante un tubo de politetrafluoroetileno	Figura 2
<i>G'</i>		Disco circular de acetal con 4 orificios dispuestos en un círculo de 5,3 mm de diámetro y una clavija para separación del chorro en el centro	10
		Diámetro de la clavija	2
		Altura de resalte de la clavija	2
<i>H</i>	Cámara de impacto inferior	Erlenmeyer	250 ml
		Junta cónica esmerilada hembra	24/29

*Las medidas de las juntas esmeriladas corresponden a las designadas por ISO (internacional Organization for Standarization).

400. ENSAYOS FARMACOTÉCNICOS PARA SUPOSITORIOS

Los supositorios deben cumplir con los siguientes ensayos:

Peso promedio - El peso promedio debe cumplir con las especificaciones de la *Tabla*.

Tabla.	
Peso promedio de los supositorios (g)	Límite de desviación del peso promedio (%)
< 1,5	± 10
≥ 1,5 y ≤ 2,5	± 7,5
> 2,5	± 5

Uniformidad de contenido - (ver 740. *Uniformidad de unidades de dosificación.*)

Temperatura de fusión de supositorios con excipientes liposolubles - Es la temperatura a la cual el supositorio funde, con un intervalo de fusión bien definido.

Aparato - Emplear el dispositivo descrito en la *Figura*, constituido por un tubo de vidrio con forma de pipeta cuya parte superior, más estrecha, está graduada, y en cuya parte central ensanchada se encuentra soldada una varilla de vidrio espiralada, con disposición cónica y destinada a alojar al supositorio con la punta hacia el vértice del cono. El conjunto está dentro de un recipiente de vidrio que actúa como baño de agua de temperatura regulada, de diámetro suficiente para contener el tubo. El nivel de agua debe llegar al extremo superior de la escala graduada en el tubo y la fusión se determina mediante la observación del ascenso de la grasa fundida en la misma.

Procedimiento - [NOTA: antes de proceder con el ensayo, el supositorio debe permanecer durante 24 horas a temperatura ambiente.]

Transferir el supositorio a la varilla de vidrio espiralada, con el extremo afilado hacia arriba; tapar el extremo superior del tubo para sostener el supositorio e introducir el conjunto en el baño termostatzado, manteniéndolo en posición vertical mediante un soporte con agarradera. Hacer circular agua caliente entre 27 y 28 °C, hasta que alcance la marca cero de la escala. Cuando la temperatura se haya estabilizado en el sistema, aumentar un grado. Una vez estabilizado a la nueva temperatura, mantener durante 10 minutos, al cabo de los cuales se aumenta otro grado, y así sucesivamente hasta la fusión del supositorio.

Si debido a su composición el supositorio no se funde a la temperatura de ensayo fijada, se aprecia el grado de ablandamiento de éste probando con un

alambre de metal en determinados períodos de tiempo. En todos los casos, el supositorio debe fundirse o disgregarse a una temperatura no menor de 34 °C ni mayor de 37 °C.

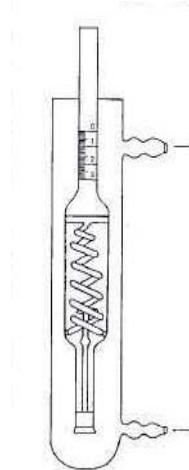


Figura. Aparato para la determinación de la temperatura y tiempo de fusión de supositorios.

Tiempo de fusión de supositorios con excipientes liposolubles - Es el tiempo que tarda en fundir el supositorio a una temperatura constante de $37 \pm 0,5$ °C.

Aparato - Emplear el aparato indicado en la *Figura*.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Temperatura de fusión de supositorios con excipientes liposolubles*, pero a una temperatura constante de 37 ± 2 °C. Una vez estabilizada dicha temperatura, transferir el supositorio a la varilla de vidrio espiralada y a partir de ese momento medir el tiempo hasta que se produzca la fusión completa. El tiempo o intervalo de fusión no debe ser mayor de 20 minutos.

Tiempo de disolución o disgregación de supositorios con excipientes hidrosolubles - Es el tiempo que tarda el supositorio en disolverse o disgregarse a una temperatura constante de $37 \pm 0,5$ °C.

Procedimiento - Proceder según se indica para *Comprimidos no recubiertos* en <310>. *Ensayo de disgregación*, reemplazando la malla metálica por otra malla N° 16 sin emplear discos. Transcurridos 40 minutos o el tiempo especificado en la monografía correspondiente, levantar la cesta del líquido y observar los supositorios: todos ellos deben disolverse o disgregarse completamente. Si sólo uno de los supositorios no se disgrega completamente, repetir el ensayo con seis

supositorios adicionales: los supositorios cumplen con el ensayo si todos los supositorios adicionales

se disuelven o disgregan completamente.

410. ENSAYOS GENERALES DE IDENTIFICACIÓN

En este capítulo se establecen los ensayos que, con frecuencia, la Farmacopea emplea en la identificación de productos oficiales.

[NOTA: estos ensayos no son aplicables a mezclas, salvo que se especifique en la monografía correspondiente.]

Acetato - Cuando el ácido acético o los acetatos se calientan con unas gotas de ácido sulfúrico concentrado y alcohol, se forma acetato de etilo que puede identificarse por su olor característico. Con soluciones neutras de acetatos, el cloruro férrico (SR) produce un intenso color rojo que desaparece con el agregado de ácidos minerales.

Aluminio - La combinación de soluciones de sales de aluminio con hidróxido de amonio 6 N produce un precipitado blanco gelatinoso insoluble en exceso de dicho hidróxido. El hidróxido de sodio 1 N o el sulfuro de sodio (SR) producen el mismo precipitado que se disuelve en exceso de cualquiera de dichos reactivos.

Amonio - Las sales de amonio se descomponen con la adición de un exceso de hidróxido de sodio 1 N, desprendiendo amoníaco que se identifica por su olor característico o por la reacción alcalina del papel de tornasol húmedo expuesto a los vapores amoniacales. Calentando la solución se acelera la descomposición.

Antimonio - Las soluciones de compuestos de antimonio (III) fuertemente acidificadas con ácido clorhídrico y en presencia de sulfuro de hidrógeno producen un precipitado naranja de sulfuro de antimonio, insoluble en hidróxido de amonio 6 N pero soluble en sulfuro de amonio (SR).

Bario - Las sales de bario forman un precipitado blanco con ácido sulfúrico 2 N que es insoluble en ácido clorhídrico o nítrico. Las sales de bario confieren un color verde amarillento a una llama no luminosa, la cual se ve de color azul cuando se la mira a través de un vidrio verde.

Benzoato - Las soluciones neutras de benzoatos forman un precipitado color salmón con cloruro férrico (SR). En soluciones moderadamente concentradas, se observa un precipitado de ácido benzoico por la acidificación del medio con ácido sulfúrico 2 N. El precipitado se disuelve fácilmente en éter.

Bicarbonato - Ver *Carbonato*.

Bismuto - Las sales de bismuto disueltas en un ligero exceso de ácido nítrico o ácido clorhídrico, forman un precipitado blanco al diluirse con agua que adquiere color marrón en presencia de sulfuro de hidrógeno. El compuesto resultante se disuelve en una mezcla caliente de partes iguales de ácido nítrico y agua (1:1).

Bisulfito - Ver *Sulfito*.

Borato - Cuando a 1 ml de una solución de borato, previamente acidificada con ácido clorhídrico frente al papel de tornasol, se le agrega 3 ó 4 gotas de una solución saturada de lodo y 3 ó 4 gotas de una solución de alcohol polivinílico 1 en 50 se produce un color azul intenso. Si una solución de borato se trata con ácido sulfúrico y se agrega metanol, la solución arde con una llama de borde verde.

Bromuro - Cuando a las soluciones de bromuros se les agrega cloro (SR) gota a gota, liberan bromo que se disuelve en cloroformo por agitación, coloreándolo de color rojo o castaño rojizo. El nitrato de plata (SR) con soluciones de bromuros forma un precipitado blanco amarillento insoluble en ácido nítrico y ligeramente soluble en hidróxido de amonio 6 N.

Calcio - Las soluciones de sales de calcio forman oxalatos insolubles cuando se las trata del siguiente modo: a una solución de una sal de calcio 1 en 20, agregar 2 gotas de rojo de metilo (SR) y neutralizar con hidróxido de amonio 6 N. Agregar, gota a gota, ácido clorhídrico 3 N, hasta acidez frente al indicador. Agregar oxalato de amonio (SR) para formar un precipitado blanco insoluble en ácido acético 6 N pero soluble en ácido clorhídrico. Las sales de calcio humedecidas con ácido clorhídrico producen un color rojo amarillento transitorio cuando son expuestas a la llama no luminosa.

Carbonato - Los carbonatos y bicarbonatos producen efervescencia con ácidos, desprendiendo un gas incoloro que burbujeado en hidróxido de calcio (SR) produce un precipitado blanco inmediatamente. Una solución fría de carbonato soluble se colorea de rojo en presencia de fenolftaleína (SR) mientras que el bicarbonato permanece incoloro o ligeramente coloreado en presencia del mismo indicador.

Cinc - Las sales de cinc en solución, en presencia de acetato de sodio forman un precipitado blanco con sulfuro de hidrógeno, insoluble en ácido acético pero soluble en ácido clorhídrico 3 N. Las

sales de cinc en solución, con sulfuro de amonio (SR) en medio alcalino o neutro forman un precipitado blanco, con las mismas características que el arriba mencionado. En presencia de ferrocianuro de potasio (SR) forman un precipitado blanco insoluble en ácido clorhídrico 3 N.

Citrato - A 15 ml de piridina agregar unos mg de citrato, disuelta o suspendida en 1 ml de agua y agitar. A esta mezcla agregar 5 ml de anhídrido acético y agitar: se observa un ligero color rojo.

Clorato - Las soluciones de cloratos no forman precipitados con nitrato de plata (SR). El agregado de ácido sulfuroso a esta mezcla produce un precipitado blanco insoluble en ácido nítrico pero soluble en hidróxido de amonio 6 N. Después de la ignición se reducen a cloruros que son identificados por los ensayos correspondientes (ver *Cloruros*). Los cloratos secos en presencia de ácido sulfúrico concentrado, crepitan y desprenden un gas amarillo verdoso. Precaución: emplear pequeñas cantidades de clorato y realizar este ensayo con extremo cuidado.

Cloruro - Las soluciones de cloruros con nitrato de plata (SR) producen un precipitado blanco cremoso, insoluble en ácido nítrico pero soluble en ligero exceso de hidróxido de amonio 6 N. Cuando se ensayan clorhidratos de alcaloides, que no responden al ensayo anterior, agregar una gota de ácido nítrico diluido y 0,5 ml de nitrato de plata (SR) a una solución de la sustancia a ensayar que contenga 2 mg de ión cloruro: se forma un precipitado blanco. Centrifugar la mezcla y descartar el líquido sobrenadante. Lavar con tres porciones de 1 ml de ácido nítrico diluido 1 en 100 y descartar los lavados procediendo rápidamente. Al agregar amoniaco (SR), gota a gota, el precipitado se disuelve fácilmente. Los cloruros secos mezclados en partes iguales con dióxido de manganeso impregnados con ácido sulfúrico y calentados levemente desprenden cloro reconocible por la producción de un color azul frente al papel de ioduro impregnado con almidón.

Cobalto - Las soluciones de sales de cobalto 1 en 20 en ácido clorhídrico 3 N mezcladas en volúmenes iguales con una solución caliente recién preparada de 1-nitroso-2-naftol 1 en 10 en ácido acético 9 N, producen un precipitado rojo cuando se calienta la mezcla en un baño de vapor. Las soluciones de sales de cobalto saturadas con cloruro de potasio y tratadas con nitrito de potasio y ácido acético producen un precipitado amarillo.

Cobre - Las soluciones de compuestos cúpricos acidificadas con ácido clorhídrico depositan una película roja de cobre metálico sobre una superficie

de hierro pulida. Las sales cúpricas en presencia de exceso de hidróxido de amonio 6 N producen, en un principio, un precipitado azulado que se redissuelve y luego produce una solución de color azul intenso. Las sales cúpricas en presencia de ferrocianuro de potasio (SR), producen un precipitado color pardo rojizo insoluble en ácidos diluidos.

Fosfato - [NOTA: cuando la monografía indique, ensayo de identificación *Fosfato*, emplear los ensayos para *ortofosfatos*, a menos que se especifique el uso de ensayos para *pirofosfatos* o que el producto deba ser calcinado antes de llevar a cabo el ensayo.]

Ortofosfatos - Las soluciones neutras de ortofosfatos con nitrato de plata (SR), forman un precipitado amarillo soluble en ácido nítrico 2 N y en hidróxido de amonio 6 N. En presencia de molibdato de amonio (SR) se forma un precipitado amarillo soluble en hidróxido de amonio 6 N.

Pirofosfatos - Los pirofosfatos obtenidos por calcinación producen un precipitado blanco con nitrato de plata (SR) soluble en ácido nítrico 2 N y en hidróxido de amonio 6 N. Con molibdato de amonio (SR) los pirofosfatos forman un precipitado amarillo soluble en hidróxido de amonio 6 N.

Hierro - Los compuestos férricos y ferrosos en solución producen un precipitado negro con sulfuro de amonio (SR) que se disuelve en presencia de ácido clorhídrico 3 N en frío con desprendimiento de sulfuro de hidrógeno.

Sales férricas - Las soluciones de sales férricas en medio ácido con ferrocianuro de potasio (SR) producen un precipitado azul oscuro. En exceso de hidróxido de sodio 1 N se forma un precipitado marrón rojizo. Las sales férricas en solución en presencia de tiocianato de amonio (SR) producen un color rojo intenso que no desaparece con el agregado de ácidos minerales diluidos.

Sales ferrosas - Las soluciones de sales ferrosas con ferrocianuro de potasio (SR) producen un precipitado azul oscuro insoluble en ácido clorhídrico 3 N que se descompone en presencia de hidróxido de sodio 1 N. Las soluciones de sales ferrosas en presencia de hidróxido de sodio 1 N producen un precipitado blanco grisáceo que cambia rápidamente a verde y luego, cuando se agita, toma un color marrón.

Hipofosfito - Las soluciones de hipofosfitos en presencia de cloruro mercurico (SR) producen un precipitado blanco que se torna gris frente a un exceso de hipofosfitos. Las soluciones de hipofosfitos acidificadas con ácido sulfúrico y calentadas con sulfato cúprico (SR) forman un precipitado rojo.

Ioduro - La adición a una solución de ioduro de cloro (SR), gota a gota, libera iodo que colorea la solución de amarillo a rojo. Si esta solución se agita con cloroformo, la capa clorofórmica se colorea de violeta. Si a la solución inicial, en lugar de cloroformo se le agrega almidón (SR), se colorea de azul, que por calentamiento se decolora.

Lactato - Las soluciones de lactatos acidificadas con ácido sulfúrico, mezcladas con permanganato de potasio (SR) y calentadas, desprenden acetaldehído que puede reconocerse poniendo los vapores en contacto con un papel de filtro impregnado con una mezcla recientemente preparada de volúmenes iguales de solución acuosa de morfolina al 20 % y nitroferriicianuro de sodio (SR): se produce color azul.

Litio - Las sales de litio en soluciones moderadamente concentradas en medio alcalino de hidróxido de sodio, con carbonato de sodio (SR) producen un precipitado blanco cuando son llevadas a ebullición. El precipitado es soluble en cloruro de amonio (SR). Las sales de litio humedecidas con ácido clorhídrico producen un color carmesí (rojo grana) intenso a la llama. Las soluciones de sales de litio no precipitan en ácido sulfúrico 2 N o sulfatos solubles (diferencia con el estroncio).

Magnesio - Las soluciones de sales de magnesio en presencia de cloruro de amonio, con carbonato de amonio (SR) no precipitan al neutralizarse, pero la adición de fosfato dibásico de sodio (SR) produce un precipitado blanco cristalino insoluble en hidróxido de amonio 6 N.

Manganeso - Las soluciones de sales manganosas con sulfuro de amonio (SR) producen un precipitado color salmón soluble en ácido acético.

Mercurio - Las soluciones de sales de mercurio libres de ácido nítrico en exceso producen un depósito gris sobre una lámina de cobre bien pulida y brillante, que al frotarse adquiere un aspecto plateado brillante. Las soluciones de compuestos mercuriales con sulfuro de hidrógeno, producen un precipitado negro insoluble en sulfuro de amonio (SR) y en ácido nítrico 2 N en ebullición.

Sales mercúricas - Las soluciones de sales mercúricas producen un precipitado amarillo con hidróxido de sodio 1 N o un precipitado escarlata con solución de ioduro de potasio (SR) muy soluble en exceso de reactivo.

Sales mercuriosas - Los compuestos mercuriosos se descomponen en hidróxido de sodio 1 N produciendo un color negro o, en presencia de ácido clorhídrico, un precipitado blanco que se ennegrece con el agregado de hidróxido de amonio

6 N. Las mismas sales en presencia de ioduro de potasio (SR) producen un precipitado amarillo que, con el tiempo, se torna verde.

Nitrato - A una solución de nitrato se le agrega igual volumen de ácido sulfúrico y se enfría. Cuando se agrega a la misma sin mezclar una solución de sulfato ferroso se desarrolla un anillo color marrón entre los dos líquidos. Cuando los nitratos son calentados en ácido sulfúrico concentrado y cobre metálico desprende vapores de color rojo castaño. Los nitratos no decoloran el permanganato de potasio (SR) en medio ácido (diferencia con los nitritos).

Nitrito - Los nitritos tratados con ácidos minerales diluidos o ácido acético 6 N desprenden vapores rojo marrón. Las soluciones de nitritos colorean de azul el papel de ioduro impregnado con almidón.

Oxalato - Las soluciones neutras o alcalinas de oxalatos con cloruro de calcio (SR), forman un precipitado blanco insoluble en ácido acético 6 N pero soluble en ácido clorhídrico. Las soluciones de oxalatos acidificadas y a 80 °C decoloran la solución de permanganato de potasio (SR).

Permanganato - Las soluciones de permanganatos en medio sulfúrico se decoloran en presencia de peróxido de hidrógeno (SR), de bisulfito de sodio (SR) en frío y de ácido oxálico (SR) a 80 °C.

Peróxido - Las soluciones de peróxidos acidificadas ligeramente con ácido sulfúrico, con la adición de dicromato de potasio (SR) producen un intenso color azul. Si la solución se agita con éter el color azul pasa a la capa etérea.

Plata - Las sales de plata en solución, en presencia de ácido clorhídrico, forman un precipitado blanco cremoso insoluble en ácido nítrico y soluble en hidróxido de amonio 6 N. Las soluciones de sales de plata a las que se les agrega hidróxido de amonio 6 N y una pequeña cantidad de formaldehído (SR) forman un espejo de plata en las paredes del tubo. Esta solución debe eliminarse porque se forma amido de plata que es un explosivo espontáneo.

Plomo - Las soluciones de sales de plomo en ácido sulfúrico 2 N producen un precipitado blanco insoluble en ácido clorhídrico 3 N o ácido nítrico 2 N pero soluble en hidróxido de sodio 1 N y en acetato de amonio (SR). Las soluciones de sales de plomo en medio neutro o ligeramente acidificadas con ácidos minerales, con cromato de potasio (SR) producen un precipitado amarillo insoluble en ácido acético 6 N pero soluble en hidróxido de sodio 1 N.

Potasio - Los compuestos de potasio confieren a la llama un color violeta, que es enmascarado por pequeñas cantidades de sodio a menos que se discrimine a través de un cristal de cobalto. Las sales de potasio en soluciones neutras concentradas o moderadamente concentradas (dependiendo de la solubilidad y contenido de potasio), con bitartrato de sodio (SR) producen un precipitado blanco cristalino soluble en hidróxido de amonio 6 N y en soluciones alcalinas de hidróxidos y carbonatos. La formación del precipitado es generalmente lenta, pero puede acelerarse por agitación o raspado de las paredes internas del tubo de ensayo o por el agregado de pequeñas cantidades de ácido acético glacial o alcohol.

Salicilato - Las soluciones moderadamente diluidas de salicilatos en presencia de cloruro férrico (SR) producen un color violeta. La adición de ácidos a soluciones moderadamente concentradas de salicilatos produce un precipitado blanco cristalino de ácido salicílico que funde entre 158 y 161 °C.

Sodio - Preparar una solución que contenga 0,1 g de compuesto de sodio en 2 ml de agua, agregar 2 ml de carbonato de potasio al 15 % y calentar hasta ebullición: no se forma precipitado. Agregar 4 ml de piroantimoniato de potasio (SR) y calentar hasta ebullición. Dejar enfriar en agua con hielo y, si fuera necesario, raspar las paredes internas del tubo con una varilla de vidrio: se forma un precipitado denso. Las sales de sodio confieren un intenso color amarillo a la llama.

Sulfato - Las soluciones de sulfatos en presencia de cloruro de bario (SR) producen un precipitado blanco insoluble en ácido clorhídrico y ácido nítrico. Con acetato de plomo (SR) forman un precipitado blanco soluble en solución de acetato de amonio. El ácido clorhídrico no produce precipitado cuando se agrega a las soluciones de sulfatos (diferencia con tiosulfatos).

Sulfito - Los sulfitos y bisulfitos tratados con ácido clorhídrico 3 N desprenden dióxido de azufre reconocible por su olor pungente característico y porque ennegrece el papel de filtro impregnado con una solución de nitrato mercurioso (SR).

Tartrato - Disolver unos mg de tartrato con 2 gotas de una solución de periodato de sodio 1 en 20 y acidificar con 1 gota de ácido sulfúrico 1 N. Dejar en reposo durante 5 minutos y agregar algunas gotas de ácido sulfuroso seguido de unas gotas de fucsina-ácido sulfuroso (SR): aparece un color rosado rojizo a los 15 minutos.

Tiocianato - Las soluciones de tiocianatos en presencia de cloruro férrico (SR) producen un color rojo que no desaparece con el agregado de soluciones moderadamente concentradas de ácidos minerales.

Tiosulfato - Las soluciones de tiosulfatos en medio clorhídrico forman un precipitado blanco que cambia al amarillo rápidamente con desprendimiento de dióxido de azufre identificable por su olor característico. El agregado de cloruro férrico (SR) a las soluciones de tiosulfatos produce un color violeta intenso que desaparece rápidamente.

420. ENVASES PRIMARIOS DE PLÁSTICOS

En este capítulo se describen los ensayos que deben cumplir las materias primas con las cuales se fabrican los envases plásticos como así también los envases plásticos de uso farmacéutico, incluyendo los envases destinados a sangre y hemoderivados, así como también las materias primas con las cuales se fabrican.

Los polímeros generalmente empleados para la fabricación de envases son el polietileno (de baja y alta densidad), el polipropileno, el poli(cloruro de vinilo), el terftalato de polietileno y copolímeros de etileno y acetato de vinilo.

La naturaleza y la cantidad de los aditivos está determinada por el tipo de polímero, el proceso empleado para la construcción del envase y el uso para el cual el mismo está destinado. Los aditivos pueden ser antioxidantes, estabilizantes, plastificantes, lubricantes, colorantes, modificadores de impacto, etc. Los agentes antiestáticos y desmoldantes pueden emplearse únicamente en aquellos envases que serán destinados a preparaciones de uso oral o externo. Para cada tipo de material descrito en este capítulo se indican los aditivos aceptados.

El envase plástico elegido para cualquier preparación debe ser tal que, los componentes del producto, que están en contacto con el material plástico no sean significativamente adsorbidos sobre su superficie y no se produzcan migraciones desde las paredes del envase. De la misma manera, el material del envase no debe ceder cantidades apreciables de ninguna sustancia que pueda afectar la estabilidad de la preparación o presentar un riesgo de toxicidad. A fin de confirmar la compatibilidad del

envase con el contenido y para asegurar que no se produzcan cambios perjudiciales en cuanto a la calidad de la preparación, se describen diversos ensayos tales como la comprobación de la ausencia de cambios en las características físicas; la evaluación de cualquier pérdida o ganancia de materia debido a la permeabilidad del envase; la detección de cambios de pH; la evaluación de cambios ocasionados por la luz; ensayos químicos y, si así se requiere, ensayos biológicos.

MATERIALES EMPLEADOS PARA LA FABRICACIÓN DE ENVASES PLÁSTICOS

Los materiales que se describen a continuación se emplean para la fabricación de envases para uso farmacéutico.

Poli(cloruro de vinilo) plastificado para envases destinados a sangre humana y hemoderivados y para envases destinados a soluciones acuosas para perfusión intravenosa

Los materiales a base de poli(cloruro de vinilo) plastificado contienen diversos aditivos, además del polímero de alto peso molecular obtenido por polimerización de cloruro de vinilo.

Los materiales a base de poli(cloruro de vinilo) plastificado para envases destinados a contener sangre humana y hemoderivados y envases para soluciones acuosas para perfusión intravenosa se definen por la naturaleza y las proporciones de las sustancias empleadas en su fabricación.

Contienen no menos de 55 % de poli(cloruro de vinilo) y pueden contener los siguientes aditivos:

LÍMITES DE ADITIVOS

ADITIVOS	LÍMITES (%)
ftalato de bis(2-etilhexilo)	40
octanoato de cinc (2-etilhexanoato de cinc)	1
estearato de calcio o estearato de cinc o una mezcla de ambos	1
<i>N,N'</i> -diaciletilendiaminas (acil significa en particular palmitil y estearil)	1
no más de uno de los siguientes aceites epoxidados o una mezcla de ambos:	10
<ul style="list-style-type: none"> • aceite de soja epoxidado en el cual el contenido de oxígeno oxiránico es 6 a 8 % y el índice de yodo no es mayor a 6. • aceite de semilla de lino epoxidado en el cual el contenido de oxígeno oxiránico no es mayor de 10 % y el índice de yodo no es mayor de 7 	

Ningún aditivo antioxidante debe agregarse al polímero. Cuando se agregan colorantes, sólo se puede agregar azul ultramarino. No se debe agregar

ningún colorante al poli(cloruro de vinilo) destinado a la fabricación de envases para sangre y hemoderivados.

CARACTERÍSTICAS

Polvo, perlas, gránulos o láminas translúcidas de espesor variable, incoloras o de color amarillo pálido.

IDENTIFICACIÓN - [NOTA: si es necesario, cortar el material a ensayar en trozos de tamaño apropiado.]

A 2,0 g del material a ensayar agregar 200 ml de éter libre de peróxidos y calentar a reflujo durante 8 horas. Separar el residuo (*B*) y la solución (*Solución A*) por filtración.

Evaporar la *Solución A* a sequedad bajo presión reducida en un baño de agua a 30 °C. Disolver el residuo en 10 ml de tolueno (*Solución A₁*). Disolver el residuo *B* en 60 ml de dicloruro de etileno, calentando en un baño de agua a reflujo y filtrar. Agregar la solución gota a gota y con agitación enérgica a 600 ml de heptano calentando a una temperatura menor a la temperatura de ebullición. Filtrar la mezcla en caliente a través de un filtro caliente para separar el material insolubilizado (*B₁*) de la solución orgánica. Dejar enfriar, separar el precipitado (*B₂*) formado y filtrar a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media, previamente pesado.

A - Absorción infrarroja <460>. Disolver el material insolubilizado *B₁* en 30 ml de tetrahidrofurano y agregar, en pequeñas porciones con agitación, 40 ml de etanol. Separar el precipitado (*B₃*) por filtración y secar al vacío a una temperatura no mayor de 50 °C sobre pentóxido de fósforo o cloruro de calcio anhidro. Disolver unos pocos mg del precipitado *B₃* en 1 ml de tetrahidrofurano. Colocar algunas gotas de la solución obtenida sobre una placa de cloruro de sodio y evaporar a sequedad entre 100 y 105 °C. Registrar el espectro de absorción infrarroja y comparar con el espectro obtenido con poli(cloruro de vinilo) SR-FA.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno.

Solución estándar - Disolver 0,8 g de ftalato de bis(2-etilhexilo) SR-FA en tolueno y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución muestra - *Solución A₁*.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de cada solución. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartos de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejarla secar. Examinar bajo luz ultravioleta a

254 nm. El valor de *R_f* e intensidad de la mancha obtenida a partir de la *Solución muestra* debe ser similar a la obtenida a partir de la *Solución estándar*.

C - Absorción infrarroja <460> - Examinar el residuo obtenido en el ensayo para *Ftalato de bis(2-etilhexilo)* comparando con el espectro obtenido con Ftalato de bis(2-etilhexil) SR-FA.

ENSAYOS -

Solución indicadora - Disolver en alcohol 100 mg de azul de bromotimol, 20 mg de rojo de metilo y 200 mg de fenolftaleína. Diluir a 100 ml con el mismo solvente y filtrar.

Solución S₁ - Transferir 5,0 g del material a ensayar a una cápsula. Agregar 30 ml de ácido sulfúrico y calentar hasta obtener una masa viscosa negra. Enfriar y agregar con precaución 10 ml de solución de peróxido de hidrógeno al 30 % y calentar suavemente. Dejar enfriar y agregar 1 ml de solución de peróxido de hidrógeno al 30 %, repetir el agregado y evaporación de la solución de peróxido de hidrógeno al 30 % hasta obtener un líquido incoloro. Reducir el volumen hasta 10 ml. Enfriar y diluir a 50,0 ml con agua.

Solución S₂ - Transferir 25 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato. Agregar 500 ml de *Agua para Inyectables* y cubrir la boca del erlenmeyer con un vaso de precipitados de vidrio al borosilicato. Calentar en autoclave a 121 ± 2 °C durante 20 minutos. Dejar enfriar y decantar la solución. Diluir la solución a 500 ml.

Aspecto de la solución S₂ - Debe ser transparente e incolora.

Acidez o alcalinidad - A 100 ml de *Solución S₂*, agregar 0,15 ml de *Solución indicadora*. No se deben requerir más de 1,5 ml de hidróxido de sodio 0,01 N para cambiar el color del indicador a azul. A 100 ml de *Solución S₂*, agregar 0,2 ml de naranja de metilo (SR). No se debe requerir más de 1,0 ml de ácido clorhídrico 0,01 N para iniciar el cambio de color del indicador de amarillo a anaranjado.

Absorbancia - Evaporar 100 ml de *Solución S₂* a sequedad. Disolver el residuo en 5 ml de hexano. Entre 250 y 310 nm la absorbancia no debe ser mayor de 0,25.

Sustancias reductoras - Efectuar el ensayo dentro de las 4 horas de preparada la *Solución S₂*.

A 20,0 ml de *Solución S₂* agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido y 20,0 ml de permanganato de potasio 0,002 M. Calentar a reflujo durante 3 minutos y enfriar inmediatamente. Agregar 1 g de ioduro de potasio y titular inmediatamente con

tiosulfato de sodio 0,01 N, empleando 0,25 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco empleando 20 ml de *Agua para Inyectables* y hacer las correcciones necesarias. La diferencia entre los volúmenes consumidos no debe ser mayor de 2,0 ml.

Aminas aromáticas primarias –

Solución muestra - A 2,5 ml de *Solución A₁* obtenida en la *Identificación*, agregar 6 ml de agua y 4 ml de ácido clorhídrico 0,1 M. Agitar vigorosamente y descartar la fase orgánica. A la fase acuosa agregar 0,4 ml de una solución de nitrito de sodio al 1 % recientemente preparada. Mezclar y dejar en reposo durante 1 minuto. Agregar 0,8 ml de una solución de sulfamato de amonio al 2,5 %, dejar en reposo durante 1 minuto y agregar 2 ml de una solución de diclorhidrato de *N*-(1-Naftil)etilendiamina al 0,5 %. [NOTA: realizar el ensayo a bajas temperaturas.]

Solución estándar - Proceder según se indica para la *Solución muestra*, reemplazando la fase acuosa por una mezcla de 1 ml de una solución de naftilamina 0,001 % en ácido clorhídrico 0,1 M, 5 ml de agua y 4 ml de ácido clorhídrico 0,1 M (20 ppm).

Después de 30 minutos, el color de la *Solución muestra* no debe ser más intenso que el de la *Solución estándar* preparada al mismo tiempo.

***N,N'*-diaciletilendiaminas** - Lavar con etanol el precipitado *B₂* obtenido en la *Identificación* y contenido en el filtro de vidrio sinterizado previamente pesado. Secar hasta peso constante sobre pentóxido de fósforo y pesar el filtro. El precipitado no debe pesar más de 20 mg.

Aceites epoxidados –

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía de 1 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa, en forma de banda de 30 mm por 3 mm, 0,5 ml de *Solución A₁* obtenida en la *Identificación*. Dejar secar la aplicación y desarrollar el cromatograma hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartos de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente. Secar la placa cuidadosamente. Exponer la placa a vapores de yodo durante 5 minutos. Examinar el cromatograma y localizar la banda con un *R_f* de 0 y, si estuviera presente, la banda secundaria con un *R_f* de aproximadamente 0,7, ambas correspondientes a aceites epoxidados. Remover el área del gel de sílice que corresponde a la banda o bandas. En forma similar remover un área de gel de

sílice para preparar un blanco. Separadamente agitar ambas muestras durante 15 minutos con 40 ml de metanol. Filtrar y evaporar a sequedad. Pesar los dos residuos. La diferencia entre los pesos no debe ser mayor de 10 mg.

Ftalato de bis(2-etilhexilo) - Examinar el cromatograma obtenido en el ensayo para *Aceites epoxidados* bajo luz ultravioleta a 254 nm y localizar la zona que corresponde a ftalato de bis(2-etilhexilo). Remover el área del gel de sílice que corresponde a esta zona y agitarla con 40 ml de éter. Filtrar sin pérdidas y evaporar a sequedad. El residuo obtenido no debe pesar más de 40 mg.

Cloruro de vinilo -

Sistema cromatográfico (ver 100. *Cromatografía*) - Emplear un cromatógrafo de gases equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de 3 m x 3 mm rellena con tierra de diatomea silanizada para cromatografía, impregnada con 5 % p/p de dimetil estearilamida y 5 % p/p de polietilenglicol 400. Mantener la columna, el inyector y el detector a aproximadamente 45, 100 y 150 °C, respectivamente. Se emplea nitrógeno como gas transportador con un caudal de aproximadamente 30 ml por minuto.

Solución del estándar interno - Empleando una microjeringa, transferir 10 µl de éter en 20,0 ml de *N,N*-Dimetilacetamida, sumergiendo la punta de la aguja en el solvente. Inmediatamente antes de usar, diluir la solución 1 en 1.000 con *N,N*-Dimetilacetamida.

Solución madre del estándar de cloruro de vinilo - Preparar bajo una campana extractora.

Transferir 50,0 ml de *N,N*-Dimetilacetamida a un recipiente de 50 ml, tapar el recipiente y pesar a la décima de mg. Llenar una jeringa de 50 ml de polietileno o polipropileno con cloruro de vinilo gaseoso, dejar que el gas este en contacto con la jeringa aproximadamente 3 minutos, vaciar la jeringa y llenar nuevamente con 50 ml de cloruro de vinilo gaseoso. Adaptar una aguja hipodérmica a la jeringa y reducir el volumen de gas en la jeringa hasta 25 ml. Inyectar estos 25 ml de cloruro de vinilo lentamente en el recipiente y agitarlo suavemente evitando el contacto entre el líquido y la aguja. Pesar el recipiente nuevamente: el aumento de peso debe ser de aproximadamente 60 mg (1 µl de la solución así obtenida contiene aproximadamente 1,2 µg de cloruro de vinilo).

Solución estándar de cloruro de vinilo - A 1 volumen de *Solución madre del estándar de cloruro de vinilo* agregar 3 volúmenes de *N,N*-Dimetilacetamida.

Soluciones estándar - Transferir 10,0 ml de *Solución del estándar interno* a cada uno de seis reci-

pientes de 50 ml. Cerrar los recipientes. Inyectar 1; 2; 3; 5 y 10 μ l, respectivamente, de *Solución estándar de cloruro de vinilo* en cinco de los recipientes. Las seis soluciones así obtenidas contienen respectivamente, 0 μ g; aproximadamente 0,3; 0,6; 0,9; 1,5 y 3 μ g de cloruro de vinilo. Agitar, evitando el contacto entre el tapón y el líquido. Colocar los recipientes en un baño de agua a 60 ± 1 °C durante 2 horas.

Solución muestra - Transferir 1,0 g del material a ensayar a un recipiente de 50 ml y agregar 10,0 ml de *Solución del estándar interno*. Cerrar el recipiente. Agitar evitando el contacto entre el tapón y el líquido. Colocar el recipiente en un baño de agua a 60 ± 1 °C durante 2 horas.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo 1 ml del espacio libre superior de cada recipiente, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el contenido de cloruro de vinilo. No debe estar presente más de 1 ppm de cloruro de vinilo.

Fósforo total –

Solución estándar - Mezclar 0,5 ml de una solución de fosfato monobásico de potasio que contiene 0,219 g por litro, 10 ml de agua y 25 ml de molibdovanádico (SR) y diluir a 50,0 ml con agua (100 ppm).

Solución muestra - Calcinar 0,25 g del material a ensayar en un crisol de platino con 0,2 g de carbonato de sodio anhidro y 50 mg de nitrato de potasio. Después de enfriar tomar el residuo con agua, y transferir a un matraz aforado de 50 ml. Lavar el crisol con agua, agregar los lavados al matraz, acidificar con ácido sulfúrico al 60 % p/p hasta que cese la efervescencia. Agregar 25 ml de molibdovanádico (SR) y diluir a 50,0 ml con agua.

El ensayo es válido si la coloración amarilla producida en la *Solución muestra* no es más intensa que la de la *Solución estándar*.

Bario –

Solución estándar - Mezclar 1,2 ml de una solución preparada disolviendo 0,178 g de cloruro de bario dihidratado en 100,0 ml y diluida 1 en 20 (50 ppm de Ba); 0,8 ml de agua y 3 ml de solución de sulfato de calcio, preparada agitando 5 g de sulfato de calcio con 100 ml de agua durante 1 hora, y filtrar.

Solución muestra - Calcinar 2,0 g del material a ensayar en un crisol de sílice. Mezclar el residuo con 10 ml de ácido clorhídrico y evaporar a sequedad en un baño de agua. Tomar este residuo con dos porciones de 1 ml de agua. Filtrar y agregar 3 ml de solución de sulfato de calcio preparada agitando 5 g de sulfato de calcio con 100 ml de agua durante 1 hora y filtrar.

El ensayo es válido si la opalescencia de la *Solución muestra* no es más intensa que la de la *Solución estándar*.

Cadmio - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución madre del estándar - Disolver 100 mg de cadmio en el menor volumen posible de una mezcla de ácido clorhídrico y agua (50:50). Diluir a 100,0 ml con ácido clorhídrico al 1 % v/v para obtener una solución de concentración conocida de 0,1 % de Cd.

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar empleando la *Solución madre del estándar* diluida con ácido clorhídrico al 1 % v/v.

Solución muestra - Evaporar 10 ml de la *Solución S₁* a sequedad. Tomar el residuo con 5 ml de ácido clorhídrico al 1 % v/v, filtrar y diluir el filtrado a 10,0 ml con el mismo ácido.

Procedimiento - Medir la absorbancia a 228,8 nm empleando una lámpara de cadmio de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama de aire-acetileno. No debe estar presente más de 0,6 ppm de Cd.

Calcio - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución madre del estándar - Inmediatamente antes de usar, diluir 1 en 10 con agua una solución preparada con 1,000 g de carbonato de calcio y 23 ml de ácido clorhídrico 1 M y diluida a 100,0 ml con agua. (400 ppm de Ca).

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar empleando la *Solución madre del estándar*, diluida con agua.

Solución muestra - Calcinar 2,0 g del material a ensayar en un crisol de sílice. Mezclar el residuo con 10 ml de ácido clorhídrico y evaporar a sequedad en un baño de agua. Tomar este residuo con 5 ml de agua, filtrar y diluir a 25,0 ml con el mismo solvente.

Procedimiento - Medir la absorbancia a 422,7 nm empleando una lámpara de calcio de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama de aire-acetileno. No debe estar presente más de 0,07 % de Ca.

Metales pesados –

Solución reguladora de acetato pH 3,5 - Disolver 25,0 g de acetato de amonio en 25,0 ml de agua y agregar 38,0 ml de ácido clorhídrico al 25 %. Ajustar a pH 3,5 si fuera necesario, con ácido clorhídrico 2 M o con amoníaco diluido y diluir a 100 ml con agua.

Solución estándar - Proceder según se indica para la *Solución muestra* empleando una mezcla de 10 ml de *Solución estándar de plomo* diluida 1:5

(ver 590. *Límite de metales pesados*) y 2 ml de la *Solución muestra*.

Solución muestra - A 10 ml de *Solución S₁* agregar 0,5 ml de fenolftaleína (SR) y luego solución concentrada de hidróxido de sodio al 42 % hasta obtener un color rosa pálido. Diluir a 25 ml con agua. A 12 ml de la solución así obtenida agregar 2 ml de *Solución reguladora de acetato pH 3,5* y mezclar. A continuación agregar 1,2 ml de tioacetamida-glicerina básica (SR) y mezclar inmediatamente.

Solución blanco - Proceder según se indica para la *Solución muestra* empleando una mezcla de 10 ml de agua y 2 ml de la *Solución muestra*.

Después de 2 minutos, la coloración parda de la *Solución muestra* no debe ser más intensa que la de la *Solución estándar*.

Estaño –

Solución muestra - A 10 ml de *Solución S₁* agregar 0,3 ml de ácido tioglicólico y 30 ml de agua. Mezclar y agregar 2 ml de una solución de lauril sulfato de sodio al 1 % y 1 ml de una solución de ditiol, recientemente preparada, que contiene 5 g/l en etanol y diluir a 50 ml con agua.

Solución madre del estándar - Disolver 0,500 g de estaño en una mezcla de 5 ml de agua y 25 ml de ácido clorhídrico, y diluir a 1 litro. Inmediatamente antes de usar transferir 1 ml de esta solución a una matraz aforado de 100 ml y diluir a volumen con ácido clorhídrico al 2,5 %v/v (5 ppm de Sn).

Solución estándar - Proceder según se indica para la *Solución muestra*, empleando 10 ml de ácido sulfúrico al 20 % v/v y 6 ml de *Solución madre del estándar*.

Después de 15 minutos, el color de la *Solución muestra* no debe ser más intenso que el de la *Solución estándar*.

Cinc - [NOTA: preparar un blanco empleando 10 ml de agua. El ensayo no es válido a menos que la fase inferior obtenida con el blanco sea de color verde.]

Solución reguladora de acetato de pH 4,4 - Disolver 136 g de acetato de sodio y 77 g de acetato de amonio en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Agregar 250,0 ml de ácido acético glacial y mezclar.

Solución muestra - Diluir 1 ml de *Solución S₁* a 100 ml con agua. A 10 ml de la solución resultante agregar 5 ml de *Solución reguladora de acetato de pH 4,4*; 1 ml de tiosulfato de sodio 0,1 M y 5,0 ml de una solución de ditizona en cloroformo que contiene 0,01 g/l y agitar.

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad de sulfato de cinc, equivalente a 0,440 g de ZnSO₄ · 7H₂O, en agua. Agregar 1 ml de ácido

acético y diluir a 100 ml con agua. Diluir 1 ml de esta solución a 10 ml con agua. Antes de usar diluir 1 ml de esta solución a 10 ml con agua (10 ppm de Zn).

Solución estándar - Proceder según se indica para la *Solución muestra*, empleando una mezcla de 2 ml de una *Solución madre del estándar* y 8 ml de agua (0,2 %).

Después de 2 minutos, el color violeta de la fase inferior de la *Solución muestra* no debe ser más intenso que el de la fase inferior de la *Solución estándar*.

Residuo de evaporación - Evaporar a sequedad 50 ml de *Solución S₂* en un baño de agua y secar entre 100 y 150 °C. El residuo no debe pesar más de 7,5 mg (0,3 %).

VALORACIÓN

Llevar a cabo el método de combustión (ver 60. *Combustión en erlenmeyer con oxígeno*), empleando 50,0 mg del material a ensayar. Absorber los productos de combustión en 20 ml de hidróxido de sodio 1 N. A la solución obtenida agregar 2,5 ml de ácido nítrico, 10,0 ml de nitrato de plata 0,1 N, 5 ml de sulfato férrico amónico (SR) y 1 ml de ftalato de dibutilo. Titular con tiocianato de amonio 0,05 N hasta obtener un color amarillo-rojizo. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 6,25 mg de poli(cloruro de vinilo).

Poliolefinas

Las poliolefinas se obtienen por polimerización de etileno o propileno o por copolimerización de estas sustancias con no más de 25 % de homólogos mayores (C₄ a C₁₀) o de ácidos carboxílicos o ésteres. Ciertos materiales pueden ser mezclas de poliolefinas.

Pueden contener hasta tres antioxidantes, uno o varios lubricantes o antibloqueantes. Cuando el material debe proveer protección de la luz se le agregan agentes opacantes como el dióxido de titanio.

Este texto es aplicable a todas las poliolefinas empleadas para propósitos médico-farmacéuticos con la excepción de los otros materiales poliolefinicos descritos en este capítulo.

CARACTERÍSTICAS

Polvo, perlas, gránulos o, después de su transformación, láminas de espesor variable o envases. Prácticamente insolubles en agua, etanol, hexano y metanol; solubles en hidrocarburos aromáticos calientes. Se ablandan a temperaturas entre 65 y 165 °C. Se queman con una llama azul.

IDENTIFICACIÓN

A - Absorción infrarroja <460> A 0,25 g del material a ensayar agregar 10 ml de tolueno y calentar a reflujo durante 15 minutos. Colocar algunas gotas de la solución obtenida sobre una placa de cloruro de sodio y evaporar el solvente en una estufa a 80 °C. El espectro del material presenta máximos de absorción a 2.920; 2.850; 1.475; 1.465; 1.380; 1.170; 735 y 720 cm^{-1} , el espectro obtenido debe ser idéntico al espectro obtenido con el material seleccionado como referencia. [NOTA: si el material a ensayar se presenta en forma de láminas, el espectro puede determinarse directamente sobre un trozo de tamaño apropiado.]

B - Debe cumplir con los *Ensayos suplementarios* para los aditivos presentes.

C - En un crisol de platino, mezclar aproximadamente 20 mg del material a ensayar con 1 g de sulfato ácido de potasio y calentar hasta fundir completamente. Dejar enfriar y agregar 20 ml de ácido sulfúrico diluido. Calentar suavemente y filtrar la solución resultante. Al filtrado agregar 1 ml de ácido fosfórico y 1 ml de solución de peróxido de hidrógeno al 30 %. Si la sustancia contiene dióxido de titanio como opacante, se desarrolla un color anaranjado-amarillento.

ENSAYOS - [NOTA: si es necesario, cortar las muestras del material a ensayar en trozos de tamaño apropiado.]

Solución S₁ - Transferir 25 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio de borosilicato de boca esmerilada. Agregar 500 ml de *Agua para Inyectables* y calentar a reflujo durante 5 horas. Dejar enfriar y decantar. Reservar una porción de la solución para el ensayo de *Aspecto de la solución S₁* y filtrar el resto a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media. Emplear la *Solución S₁* dentro de las 4 horas de su preparación.

Solución S₂ - Transferir 2,0 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio de borosilicato de boca esmerilada. Agregar 80 ml de tolueno y calentar a reflujo con agitación constante durante 90 minutos. Enfriar a 60 °C y agregar, con agitación constante, 120 ml de metanol. Filtrar la solución a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media. Lavar el erlenmeyer y el filtro con 25 ml de una mezcla de 40 ml de tolueno y 60 ml de metanol, agregar el lavado al filtrado y diluir a 250 ml con la misma mezcla. Preparar un blanco.

Solución S₃ - Transferir 100 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio de borosilicato de boca esmerilada. Agregar 250 ml de ácido clorhídrico 0,1 M y calentar a reflujo con agitación constante durante 1 hora. Dejar enfriar y decantar la solución.

Solución indicadora - Disolver en alcohol 0,1 g de azul de bromotimol, 20 mg de rojo de metilo y 0,2 g de fenoltaleína. Diluir a 100 ml con el mismo solvente y filtrar.

Aspecto de la solución S₁ - La *Solución S₁* debe ser transparente e incolora.

Acidez o alcalinidad - A 100 ml de la *Solución S₁* agregar 0,15 ml de *Solución indicadora*. No se deben requerir más de 1,5 ml de hidróxido de sodio 0,01 N para cambiar el color del indicador a azul. A 100 ml de *Solución S₁* agregar 0,2 ml de naranja de metilo (SR). No se debe requerir más de 1 ml de ácido clorhídrico 0,01 N para iniciar el cambio de color del indicador de amarillo a anaranjado.

Absorbancia - Entre 220 y 340 nm, la absorbancia de la *Solución S₁* no debe ser mayor de 0,2.

Sustancias reductoras - A 20 ml de la *Solución S₁* agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido y 20 ml de permanganato de potasio 0,002 M. Calentar a reflujo durante 3 minutos y enfriar inmediatamente. Agregar 1 g de ioduro de potasio y titular inmediatamente con tiosulfato de sodio 0,01 N, empleando 0,25 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. La diferencia entre los volúmenes no debe ser mayor de 3,0 ml.

Metales pesados extraíbles –

Solución reguladora de acetato pH 3,5 - Disolver 25,0 g de acetato de amonio en 25,0 ml de agua y agregar 38,0 ml de ácido clorhídrico al 25 %. Ajustar a pH 3,5 si fuera necesario, con ácido clorhídrico 2 M o con amoníaco diluido y diluir a 100 ml con agua.

Solución muestra - Concentrar 50 ml de *Solución S₃* hasta aproximadamente 5 ml en baño de agua y diluir a 20 ml con agua. A 12 ml de la solución así obtenida agregar 2 ml de *Solución reguladora de acetato pH 3,5* y mezclar. A continuación agregar 1,2 ml de tioacetamida-glicerina básica (SR) y mezclar inmediatamente.

Solución estándar - Proceder según se indica para la *Solución muestra* empleando una mezcla de 2,5 ml de *Solución estándar de plomo* (ver 590. *Límite de metales pesados*) y 2 ml de la *Solución muestra*.

Solución blanco - Proceder según se indica para la *Solución muestra* empleando una mezcla de 10 ml de agua y 2 ml de la *Solución muestra*.

Después de 2 minutos, la coloración parda de la *Solución muestra* no debe ser más intensa que la de la *Solución estándar*. No deben encontrarse más de 2,5 ppm.

Residuo de ignición <270> - No más de 1,0 %, determinado sobre 5,0 g. Este límite no se aplica a los materiales que contienen dióxido de titanio como opacante.

ENSAYOS SUPLEMENTARIOS - [NOTA: estos ensayos se realizan totalmente o en parte sólo si son requeridos de acuerdo a la composición o el uso del material.]

Antioxidantes fenólicos –

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 25 cm × 4,6mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice porosa de 5 µm de diámetro.

Fase móvil - Se puede emplear una de las cuatro mezclas siguientes:

Fase móvil 1 - Acetonitrilo y agua (70:30) con un caudal de aproximadamente 2 ml por minuto.

Fase móvil 2 - Acetonitrilo, tetrahidrofurano y agua (60:30:10) con un caudal de aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil 3 - Metanol, 2-propanol y agua (50:45:5) con un caudal de aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil 4 - Acetonitrilo y tetrahidrofurano (80:20) con un caudal de aproximadamente 1,5 ml por minuto.

[NOTA: de las siguientes *Soluciones estándar*, preparar únicamente las necesarias para el ensayo de los antioxidantes fenólicos declarados en la composición del material a ensayar.]

Solución estándar A - Disolver 25 mg de butilhidroxitolueno y 60 mg de 3,3-bis(3-*ter*-butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno en 10 ml de una mezcla de acetonitrilo y tetrahidrofurano (50:50). Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 60 mg de tetrakis [3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)-propionato] de pentaeritritilo y 60 mg de 2,2',2'',6,6',6''-hexa-*ter*-butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil)trismetileno]trifenol en 10 ml de una mezcla de acetonitrilo y tetrahidrofurano (50:50). Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar C - Disolver 60 mg de 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo y 60 mg de fosfito tris(2,4-di-*ter*-butilfenilo) en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar D - Disolver 25 mg de butilhidroxitolueno en 10 ml de una mezcla de acetoni-

trilo y tetrahidrofurano (50:50). Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar E - Disolver 60 mg de 3,3-bis(3-*ter*-butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno en 10 ml de una mezcla de acetonitrilo y tetrahidrofurano (50:50). Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar F - Disolver 60 mg de 1,3,5-tris[3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxibencil]-s-triazina-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona en 10 ml de una mezcla de acetonitrilo y tetrahidrofurano (50:50). Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar G - Disolver 60 mg de tetrakis [3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)pro-pionato] de pentaeritritilo en 10 ml de una mezcla de acetonitrilo y tetrahidrofurano (50:50). Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar H - Disolver 60 mg de 2,2',2'',6,6',6''-hexa-*ter*-butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil)trismetileno]trifenol en 10 ml de una mezcla de acetonitrilo y tetrahidrofurano (50:50). Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar I - Disolver 60 mg de 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar J - Disolver 60 mg de fosfito de tris (2,4-di-*ter*-butilfenilo) en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar K - Disolver 20 mg de P-EPQ en 10 ml de una mezcla de volúmenes iguales de acetonitrilo y una solución de hidroperóxido de terbutilo en tetrahidrofurano con una concentración de 10 g/l. Dejar reposar en un recipiente cerrado durante 1 hora. Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con una mezcla de acetonitrilo y tetrahidrofurano (50:50).

Solución muestra S₂₁ - Evaporar 50 ml de la *Solución S₂* a sequedad al vacío a 45 °C. Disolver el residuo en 5 ml de acetonitrilo y tetrahidrofurano (50:50). Preparar una solución blanco a partir del blanco correspondiente a la *Solución S₂*.

Solución muestra S₂₂ - Evaporar 50 ml de la *Solución S₂* a sequedad al vacío a 45 °C. Disolver el residuo con 5 ml de cloruro de metileno. Preparar una solución blanco a partir de la solución blanco que corresponde a la *Solución S₂*.

Solución muestra S₂₃ - Evaporar 50 ml de la *Solución S₂* a sequedad al vacío a 45 °C. Disolver el residuo con 5 ml de una mezcla de volúmenes iguales de acetonitrilo y una solución de hidroperóxido de terbutilo en tetrahidrofurano con una concentración de 10 g/l. Cerrar el matraz y dejar reposar durante 1 hora. Preparar una solución blan-

co a partir de la solución blanco que corresponde a la *Solución S₂*.

Aptitud del sistema - (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar A*, empleando *Fase móvil 1*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución, *R*, entre los picos de butilhidroxitolueno y 3,3-bis(3-*ter*-butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno no debe ser menor de 8. Cromatografiar la *Solución estándar B*, empleando *Fase móvil 2*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de tetrakis [3-(3,5-*ter*-butil-4-hidroxi-fenil)propionato] de pentaeritritilo y 2,2',2'',6,6',6''-hexa-*ter*-butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil)tris-metileno]trifenol no debe ser menor de 2. Cromatografiar la *Solución estándar C*, empleando *Fase móvil 3*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo y fosfito de tris(2,4-di-*ter*-butilfenilo) no debe ser menor de 2. Cromatografiar la *Solución estándar E*, empleando *Fase móvil 4*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos principales (con tiempos de retención de aproximadamente 3,5 y 5,8) no debe ser menor de 6.

Procedimiento -

Emplear *Fase móvil 1* si el material a ensayar contiene butilhidroxitolueno y/o 3,3-bis(3-*ter*-butil-4-hidroxifenil)-butirato de etileno. Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución muestra S₂₁*, el blanco correspondiente, la *Solución estándar A*, y las *Soluciones estándar D* o *E* o 20 µl de las *Soluciones estándar D* y *E*.

Emplear *Fase móvil 2* si el material a ensayar contiene uno o varios de los siguientes antioxidantes:

- 1,3,5-tris(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxibencil)-s-triazina-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona,
- tetrakis [3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxi-fenil)propionato] de pentaeritritilo,
- 2,2',2'',6,6',6''-hexa-*ter*-butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil) trismetileno] trifenol,
- 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo,
- fosfito de tris(2,4-di-*ter*-butilfenilo),

Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución muestra S₂₁*, el blanco correspondiente, la *Solución estándar B* y cada una de las *Soluciones*

estándar de antioxidantes de la lista anterior que son declarados en la composición.

Emplear *Fase móvil 3* si el material a ensayar contiene 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil) propionato de octadecilo y/o fosfito de tris(2,4-di-*ter*-butilfenilo). Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución muestra S₂₂*, el blanco correspondiente, la *Solución estándar C*, y la *Solución estándar I* o *J* o 20 µl de las *Soluciones estándar I* y *J*.

Emplear *Fase móvil 4* si la sustancia a ensayar contiene P-EPQ. Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución muestra S₂₃*, el blanco correspondiente y la *Solución, estándar K*.

En todos los casos registrar los cromatogramas durante 30 minutos. Los cromatogramas correspondientes a las *Soluciones muestra S₂₁*, *S₂₂* y *S₂₃* deben presentar únicamente picos debidos a los antioxidantes declarados en la composición y otros picos menores que también aparecen en los cromatogramas correspondientes a los blancos. Las respuestas de los picos de las *Soluciones muestra S₂₁*, *S₂₂* y *S₂₃* deben ser menores que las respuestas correspondientes a los picos obtenidos a partir de las *Soluciones estándar D* a *K*.

Antioxidantes no-fenólicos -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil 1 - Hexano.

Fase móvil 2 - Cloruro de metileno.

Solución estándar L - Disolver 60 mg de 2,2'-bis(octadeciloxi)-5,5'-espirobi [1,3,2-dioxafosforinano] en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 2 ml de esta solución a 10 ml con cloruro de metileno acidificado (SR).

Solución estándar M - Disolver 60 mg de disulfuro de dioctadecilo en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 2 ml de esta solución a 10 ml con cloruro de metileno acidificado (SR).

Solución estándar N - Disolver 60 mg de 3,3'-tiodipropionato de didodecilo en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 2 ml de esta solución a 10 ml con cloruro de metileno acidificado (SR).

Solución estándar O - Disolver 60 mg de 3,3'-tiodipropionato de dioctadecilo en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 2 ml de esta solución a 10 ml con cloruro de metileno acidificado (SR).

Solución estándar P - Disolver 60 mg de 3,3'-tiodipropionato de didodecilo y 60 mg de 3,3'-tiodipropionato de dioctadecilo en 10 ml de cloruro

de metileno. Diluir 2 ml de esta solución a 10 ml con cloruro de metileno acidificado (SR).

Solución muestra S₂₄ - Evaporar 100 ml de la *Solución S₂* a sequedad en vacío a 45 °C. Disolver el residuo en 2 ml de cloruro de metileno acidificado (SR).

Revelador - Preparar una solución de iodo al 1 % en etanol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 20 µl de la *Solución muestra S₂₄*, 20 µl de la *Solución estándar P* y 20 µl de cada una de las *Soluciones estándar* que corresponden a todos los antioxidantes fenólicos y no-fenólicos presentes en la composición del material a ensayar. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 18 cm empleando *Fase móvil 1*. Retirar la placa de la cámara y dejar secar. Desarrollar nuevamente los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 17 cm empleando *Fase móvil 2*. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*, dejar secar durante 10 a 15 minutos y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm. Cualquier mancha en el cromatograma de la *Solución muestra S₂₄* no debe ser más intensa que las manchas correspondientes obtenidas a partir de las *Soluciones estándar*. El ensayo no es válido a menos que el cromatograma de la *Solución estándar P* presente dos manchas claramente separadas.

Amidas y estearatos –

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil 1 - 2,2,4-Trimetilpentano y etanol (75:25).

Fase móvil 2 - Hexano.

Fase móvil 3 - Cloruro de metileno y metanol (95:5).

Solución estándar Q - Disolver 20 mg de ácido esteárico en 10 ml de cloruro de metileno.

Solución estándar R - Disolver 40 mg de oleamida en 20 ml de cloruro de metileno.

Solución estándar S - Disolver 40 mg de erucamida en 20 ml de cloruro de metileno.

Solución muestra - *Solución S₂₄* preparada en *Antioxidantes no fenólicos*.

Revelador 1 - Solución de 2,6-Dicloro-fenolindofenol sódico al 0,2 % en etanol.

Revelador 2 - Solución de ácido fosfomolibdico al 4 % en etanol.

Procedimiento - Aplicar sobre dos placas 10 µl de la *Solución S₂₄*. Aplicar sobre la primera placa 10 µl de la *Solución estándar Q* y aplicar sobre la segunda placa 10 µl de las *Soluciones estándar R* y *S*. Dejar secar las aplicaciones. Desarrollar la primera placa, hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm empleando *Fase móvil 1*. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejarla secar al aire. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 1*. Calentar en una estufa a 120 °C durante unos minutos para intensificar las manchas. Cualquier mancha que corresponda a ácido esteárico en el cromatograma de la *Solución muestra S₂₄* debe ser idéntica en posición (*R_f* aproximadamente de 0,5) pero no más intensa que la mancha obtenida a partir de la *Solución estándar Q*.

Desarrollar la segunda placa hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 13 cm empleando *Fase móvil 2*. Retirar la placa de la cámara y dejar secar al aire. Desarrollar nuevamente hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm empleando *Fase móvil 3*. Retirar la placa de la cámara y marcar el frente del solvente. Dejar secar la placa. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 2*. Calentar en una estufa a 120 °C hasta que aparezcan las manchas. Las manchas que corresponden a erucamida u oleamida en el cromatograma de la *Solución muestra S₂₄* deben ser idénticas en posición (*R_f* aproximadamente de 0,2) pero no más intensas que las manchas obtenidas a partir de las *Soluciones estándar R* y *S*.

Sustancias solubles en hexano - Transferir 10 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio de borosilicato de 250 ml con boca esmerilada. Agregar 100 ml de hexano y calentar a reflujo durante 4 horas, agitando constantemente. Enfriar en un baño de hielo y filtrar rápidamente (el tiempo de filtración debe ser menor de 5 minutos, si es necesario la filtración puede ser acelerada aplicando presión sobre la solución) a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media manteniendo la solución a aproximadamente 0 °C. Evaporar 20 ml del filtrado en un cristizador previamente pesado en un baño de agua. Secar el residuo en una estufa entre 100 y 105 °C durante 1 hora. El peso del residuo obtenido debe ser igual al del residuo obtenido a partir del material de referencia, con una desviación máxima de ± 10 % y dicho peso no debe ser mayor de 5 %.

Aluminio extraíble - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución madre del estándar - Disolver en agua una cantidad de sulfato de potasio y aluminio, equi-

valente a 352 mg de $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$. Agregar 10 ml de ácido sulfúrico diluido y diluir a 100 ml con agua (200 ppm de Al).

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar empleando la *Solución madre del estándar* diluida con ácido clorhídrico 0,1 M.

Solución muestra - Evaporar a sequedad 100 ml de *Solución S₃* en un baño de agua. Disolver el residuo en 2 ml de ácido clorhídrico y diluir a 10 ml con ácido clorhídrico 0,1 M.

Procedimiento - Medir la absorbancia a 309,3 nm empleando una lámpara de aluminio de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama de óxido nitroso-acetileno. No debe contener más de 1 ppm de Al extraíble.

Titanio extraíble - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución muestra - Evaporar a sequedad 100 ml de *Solución S₃* en un baño de agua. Disolver el residuo en 2 ml de ácido clorhídrico y diluir a 10,0 ml con ácido clorhídrico 0,1 M.

Solución madre del estándar - Disolver 100,0 mg de titanio en 100 ml de ácido clorhídrico diluido hasta 150 ml con agua, calentando si fuera necesario. Dejar enfriar y diluir a 1 litro con agua (100 ppm de Ti).

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar empleando la *Solución madre del estándar* diluida con ácido clorhídrico 0,1 M.

Procedimiento - Medir la absorbancia a 364,3 nm empleando una lámpara de titanio de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama de óxido nitroso-acetileno. No debe contener más de 1 ppm de Ti extraíble.

Cinc extraíble - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad de sulfato de cinc, equivalente a 440 mg de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, en agua. Agregar 1 ml de ácido acético y diluir a 100 ml con agua. Diluir 1 ml de esta solución a 10 ml con agua. Antes de usar, diluir 1 ml de esta solución a 10 ml con agua (10 ppm de Zn).

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar empleando una *Solución madre del estándar* diluida con ácido clorhídrico 0,1 M.

Solución muestra - *Solución S₃*.

Procedimiento - Medir la absorbancia a 213,9 nm empleando una lámpara de cinc de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama de acetileno-aire. No debe contener más de 1 ppm de Zn extraíble.

LÍMITES DE ADITIVOS

ADITIVOS	LÍMITES (%)
<i>Aditivos antioxidantes –</i>	
butilhidroxitolueno	0,125
tetrakis [3-(3,5-di- <i>ter</i> -butil-4 hidroxifenil)propionato] de pentaeritritilo	0,3
1,3,5-tris(3,5-di- <i>ter</i> -butil-4-hidroxibencil)-s-triazina-2,4,6-(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> ,5 <i>H</i>)triona	0,3
3-(3,5-di- <i>ter</i> -butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo	0,3
3,3-bis(3- <i>ter</i> - butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno	0,3
disulfuro de dioctadecilo	0,3
2,2',2'',6,6',6''-hexa- <i>ter</i> -butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil)trismetileno]trifenol	0,3
2,2'-bis(octadeciloxi)-5,5'-espirobi(1,3,2-dioxafosforinano)	0,3
3,3'-tiodopropionato de didodecilo	0,3
3,3'- tiodipropionato de dioctadecilo	0,3
fosfito de tris(2,4-di- <i>ter</i> -butilfenilo)	0,3
P-EPQ	0,1
copolímero de succinato de dimetilo y (4-hidroxi-2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-il)etanol	0,3
El total de aditivos antioxidante enumerados anteriormente	0,3
<i>Otros aditivos -</i>	
hidrocalcita	0,5
alcanoamidas	0,5
alquenoamidas	0,5
silicio-aluminato de sodio	0,5
sílice	0,5
benzoato de sodio	0,5
ésteres o sales de ácidos grasos	0,5

LÍMITES DE ADITIVOS – continuación

ADITIVOS	LÍMITES (%)
fosfato trisódico	0,5
vaselina líquida	0,5
óxido de cinc	0,5
talco	0,5
estearato de calcio o cinc o una mezcla de ambos	0,5
dióxido de titanio	4
óxido de magnesio	0,2

Polietileno de baja densidad para envases destinados a preparaciones para uso parenteral y para preparaciones oftálmicas

El polietileno de baja densidad que cumple con los siguientes requisitos se emplea en la fabricación de envases para preparaciones de uso parenteral y oftálmico.

El polietileno de baja densidad se obtiene por polimerización de etileno a altas presiones en presencia de oxígeno o catalizadores. El material no debe poseer aditivos.

CARACTERISTICAS

Perlas, gránulos, láminas translúcidas de espesor variable, prácticamente insoluble en agua, etanol y metanol. Se ablanda por encima de los 80 °C. Se quema con una llama azul.

IDENTIFICACION

A - Absorción infrarroja <460>. A 250 mg del material a ensayar, agregar 10 ml de tolueno y calentar a reflujo durante 15 minutos. Colocar unas gotas de la solución sobre un disco de cloruro de sodio y evaporar el solvente a 80 °C. El espectro del material a ensayar debe presentar máximos en particular a 2.920; 2.850; 1.465; 731 y; 722 cm⁻¹; y el espectro debe ser idéntico al obtenido con el material seleccionado como referencia. [NOTA: si el material a ensayar se presenta en forma de láminas, el espectro puede determinarse directamente sobre un trozo de tamaño apropiado.]

B - A 2 g de material a ensayar agregar 100 ml de agua y calentar a reflujo durante 2 horas. Dejar enfriar. La densidad relativa del material (ver 160. *Determinación de la densidad relativa*) debe estar entre 0,910 y 0,935.

ENSAYOS - [NOTA: si es necesario, cortar el material en trozos de tamaño apropiado.]

Solución indicadora - Disolver en alcohol 100 mg de azul de bromotimol, 20 mg de rojo de metilo y 0,2 g de fenoltaleína. Diluir a 100 ml con el mismo solvente y filtrar.

Solución S - Transferir 25 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio de borosilicato de boca esmerilada. Agregar 500 ml de agua y calen-

tar a reflujo durante 5 horas. Dejar enfriar y decantar.

Aspecto de la solución - La *Solución S* debe ser transparente, incolora y prácticamente inodora.

Acidez o alcalinidad - A 100 ml de *Solución S* agregar 0,15 ml de *Solución indicadora*. No se deben requerir más de 1,5 ml de hidróxido de sodio 0,01 N para cambiar el color del indicador a azul. A 100 ml de la *Solución S* agregar 0,2 ml de naranja de metilo (SR). No se debe requerir más de 1,0 ml de ácido clorhídrico 0,01 N para iniciar el cambio de color del indicador de amarillo a anaranjado.

Sustancias solubles en hexano - Transferir 5 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio de borosilicato de boca esmerilada. Agregar 50 ml de hexano, adaptar un refrigerante y calentar en un baño de agua con agitación constante durante 4 horas. Enfriar en un baño de hielo, se puede formar un gel. Adaptar una camisa de enfriamiento, llena de agua helada, a un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media adaptado con un dispositivo que permite aplicar presión durante la filtración.

Dejar enfriar el filtro durante 15 minutos. Filtrar la solución de hexano aplicando una presión de 27 kPa sin lavar el residuo; el tiempo de filtración no debe exceder 5 minutos. Evaporar 20 ml de la solución hasta sequedad. Secar el residuo a 100 °C durante 1 hora. El residuo no debe pesar más de 60 mg (3 %).

Sustancias reductoras - A 20 ml de *Solución S* agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido y 20 ml de permanganato de potasio 0,002 M. Calentar a reflujo durante 3 minutos y enfriar inmediatamente. Agregar 1 g de ioduro de potasio y titular inmediatamente con tiosulfato de sodio 0,01 N, empleando 0,25 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. La diferencia entre los volúmenes no debe ser mayor de 0,5 ml.

Aditivos –

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromato-*

grafía) recubierta con gel de sílice para cromatografía de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil 1 - Hexano.

Fase móvil 2 - Cloruro de metileno y metanol (95:5).

Solución muestra - Transferir 2,0 g del material a ensayar y 5 ml de cloroformo a un recipiente de 10 ml de paredes gruesas de vidrio tipo I ó II (ver 430. *Envases de vidrio*). Cerrar el mismo con un tapón de goma recubierto con politetrafluoretileno. Colocar el recipiente en un baño de agua a 85 °C durante 2 horas. Retirar, invertir y dejar enfriar. Decantar la solución clorofórmica transparente.

Solución estándar - Disolver 20 mg de disulfuro de dioctadecilo y 20 mg de bis[3,3-bis(3-ter-butil-4-hidroxifenil)butirato] de etileno en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Revelador - Solución de ácido fosfomolibdico al 4 % en alcohol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de cada solución. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 13 cm empleando *Fase móvil 1*. Retirar la placa de la cámara y dejarla secar al aire. Desarrollar nuevamente los cromatogramas hasta que el

frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm empleando *Fase móvil 2*. Retirar la placa de la cámara y dejarla secar al aire. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar a 120 °C hasta que las manchas aparezcan en el cromatograma de la *Solución estándar*. No debe aparecer ninguna mancha en el cromatograma de la *Solución muestra*, a excepción de una mancha que puede estar en el frente del solvente del primer desarrollo y que corresponde a oligómeros. El cromatograma de la *Solución estándar* debe presentar dos manchas separadas.

Residuo de ignición - <270>. No debe ser mayor de 200 ppm, determinado sobre 10 g.

Polietileno de alta densidad para envases destinados a preparaciones de uso parenteral

El polietileno de alta densidad que cumple con los siguientes requisitos es apropiado para la fabricación de envases y tapones destinados a preparaciones de uso parenteral.

El polietileno de alta densidad (también llamado de "baja presión") es obtenido por polimerización de etileno a baja presión en presencia de catalizadores.

LÍMITES DE ADITIVOS Y ESTABILIZANTES

ADITIVOS	LÍMITES (%)
<i>Estabilizantes – puede contener no mas de tres de los siguientes estabilizantes:</i>	
butilhidroxitolueno	0,125
Tetrakis [3-(3,5-di-ter-butil-4-hidroxifenil)propionato de pentaeritritilo	0,2
3-(3,5-di-ter-butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo	0,2
3,3-bis(3-ter-butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno	0,2
2,2',2'',6,6',6''-hexa-ter-butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil)trismetileno] trifenol	0,2
2,2'-bis(octadeciloxi)-5,5'-espirobi [1,3,2-dioxafosforinano]	0,2
3,3'-tiodipropionato de didodecilo	0,2
3,3'-tiodipropionato de dioctadecilo	0,2
<i>Aditivos</i>	
estearato de calcio o estearato de cinc o una mezcla de ambos	0,5

CARACTERISTICAS

Polvo, perlas, gránulos o láminas translúcidas de espesor variable. Es prácticamente insoluble en agua, etanol, hexano y metanol; soluble en caliente en hidrocarburos aromáticos. Se ablanda a temperaturas mayores de 120 °C. Se quema con una llama azul.

IDENTIFICACION

A - Absorción infrarroja <460>. A 250 mg del material a ensayar agregar 10 ml de tolueno y calentar a reflujo durante aproximadamente

15 minutos. Colocar unas gotas de la solución sobre una placa de cloruro de sodio y evaporar el solvente a 80 °C. Los máximos de absorción en el espectro obtenido con el material ensayado deben corresponder en posición e intensidad relativa a los del espectro obtenido con el polietileno de alta densidad SR-FA. [NOTA: si el material a ensayar se presenta en forma de láminas, el espectro puede determinarse directamente sobre un trozo de tamaño apropiado.]

B - A 2 g del material a ensayar agregar 100 ml de agua, calentar a reflujo durante 2 horas y dejar

enfriar. La densidad relativa del material (ver 160. *Determinación de la densidad relativa*) debe estar entre 0,935 y 0,965.

ENSAYOS

[NOTA: si es necesario, cortar el material en trozos de tamaño apropiado.]

Solución indicadora - Disolver en alcohol 100 mg de azul de bromotimol, 20 mg de rojo de metilo y 200 mg de fenolftaleína. Diluir a 100 ml con el mismo solvente y filtrar.

Solución S₁ - Transferir 2,0 g de material a ensayar y 5 ml de cloroformo acidificado (SR) a un recipiente de 10 ml de paredes gruesas de vidrio tipo I ó II (ver 430. *Envases de vidrio*). Cerrar el recipiente con un tapón de goma cubierto con politetrafluoroetileno. Colocar el mismo en un baño de agua a 85 °C durante 2 horas. Invertir y enfriar. Decantar la solución clorofórmica transparente.

Solución S₂ - Transferir 25 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 500 ml de agua y calentar a reflujo durante 5 horas. Dejar enfriar y decantar la solución. Reservar una porción de la solución para el ensayo *Aspecto de la solución S₂* y filtrar el resto a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media. Emplear dentro de las 4 horas de preparación.

Solución S₃ - Transferir 100 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 200 ml de ácido clorhídrico 0,1 M y calentar a reflujo con agitación constante durante 1 hora. Enfriar, filtrar y evaporar el filtrado a sequedad. Disolver el residuo en 2 ml de ácido clorhídrico y diluir a 10,0 ml con ácido clorhídrico 0,1 M.

Aspecto de la solución S₂ - Debe ser transparente e incolora.

Acidez o alcalinidad - A 100 ml de *Solución S₂* agregar 0,15 ml de *Solución indicadora*. No se deben requerir más de 1,5 ml de hidróxido de sodio 0,01 N para cambiar el color del indicador a azul. A 100 ml de *Solución S₂*, agregar 0,2 ml de naranja de metilo (SR). No se deben requerir más de 1 ml de ácido clorhídrico 0,01 N para iniciar el cambio de color del indicador de amarillo a anaranjado.

Absorbancia - A longitudes de onda entre 220 y 340 nm, la absorbancia de la *Solución S₂* no debe ser mayor de 0,2.

Sustancias reductoras - A 20 ml de *Solución S₂* agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido y 20 ml de permanganato de potasio 0,002 M. Dejar reposar a temperatura ambiente durante 15 minutos.

Agregar 1 g de ioduro de potasio y titular inmediatamente con tiosulfato de sodio 0,01 N, empleando 0,25 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. La diferencia entre los volúmenes no debe ser mayor de 0,5 ml.

Aditivos -

Fase estacionaria - Emplear tres placas para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil 1 - Hexano.

Fase móvil 2 - Cloruro de metileno y hexano (80:20).

Fase móvil 3 - Cloruro de metileno y metanol (95:5).

Solución estándar A - Disolver 5 mg de butilhidroxitolueno en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 8 mg de tetrakis [3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxi-fenil)propionato] de pentaeritrito en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar C - Disolver 8 mg de 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar D - Disolver 8 mg de 3,3-bis(3-*ter*-butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar E - Disolver 8 mg de 2,2',2'',6,6',6''-hexa-*ter*-butil-4,4',4''-[2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil]trismetilén]trifenol en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar F - Disolver 8 mg de 2,2'-bis(octadeciloxi)-5,5'-espirobi [1,3,2-dioxafosforinano] en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar G - Disolver 8 mg de 3,3'-tiodipropionato de didodecilo en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar H - Disolver 8 mg de 3,3'-tiodipropionato de dioctadecilo en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar I - Disolver 20 mg de ácido esteárico en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución muestra - *Solución S₁*

Revelador 1 - Solución de cloruro férrico al 5 % recientemente preparada.

Revelador 2 - Solución de ferricianuro de potasio al 5 %.

Revelador 3 - Acido sulfúrico.

Revelador 4 - Solución de ácido fosfomolibdico al 4 % en alcohol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre cada placa 10 µl de cada solución. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 13 cm empleando *Fase móvil 1*. Retirar las placas de la cámara y dejar secar al aire.

Para la segunda placa, desarrollar nuevamente los cromatogramas en la misma dirección hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm empleando *Fase móvil 2*. Retirar la placa de la cámara y dejar secar al aire.

Para la tercera placa, desarrollar nuevamente los cromatogramas en la misma dirección hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm empleando *Fase móvil 3*. Retirar la placa de la cámara y dejar secar al aire.

Examinar la primera placa bajo luz ultravioleta a 254 nm. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar una mancha que corresponde a la mancha en el cromatograma de la *Solución estándar A*. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 1* y luego con *Revelador 2*. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar una mancha que corresponde a la mancha en el cromatograma de la *Solución estándar A*.

Pulverizar sobre la segunda placa con *Revelador 1* y luego con *Revelador 2*. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar las manchas que corresponden a las manchas en los cromatogramas de las *Soluciones estándar A, B y D*. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 3* y calentar a 120 °C hasta que las manchas aparezcan en los cromatogramas de las *Soluciones estándar F, G y H*. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar las manchas que corresponden a esas soluciones en los cromatogramas de las *Soluciones estándar*.

Pulverizar sobre la tercera placa con *Revelador 4* y calentar a 120 °C hasta que aparezcan las manchas en los cromatogramas de las *Soluciones estándar*. Las manchas aparecen rápidamente en los cromatogramas de las *Soluciones estándar A, B, C, D, E, F, G y H*. La mancha en el cromatograma de la *Solución estándar 1* debe aparecer más lentamente. El cromatograma de la *Solución muestra* no debe presentar más de tres manchas y éstas corresponden a las manchas en los cromatogramas de las *Soluciones estándar A, B, C, D, E, F, G o H*; debe presentar también una mancha que corresponde a la mancha en el cromatograma de la *Solución estándar 1*. Las manchas en el cromatograma de la *Solución muestra* no deben ser más intensas que las manchas correspondientes en los cromatogramas de las *Soluciones estándar*.

[NOTA: en el cromatograma de la *Solución muestra* cualquier mancha cercana al frente del solvente desde el primer desarrollo no debe tenerse en cuenta (polímeros de bajo peso molecular-relativo).]

Circonio - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad de nitrato de circonio, equivalente a 293 mg de $[ZrO(NO_3)_2 \cdot 2H_2O]$, en una mezcla de agua y ácido clorhídrico (8:2). Diluir a 100 ml con la misma mezcla de solventes para obtener una solución con una concentración conocida de 0,1 % de Zr.

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar empleando la *Solución madre del estándar* diluida con una mezcla de agua y ácido clorhídrico (8:2).

Solución muestra - Solución S₃

Procedimiento - Medir la absorbancia a 360,1 nm empleando una lámpara de circonio de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama de óxido nitroso-acetileno. No debe contener más de 100 ppm de Zr.

Cromo - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad de dicromato de potasio, equivalente a 283 mg de $K_2Cr_2O_7$, en agua y diluir a 1 litro con el mismo solvente para obtener una solución que contenga 100 ppm de Cr.

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar empleando la *Solución madre del estándar* diluida con una mezcla de agua y ácido clorhídrico (8:2).

Solución muestra - Solución S₃

Procedimiento - Medir la absorbancia a 358,0 nm empleando una lámpara de cromo de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama de aire-acetileno. No debe contener más de 0,05 ppm de Cr.

Vanadio - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad de vanadato de amonio, equivalente a 230 mg de NH_4VO_3 , en agua y diluir a 100,0 ml con el mismo solvente (0,1 % de V).

Solución estándar - Preparar las soluciones estándar empleando la *Solución madre del estándar* diluida con una mezcla de agua y ácido clorhídrico (8:2).

Solución muestra - Solución S₃

Procedimiento - Medir la absorbancia a 318,3 nm empleando una lámpara de vanadio de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama

de acetileno-óxido nitroso. No debe contener más de 10 ppm de V.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,2 %, determinado sobre 5 g.

Polipropileno para envases y tapones destinados a preparaciones de uso parenteral

El polipropileno consiste en un homopolímero de propileno o de un copolímero de propileno con hasta 20 % de etileno o de una mezcla de polipropileno con hasta un 20 % de polietileno.

LIMITES DE ADITIVOS Y ESTABILIZANTES

ADITIVOS	LÍMITES (%)
<i>Estabilizantes – puede contener no más de tres de los siguientes estabilizantes:</i>	
Tetrakis [3-(3,5-di- <i>ter</i> -butil-4-hidroxifenil)propionato de pentaeritritol	0,3
3-(3,5-di- <i>ter</i> -butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo	0,3
3,3-bis(3- <i>ter</i> -butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno	0,3
2,2',2'',6,6',6''-hexa- <i>ter</i> -butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil)trismetilen] trifenol	0,3
2,2'-bis(octadeciloxi)-5,5'-espirobi [1,3,2-dioxafosforinano]	0,3
3,3'-tiodipropionato de didodecilo	0,3
3,3'-tiodipropionato de dioctadecilo	0,3
disulfuro de dioctadecilo	0,3
butilhidroxitolueno	0,125
<i>Aditivos</i>	
estearato de calcio o estearato de cinc o una mezcla de ambos	0,2

CARACTERÍSTICAS

Polvo, perlas, gránulos o láminas translúcidas de espesor variable. El polipropileno es prácticamente insoluble en agua, etanol y metanol; es también prácticamente insoluble en hexano el cual disuelve polímeros residuales de bajo peso molecular; ligeramente soluble en decalina, tetralina, tolueno y xileno a ebullición. Se ablanda a temperaturas por encima de 150 °C. Se quema con una llama azul.

IDENTIFICACIÓN

Absorción infrarroja <460>. A 250 mg del material a ensayar agregar 10 ml de tolueno y calentar a reflujo durante aproximadamente 15 minutos. Colocar unas gotas de la solución caliente sobre una placa de cloruro de sodio y evaporar el solvente a 80 °C. Los máximos de absorción en el espectro obtenido corresponden en posición e intensidad relativa a los del espectro obtenido con Polipropileno SR-FA. Los espectros de copolímeros y mezclas deben presentar un máximo adicional aproximadamente a 720 cm⁻¹. [NOTA: si el material a ensayar se presenta en forma de láminas, el espectro puede determinarse directamente sobre un trozo de tamaño apropiado].

ENSAYOS - [NOTA: si es necesario, cortar el material en trozos de tamaño apropiado].

Solución indicadora - Disolver en alcohol 100 mg de azul de bromotimol, 20 mg de rojo de metilo y 200 mg de fenoltaleína. Diluir a 100 ml con el mismo solvente y filtrar.

Solución S₁ - Transferir 2,0 g del material a ensayar y 5 ml de cloroformo acidificado (SR) a un recipiente de 10 ml de paredes gruesas de vidrio tipo I ó II (ver 430. *Envases de vidrio*). Cerrar el recipiente con un tapón elastomérico con una cubierta de politetrafluoroetileno y asegurar el tapón. Colocar el recipiente en un baño de agua a 85 °C durante 2 horas. Retirarlo, invertirlo y dejarlo enfriar. Decantar la solución clorofórmica transparente.

Solución S₂ - Transferir 25 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 500 ml de agua y calentar a reflujo durante 5 horas. Dejar enfriar y decantar la solución. Reservar una porción de la solución para el ensayo *Aspecto de la solución S₂* y filtrar el resto a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media.

Solución S₃ - Transferir 100 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 200 ml de ácido clorhídrico 0,1 M y calentar a reflujo con agitación constante durante 1 hora. Enfriar, filtrar y evaporar el filtrado a sequedad. Disolver el residuo en 2 ml de ácido clorhídrico y diluir a 10,0 ml con ácido clorhídrico 0,1 M.

Acidez o alcalinidad - A 100 ml de *Solución S₂*, agregar 0,15 ml de *Solución indicadora*. No se deben requerir más de 1,5 ml de hidróxido de sodio 0,01 N para cambiar el color del indicador a azul. A 100 ml de *Solución S₂* agregar 0,2 ml de naranja de meti-

lo (SR). No se debe requerir más de 1,0 ml de ácido clorhídrico 0,01 N para iniciar el cambio de color del indicador de amarillo a anaranjado.

Absorbancia - A longitudes de onda entre 220 y 340 nm, la absorbancia de la *Solución S₂* no debe ser mayor de 0,5.

Sustancias reductoras - A 20 ml de la *Solución S₂* agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido y 20 ml de permanganato de potasio 0,002 M. Calentar a reflujo durante 3 minutos y enfriar inmediatamente. Agregar 1 g de ioduro de potasio y titular inmediatamente con tiosulfato de sodio 0,01 N, empleando 0,25 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. La diferencia entre los volúmenes no debe ser mayor de 0,5 ml.

Sustancias solubles en hexano - Transferir 10 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 50 ml de hexano, adaptar un refrigerante y calentar en un baño de agua a 75 °C con agitación constante durante 4 horas. Enfriar en agua helada y filtrar rápidamente a través de un filtro de vidrio sinterizado. Evaporar 10 ml del filtrado a sequedad en un recipiente previamente pesado y secar el residuo entre 100 y 105 °C durante 1 hora. El residuo no debe pesar más de 0,1 g (5 %).

Aditivos -

Fase estacionaria - Emplear tres placas para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubiertas con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil 1 - Hexano.

Fase móvil 2 - Cloruro de metileno y éter de petróleo (80:20).

Fase móvil 3 - Cloruro de metileno y metanol (95:5).

Solución estándar A - Disolver 5 mg de butilhidroxitolueno en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 12 mg de tetrakis [3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato] de pentaeritritilo en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar C - Disolver 12 mg de 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar D - Disolver 12 mg de 3,3-bis(3-*ter*-butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar E - Disolver 12 mg de 2,2',2'',6,6',6''-hexa-*ter*-butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-

1,3,5-bencenotriil) trimetil] trifenol en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar F - Disolver 12 mg de 2,2'-bis(octadeciloxi)-5,5'-espirobi [1,3,2-dioxafosforinano] en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar G - Disolver 12 mg de 3,3'-tiodipropionato de didodecilo en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar H - Disolver 12 mg de 3,3'-tiodipropionato de dioctadecilo en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar I - Disolver 8 mg de ácido esteárico en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar J - Disolver 12 mg de disulfuro de dioctadecilo en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución muestra - Solución S₁

Revelador 1 - Solución de cloruro férrico al 5 % recientemente preparada.

Revelador 2 - Solución de ferricianuro de potasio al 5 %.

Revelador 3 - Acido sulfúrico.

Revelador 4 - Solución de ácido fosfomolibdico al 4 % en alcohol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre cada placa 10 µl de cada solución. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 13 cm empleando *Fase móvil 1*. Retirar las placas de la cámara y dejarlas secar al aire.

Para la segunda placa, desarrollar nuevamente los cromatogramas en la misma dirección hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm empleando *Fase móvil 2*.

Para la tercera placa, desarrollar nuevamente los cromatogramas en la misma dirección hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm empleando *Fase móvil 3*.

Retirar las placas de las cámaras y dejarlas secar al aire. Examinar la primera placa bajo luz ultravioleta a 254 nm. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar una mancha que corresponde a la mancha en el cromatograma de la *Solución estándar A* y *J*. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 1* y luego con *Revelador 2*. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar una mancha que corresponde a la mancha en el cromatograma de la *Solución estándar A*.

Pulverizar sobre la segunda placa con *Revelador 1* y luego con *Revelador 2*. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar las manchas que corresponden a las manchas en los cromatogramas de las *Soluciones estándar A, B, D* y *J*. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 3* y calentar la placa a 120 °C hasta que las manchas aparezcan en los cromatogra-

mas de estas *Soluciones estándar F, G y H*. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar manchas que corresponden a las presentes en los cromatogramas de estas *Soluciones estándar*.

Pulverizar sobre la tercera placa con *Revelador 4* y calentar a 120 °C hasta que las manchas aparezcan en los cromatogramas de las *Soluciones estándar*. Las manchas aparecen rápidamente en los cromatogramas de las *Soluciones estándar A, B, C, D, E, F, G y H*. La mancha en el cromatograma de la *Solución estándar I* aparece más lentamente. El cromatograma de la *Solución muestra* no debe presentar más de tres manchas y éstas corresponden a las manchas en los cromatogramas de las *Soluciones estándar A, B, C, D, E, F, G o H*; puede mostrar también una mancha que corresponde a la mancha en el cromatograma de la *Solución estándar I*. Las manchas en el cromatograma de la *Solución muestra* no deben ser más intensas que las manchas correspondientes en los cromatogramas de las *Soluciones estándar*.

[NOTA: en el cromatograma de la *Solución muestra*, cualquier mancha cercana al frente del solvente empleado para el primer desarrollo no debe tenerse en cuenta (polímeros de bajo peso molecular relativo)].

Cromo - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad de dicromato de potasio, equivalente a 0,283 g de $K_2Cr_2O_7$, en agua y diluir a 1 litro con el mismo solvente (100 ppm de Cr).

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar empleando la *Solución madre del estándar* diluida con una mezcla de agua y ácido clorhídrico (8:2).

Solución muestra - *Solución S₃*

Procedimiento - Medir la absorbancia a 358,0 nm empleando una lámpara de cromo de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama de aire-acetileno. No debe contener más de 0,05 ppm de Cr.

Vanadio - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad de vanadato de amonio, equivalente a 0,230 g de NH_4VO_3 , en agua y diluir a 100,0 ml con el mismo solvente (0,1 % de V).

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar empleando la *Solución madre del estándar* diluida con una mezcla de agua y ácido clorhídrico (8:2).

Solución muestra - *Solución S₃*

Procedimiento - Medir la absorbancia a 318,3 nm empleando una lámpara de vanadio de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama de acetileno-óxido nítrico. No debe contener más de 10 ppm de V.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,2 %, determinado sobre 5 g.

Copolímero de etileno-acetato de vinilo para envases y tubos destinados a preparaciones para nutrición parenteral

El copolímero de etileno-acetato de vinilo se obtiene por copolimerización de mezclas de etileno y acetato de vinilo. Contiene una cantidad definida de acetato de vinilo no superior a un 25 % en los materiales que se emplean para fabricar envases y no superior a un 30 % en los materiales que se emplean para fabricar tubos.

LÍMITE DE ADITIVOS Y ESTABILIZANTES

ADITIVOS	LÍMITES (%)
<i>Estabilizantes – puede contener no más de tres de los siguientes estabilizantes:</i>	
butilhidroxitolueno	0,125
tetrakis [3-(3,5-di- <i>ter</i> -butil-4-hidroxifenil)propionato de pentaeritritilo	0,2
3-(3,5-di- <i>ter</i> -butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo	0,2
fosfito de tris(2,4-di- <i>ter</i> -butilfenilo)	0,2
2,2',2'',6,6',6''-hexa- <i>ter</i> -butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil)trismetilen] trifenol	0,2
<i>Aditivos -</i>	
oleamida o erucamida	0,2
estearato de calcio o estearato de cinc o una mezcla de ambos	0,5
carbonato de calcio o hidróxido de potasio	0,5
dióxido de silicio	0,2

CARACTERÍSTICAS

Perlas, gránulos o, luego de ser transformado, láminas translúcidas o tubos de espesor variable. Es prácticamente insoluble en agua, etanol, metanol

y hexano. Sin embargo el hexano disuelve los polímeros residuales de bajo peso molecular. Soluble en hidrocarburos aromáticos calientes. Se quema con una llama azul. La temperatura a la cual el

material se ablanda varía con el contenido de acetato de vinilo, siendo aproximadamente de 100 °C para materiales de bajo contenido y de aproximadamente 70 °C para materiales cuyo contenido es de 30 %.

IDENTIFICACIÓN - [NOTA: si es necesario, cortar el material en trozos de tamaño apropiado].

Absorción infrarroja <460>. A 250 mg del material a ensayar agregar 10 ml de tolueno y calentar a reflujo durante aproximadamente 15 minutos. Colocar unas gotas de la solución obtenida sobre una placa de cloruro de sodio y evaporar el solvente a 80 °C. El espectro obtenido debe presentar los siguientes máximos de absorción que corresponden al acetato de vinilo: 1.740; 1.375; 1.240; 1.020 y 610 cm^{-1} y máximos que corresponden al etileno en las posiciones siguientes: 2.920 a 2.850; 1.470; 1.460; 1.375; 730 y 720 cm^{-1} . El espectro obtenido debe ser, además, idéntico al obtenido con la sustancia de referencia. [NOTA: si el material a ensayar está en forma de láminas, el espectro puede determinarse directamente sobre un trozo de tamaño apropiado.]

ENSAYOS - [NOTA: si es necesario, cortar el material en trozos de tamaño apropiado.]

Solución indicadora - Disolver en alcohol 100 mg de azul de bromotimol, 20 mg de rojo de metilo y 200 mg de fenoltaleína. Diluir a 100 ml con el mismo solvente y filtrar.

Solución S_1 - Transferir 2,0 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 80 ml de tolueno y calentar a reflujo con agitación constante durante 90 minutos. Dejar enfriar a 60 °C y agregar 120 ml de metanol con agitación constante. Filtrar la solución a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media. Lavar el erlenmeyer y el filtro con 25 ml de una mezcla de 40 ml de tolueno y 60 ml de metanol, agregar el lavado al filtrado y diluir a 250 ml con la misma mezcla de solventes.

Solución S_2 - Transferir 25 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 500 ml de *Agua para Inyectables* y calentar a reflujo durante 5 horas. Dejar enfriar y decantar la solución. Reservar una porción de la solución para el ensayo *Aspecto de la solución S_2* y filtrar el resto a través de un filtro de vidrio sinterizado. Emplear dentro de las 4 horas de su preparación.

Aspecto de la solución S_2 - Debe ser transparente e incolora.

Acidez o alcalinidad - A 100 ml de la *Solución S_2* agregar 0,15 ml de *Solución indicadora*. No se deben requerir más de 1,0 ml de hidróxido de

sodio 0,01 N para cambiar el color del indicador a azul. A 100 ml de *Solución S_2* agregar 0,2 ml de naranja de metilo (SR). No se deben requerir más de 1,5 ml de ácido clorhídrico 0,01 N para iniciar el cambio de color del indicador de amarillo a anaranjado.

Absorbancia - A longitudes de onda entre 220 y 340 nm, la absorbancia de la *Solución S_2* no debe ser mayor de 0,20.

Sustancias reductoras - 20 ml de la *Solución S_2* agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido y 20 ml de permanganato de potasio 0,002 M. Calentar a reflujo durante 3 minutos y enfriar inmediatamente. Agregar 1 g de yoduro de potasio y titular inmediatamente con tiosulfato de sodio 0,01 N, empleando 0,25 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. La diferencia entre los volúmenes no debe ser mayor de 0,5 ml.

Amidas y ácido esteárico

Fase estacionaria - Emplear dos placas para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil 1 - 2,2,4-Trimetilpentano y etanol (75:25).

Fase móvil 2 - Hexano

Fase móvil 3 - Cloruro de metileno y metanol (95:5).

Solución estándar A - Disolver 20 mg de ácido esteárico en 10 ml de cloruro de metileno.

Solución estándar B - Disolver 40 mg de oleamida en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 1 ml de esta solución a 5 ml con cloruro de metileno.

Solución estándar C - Disolver 40 mg de erucamida en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 1 ml de esta solución a 5 ml con cloruro de metileno.

Solución muestra - Evaporar a sequedad, aplicando vacío y a 45 °C, 100 ml de la *Solución S_1* . Disolver el residuo en 2 ml de cloruro de metileno acidificado (SR).

Revelador - Ácido fosfomolibdico al 4 % en etanol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre cada placa 10 μl de cada solución. Dejar secar las aplicaciones. Desarrollar la primera placa hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm empleando *Fase móvil 1*. Retirar la placa de la cámara y dejarla secar. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar a 120 °C durante unos minutos para intensificar las manchas. Cualquier mancha que corresponda a ácido esteárico en el cromatograma de la *Solución muestra* no debe ser

más intensa que la mancha principal en el cromatograma de la *Solución estándar A*.

Desarrollar la segunda placa hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 13 cm empleando *Fase móvil 2*. Retirar la placa de la cámara y dejarla secar. Desarrollar nuevamente hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm empleando *Fase móvil 3*. Retirar la placa de la cámara y dejarla secar. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*. Calentar en una estufa a 120 °C hasta que las manchas aparezcan. Cualquier mancha que corresponda a erucamida u oleamida en el cromatograma de la *Solución muestra* no debe ser más intensa que las manchas correspondientes en los cromatogramas de las *Soluciones estándar B y C*.

Antioxidantes fenólicos

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice porosa de 5 µm de diámetro. El caudal es de aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Emplear una de las dos mezclas siguientes:

Fase móvil 1 - Acetonitrilo, tetrahidrofurano y agua (60:30:10).

Fase móvil 2 - Metanol, 2-propanol y agua (50:45:5).

Solución estándar A - Disolver 25 mg de butilhidroxitolueno, 40 mg de 2,2',2'',6,6',6''-hexa-*ter*-butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil) trismetilen]trifenol, 40 mg de tetrakis [3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato] de pentaeritrito y 40 mg de 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil) propionato de octadecilo en 10 ml de una mezcla de acetonitrilo y tetrahidrofurano (50:50). Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 40 mg de 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil) propionato de octadecilo y 40 mg de fosfito de tris(2,4-di-*ter*-butilfenilo) en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución muestra A - Evaporar a sequedad, aplicando vacío y a 45 °C, 50 ml de *Solución S₁*. Disolver el residuo en 5 ml de una mezcla de acetonitrilo y tetrahidrofurano (50:50).

Solución muestra B - Evaporar a sequedad, aplicando vacío y a 45 °C, 50 ml de *Solución S₁*. Disolver el residuo en 5 ml de cloruro de metileno.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) -

Empleando Fase móvil 1 - Cromatografiar la *Solución estándar A*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna calculada para el pico de butilhidroxitolueno no debe ser menor de 2.500 platos teóricos y la resolución, *R*, entre los picos de tetrakis [3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato] de pentaeritrito y 2,2',2'',6,6',6''-hexa-*ter*-butil-(4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil) trismetilen]trifenol no debe ser menor de 2,0.

Empleando Fase móvil 2 - Cromatografiar la *Solución estándar B*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución, *R*, entre los picos de 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo y fosfito de tris(2,4-di-*ter*-butilfenilo) no debe ser menor de 2,0.

Procedimiento - Empleando *Fase móvil 1*, inyectar por separado en el cromatógrafo 20 µl de *Solución muestra A* y 20 µl de *Solución estándar A*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. El cromatograma de la *Solución muestra A* debe presentar únicamente los picos principales que corresponden a los picos en el cromatograma de la *Solución estándar A* con un tiempo de retención mayor de 2 minutos. Las respuestas de los picos en el cromatograma de la *Solución muestra A* no deben ser mayores que las de los picos correspondientes en el cromatograma de la *Solución estándar A*, a excepción del último pico eluido en el cromatograma de la *Solución estándar A*.

Si el cromatograma de la *Solución muestra A* presenta un pico con el mismo tiempo de retención que el último antioxidante eluido con la *Solución estándar A*, emplear *Fase móvil 2* y proceder según se indica a continuación:

Inyectar por separado en el cromatógrafo 20 µl de *Solución muestra B* y 20 µl de *Solución estándar B*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. El cromatograma de la *Solución muestra B* debe presentar sólo picos principales que corresponden a los picos en el cromatograma de la *Solución estándar B* con un tiempo de retención mayor de 3 minutos.

Las respuestas de los picos en el cromatograma de la *Solución muestra B* no deben ser mayores que las de los picos correspondientes en el cromatograma de la *Solución estándar B*.

Sustancias solubles en hexano - Transferir 5 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 50 ml de hexano y calentar a reflujo en un baño de agua con agitación constante durante 4 horas. Enfriar en un

baño de hielo (se puede formar un gel). Adaptar una camisa de enfriamiento, llena de agua helada, a un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media adaptado con un dispositivo que permita aplicar presión durante la filtración.

Dejar enfriar el filtro durante 15 minutos. Filtrar la solución de hexano aplicando una presión de 27 kPa sin lavar el residuo: el tiempo de filtración no debe exceder de 5 minutos. Evaporar 20 ml de la solución a sequedad. Secar a 100 °C durante 1 hora. El residuo no debe pesar más de 40 mg (2 %) para copolímeros empleados en la fabricación de envases y no más de 0,1 g (5 %) para copolímeros empleados para tubos.

Residuo de ignición <270> - No más de 1,2 %, determinado sobre 5,0 g.

VALORACION

Transferir de 250 mg a 1 g del material a ensayar, según el contenido de acetato de vinilo del copolímero en ensayo, a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada de 300 ml. Agregar 40 ml de xileno. Calentar a reflujo con agitación durante 4 horas. Dejar enfriar, con agitación continua, hasta que comience la precipitación. Agregar lentamente 25,0 ml de una solución de hidróxido de potasio alcohólico preparada disolviendo 6,6 g de hidróxido de potasio en 50 ml de agua y diluyendo a 1 litro con etanol. Calentar a reflujo con agitación durante 3 horas. Dejar enfriar con agitación continua, lavar el refrigerante con 50 ml de agua y agregar al erlenmeyer 30,0 ml de ácido sulfúrico 0,1 N. Transferir el contenido del erlenmeyer a un vaso de precipitados de 400 ml. Lavar el erlenmeyer con dos porciones de 50 ml de una solución de sulfato de sodio anhidro al 20 % y tres porciones de 20 ml de agua. Agregar todos los lavados al vaso de precipitados que contiene la solución inicial. Titular el exceso de ácido sulfúrico con hidróxido de sodio 0,1 N, determinando el punto final potenciométricamente (ver 780. *Volumetría*). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido sulfúrico 0,1 N es equivalente a 8,609 mg de acetato de vinilo.

ENVASES PRIMARIOS PLÁSTICOS

Envases plásticos estériles para sangre humana o hemoderivados

Los envases plásticos para la recolección, almacenamiento, procesamiento y administración de sangre humana y hemoderivados se fabrican de uno o más polímeros y, si el caso así lo requiere, con aditivos permitidos. En condiciones normales de uso, los materiales no deben liberar monómeros u

otras sustancias, en cantidades que puedan ser nocivas o causen modificaciones anormales a la sangre.

Los envases pueden contener soluciones anticoagulantes.

Cada envase está equipado con accesorios apropiados para facilitar su uso. El envase puede estar constituido por una unidad o estar conectado por uno o más tubos a uno o más envases complementarios para permitir la separación de los componentes sanguíneos en un sistema cerrado.

A menos que se especifique de otro modo en *Envases plásticos estériles para sangre humana y hemoderivados*, los materiales de los envases deben cumplir con los requisitos para *Poli (cloruro de vinilo) plastificado para envases destinados a soluciones acuosas para perfusión intravenosa*.

CARACTERÍSTICAS

El envase debe ser suficientemente transparente para permitir un examen visual apropiado de su contenido antes y después de ser llenado con sangre y debe ser suficientemente flexible para ofrecer una mínima resistencia durante el llenado y vaciado bajo condiciones normales de uso. El envase no debe contener más de 5 ml de aire.

ENSAYOS

Solución S₁.- Llenar el envase con 100 ml de Solución fisiológica libre de pirogenos (SR) estéril. Cerrar el envase y calentarlo en autoclave, manteniendo la temperatura a 110 °C durante 30 minutos.

Si el envase a ensayar contiene una solución anticoagulante, vaciarlo previamente, y lavarlo con 250 ml de *Agua para Inyectables* a 20 ± 1 °C en varias porciones, descartando los lavados.

Solución S₂ - Introducir en el envase un volumen de *Agua para Inyectables* igual al volumen de solución de anticoagulante. Cerrar el envase y calentarlo en autoclave manteniendo la temperatura a 110 °C durante 30 minutos. Enfriar, agregar suficiente cantidad de *Agua para Inyectables* como para llenar el envase hasta su capacidad nominal.

Si el envase a ensayar contiene una solución anticoagulante, vaciarlo previamente y lavarlo según se indicó anteriormente para la *Solución S₁*.

Resistencia a variaciones de temperatura -

Colocar el envase en una cámara apropiada la cual posee una temperatura inicial entre 20 y 23 °C. Enfriarlo rápidamente a una temperatura de - 80 °C y mantenerlo a esa temperatura durante 24 horas. Elevar la temperatura a 50 °C y mantenerla durante 12 horas. Dejar enfriar a temperatura ambiente. El envase deberá cumplir con los ensayos para la *Resistencia a la centrifugación, Resistencia al estiramiento, Fuga, Permeabilidad al vapor de agua,*

Vaciado bajo presión y Velocidad de llenado, siguiendo las técnicas descriptas en este capítulo.

Resistencia a la centrifugación -

Solución indicadora - Disolver, con calentamiento suave, 50 mg de azul de bromofenol en 3,73 ml de hidróxido de sodio 0,02 M y diluir a 100 ml con agua.

Procedimiento - Introducir en el envase un volumen de agua acidificada, por el agregado de 1 ml de solución de ácido clorhídrico diluido, en cantidad suficiente para alcanzar su capacidad nominal. Envolver el envase con un papel absorbente impregnado con *Solución indicadora* diluida 1 en 5. Secar y centrifugar durante 10 minutos a 5.000 g. No se debe producir ninguna fuga, revelada por el papel indicador, ni ninguna distorsión permanente.

Resistencia al estiramiento - Introducir en el envase un volumen de agua acidificada por el agregado de 1 ml de solución de ácido clorhídrico diluido, en suficiente cantidad para alcanzar su capacidad nominal. Suspender el envase por el dispositivo de sujeción desde el extremo opuesto al tubo de salida, aplicar a lo largo del eje del tubo una fuerza de 20 N (2,05 kgf). Mantener la tracción durante 5 segundos. Repetir el ensayo aplicando la fuerza a cada una de las partes que se emplean para llenar y vaciar el envase. No deberá producirse rotura o deterioro apreciable.

Ensayo de fuga - Colocar el envase, previamente sometido al ensayo de *Resistencia al estiramiento*, entre dos placas recubiertas con papel absorbente impregnado con *Solución indicadora* diluida 1 en 5, empleada en el ensayo de *Resistencia a la centrifugación* y secar. Aplicar, progresivamente, una fuerza a las placas de forma que la presión interna del envase alcance 67 kPa en el término de 1 minuto. Mantener la presión durante 10 minutos. No se debe percibir ninguna señal de fuga sobre el papel indicador.

Permeabilidad al vapor de agua - Para envases que contienen solución anticoagulante, llenar con un volumen de Solución fisiológica (SR) similar a la cantidad de sangre a contener.

Para el caso de los envases vacíos, llenar con la mezcla de solución de anticoagulante indicada y Solución fisiológica (SR). Cerrar el envase, pesarlo y almacenarlo a 5 ± 1 °C en una atmósfera con una humedad relativa de 50 ± 5 % durante 21 días. Al final de este período la pérdida de peso no deber ser mayor de 1 %.

Vaciado bajo presión - Llenar el envase con un volumen de agua a 5 ± 1 °C, equivalente a su capacidad nominal. Adosar a uno de los conectores un equipo de transfusión sin cánula intravenosa.

Comprimir el envase de manera tal que durante el vaciado se mantenga una presión interna de 40 kPa. El envase se debe vaciar en menos de 2 minutos.

Velocidad de llenado - Conectar el envase, por intermedio del tubo de transferencia con su correspondiente aguja a un depósito que contiene una cantidad apropiada de una solución con una viscosidad similar a la de la sangre, como por ej., una solución de sacarosa con una concentración de 335 g/l a 37 °C. Mantener la presión interna del depósito a 9,3 kPa, estando al mismo nivel la base del mismo y la parte superior del envase. El volumen de líquido que fluye dentro del envase en 8 minutos no debe ser menor que la capacidad nominal del envase.

Transparencia -

Solución de sulfato de hidracina - Disolver 1,0 g de sulfato de hidracina en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Dejar reposar durante 4 a 6 horas.

Solución de hexametilentetramina - Transferir 2,5 g de hexametilentetramina a un matraz de 100 ml con tapón esmerilado. Agregar 25 ml de agua y disolver.

Suspensión opalescente primaria - Agregar a la *Solución de hexametilentetramina* contenida en el matraz, 25 ml de *Solución de sulfato de hidracina*. Mezclar y dejar reposar durante 24 horas. Esta suspensión es estable durante 2 meses cuando se la almacena en envases de una superficie interna perfectamente lisa. La suspensión no debe adherirse y debe agitarse cuidadosamente antes de ser empleada.

Procedimiento - Introducir al envase vacío un volumen, equivalente a su capacidad nominal, de la *Suspensión opalescente primaria* diluida de manera de obtener una absorbancia entre 0,37 y 0,43 a 640 nm (el factor de dilución es de 1 en 16). La turbidez de la suspensión debe ser perceptible cuando se observa a través del envase, en comparación con un envase de similares características lleno de agua en las mismas condiciones.

Efectos hemolíticos en sistemas de pH regulado - (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*).

Solución reguladora madre - Disolver 90,0 g de cloruro de sodio, 34,6 g de fosfato dibásico de sodio y 2,43 g de fosfato monobásico de sodio en agua y diluir a 1 litro con el mismo solvente.

Solución reguladora A₀ - A 30,0 ml de la *Solución reguladora madre* agregar 10,0 ml de agua.

Solución reguladora B₀ - A 30,0 ml de la *Solución reguladora madre* agregar 20,0 ml de agua.

Solución reguladora C₀ - A 15,0 ml de la *Solución reguladora madre* agregar 85,0 ml de agua.

Solución A₁ - Mezclar 3,0 ml de *Solución reguladora A₀* y 12,0 ml de agua.

Solución B₁ - Mezclar 4,0 ml de *Solución reguladora B₀* y 11,0 ml de agua.

Solución C₁ - Mezclar 4,75 ml de *Solución reguladora C₀* y 10,25 ml de agua.

Procedimiento - Transferir 1,4 ml de la *Solución S₂* a cada uno de tres tubos de centrifuga. Al tubo I agregarle 0,1 ml de *Solución reguladora A₀*, al tubo II agregarle 0,1 ml de *Solución reguladora B₀* y al tubo III agregarle 0,1 ml de *Solución reguladora C₀*. Agregar a cada tubo 0,02 ml de sangre humana fresca heparinizada, mezclar bien y calentar en un baño de agua a 30 ± 1 °C durante 40 minutos. Emplear sangre recolectada 3 horas antes como máximo o sangre recolectada con solución anticoagulante de citrato-fosfato-dextrosa 24 horas antes como máximo.

A los tubos I, II y III agregar 1,5 ml de *Solución A₁*, *Solución B₁* y *Solución C₁*, respectivamente. Al mismo tiempo y de la misma manera, preparar otros tres tubos, reemplazando *Solución S₂* por agua, estos tubos servirán como control. Centrifugar simultáneamente los tubos a ensayar y los de control a exactamente 2.500 g en la misma centrifuga horizontal durante 5 minutos. Determinar las absorbancias, con un espectrofotómetro apropiado, en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de 540 nm, empleando la *Solución reguladora madre* como blanco. Calcular el porcentaje de hemólisis por la fórmula siguiente:

$$\frac{A_{\text{exp}}}{A_{100}} 100$$

en la cuál A_{100} , es la absorbancia del tubo III y A_{exp} son las absorbancias de los tubo I ó II, o las correspondientes a los tubos controles.

La solución en el tubo I debe dar un porcentaje de hemólisis no mayor a 10 % y el porcentaje de hemólisis de la solución en el tubo II no debe diferir en más de 10 % al del tubo control correspondiente.

Esterilidad <370> - Introducir asépticamente en el envase 100 ml de *Solución fisiológica (SR)* estéril y agitar el envase para asegurar que la superficie interna se moje completamente. Filtrar el contenido del envase a través de un filtro de membrana y colocar la membrana en un medio de cultivo apropiado. Los envases deben cumplir con el ensayo de esterilidad.

Piretógenos <340> - Inyectar 10 ml de la *Solución S₁* por cada kg de peso del conejo. La *Solución S₁* debe cumplir con los requisitos establecidos.

Toxicidad anormal <360> - Inyectar 0,5 ml de la *Solución S₁* a cada ratón. La *Solución S₁* debe cumplir con los requisitos establecidos.

Acondicionamiento –

Los envases están contenidos en sobres protectores. Al separarse el envase de su sobre protector, el mismo no debe evidenciar fugas ni crecimiento de microorganismos. El sobre protector debe ser suficientemente resistente para soportar la manipulación normal.

El sobre protector debe estar sellado de tal manera que no pueda abrirse y cerrarse nuevamente sin evidenciar la rotura del mismo.

Rotulado - Debe cumplir con las normas vigentes.

Envases plásticos vacíos estériles de poli(cloruro de vinilo) plastificado para sangre humana o hemoderivados

ENSAYOS

Deberán cumplir con los ensayos para *Envases plásticos estériles para sangre humana o hemoderivados* y con los siguientes ensayos para detectar materia extraíble.

Solución de referencia - Transferir *Agua para Inyectables* a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato y calentar en autoclave a 110 °C durante 30 minutos.

Sustancias reductoras - Inmediatamente después de la preparación de la *Solución S₂*, transferir al erlenmeyer al borosilicato una cantidad correspondiente al 8 % de la capacidad nominal del envase. Simultáneamente preparar un blanco empleando un volumen igual de la *Solución de referencia* recientemente preparada en otro erlenmeyer de vidrio al borosilicato. A cada solución agregar 20,0 ml de permanganato de potasio 0,002 M y 1 ml de ácido sulfúrico diluido. Dejar reposar durante 15 minutos protegido de la luz.

A cada solución agregar 0,1 g de yoduro de potasio. Dejar reposar durante 5 minutos protegido de la luz y titular inmediatamente con tiosulfato de sodio 0,01 N, empleando 0,25 ml de almidón (SR) como indicador. La diferencia entre las dos titulaciones no debe ser mayor de 2,0 ml.

Acidez o alcalinidad - A un volumen de *Solución S₂*, equivalente al 4 % de la capacidad nominal del envase, agregarle 0,1 ml de fenoftaleína (SR). La solución debe permanecer incolora. Agregar 0,4 ml de una solución de hidróxido de sodio 0,01 M. La solución debe tomar color rosado. Agregar 0,8 ml de ácido clorhídrico 0,01 M y 0,1 ml de rojo de metilo (SR1). La solución debe tornarse de color anaranjado rojizo o rojo.

Cloruro -

Solución de cloruro de sodio - Disolver en agua una cantidad de cloruro de sodio, equivalente a 0,824 g de ClNa, y diluir a 1 litro con el mismo solvente. Diluir 1 ml de esta solución a 100 con agua inmediatamente antes de usar (5 ppm de Cl).

Procedimiento - A 15 ml de *Solución S₂* agregar 1 ml de ácido nítrico diluido y volcar la mezcla de una sola vez en un tubo de Nessler que contenga 1 ml de nitrato de plata (SR). Luego de dejar esta solución en reposo durante 5 minutos protegido de la luz, no debe presentar una turbidez mayor que la de una solución preparada simultáneamente, mezclando 1,2 ml de *Solución de cloruro de sodio* con 13,8 ml de agua (0,4 ppm).

Amonio -

Solución alcalina de tetraiodomercurato de potasio - Disolver 11 g de ioduro de potasio y 15 g de ioduro de mercurio (II) en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Mezclar extemporáneamente 1 volumen de esta solución y 1 volumen de solución de hidróxido de sodio de 250 g/l.

Solución de amonio - Disolver en agua una cantidad de cloruro de amonio, equivalente a 741 mg de NH₄Cl, y diluir a 1 litro con el mismo solvente. Diluir 1 ml de esta solución a 100 con agua. Tomar 2 volúmenes de la solución anterior y diluir a 5 volúmenes con agua inmediatamente antes de usar (1 ppm de NH₄).

Solución diluida de hidróxido de sodio - Disolver 8,5 g de hidróxido de sodio en agua y diluir a 100 ml con agua.

Procedimiento - Diluir 5 ml de *Solución S₂* a 14 ml con agua, alcalinizar si es necesario con *Solución diluida de hidróxido de sodio* y diluir a 15 ml con agua. Agregar 0,3 ml de *Solución alcalina de tetraiodomercurato de potasio*. Después de 5 minutos, el color amarillo no debe ser más intenso que el producido por una solución obtenida mezclando 10 ml de *Solución de amonio* con 5 ml de agua y 0,3 ml de *Solución alcalina de tetraiodomercurato de potasio*. (2 ppm).

Residuo por evaporación - Evaporar a sequedad 100 ml de *Solución S₂* en un vaso de precipitados de vidrio al borosilicato, previamente calentada a 105 °C. Evaporar a sequedad, en las mismas condiciones, 100 ml de la *Solución de referencia*. Secar hasta peso constante entre 100 y 105 °C. El residuo de la *Solución S₂* no debe pesar más de 3 mg, comparado con la *Solución de referencia*.

Absorbancia - Determinar la absorbancia de la *Solución S₂* a longitudes de onda entre 230 y 360 nm, empleando la *Solución de referencia* como blanco. A longitudes de onda entre 230 y 250 nm,

la absorbancia no debe ser mayor de 0,30. A longitudes de onda entre 251 y 360 nm, la absorbancia no debe ser mayor de 0,10.

Ftalato de bis(2-etilhexilo) extraíble -

Solvente de extracción - Emplear alcohol diluido con agua con una densidad relativa entre 0,9389 y 0,9395 (ver 160. *Determinación de la densidad relativa*).

Solución madre del estándar - Disolver 100 mg de ftalato de bis(2-etilhexilo) en *Solvente de extracción* y diluir a 100,0 ml con el mismo solvente.

Soluciones estándar - Transferir 20,0; 10,0; 5,0; 2,0 y 1,0 ml de *Solución madre del estándar* a sendos matraces aforados de 100 ml y diluir a volumen con *Solvente de extracción* para obtener las *Soluciones estándar A, B, C, D y E*, respectivamente.

Determinar las absorbancias de las *Soluciones estándar*, con un espectrofotómetro apropiado, a la longitud de 272 nm, empleando *Solvente de extracción* como blanco. Trazar una recta de absorbancia en función de la concentración de ftalato de bis(2-etilhexilo).

Procedimiento de extracción - Mediante el empleo del adaptador correspondiente, llenar el envase vacío con un volumen de *Solvente de extracción* previamente calentado a 37 °C, igual a la mitad del volumen nominal. Expulsar el aire completamente del envase y sellar el tubo de salida. Sumergir el envase lleno en posición horizontal en un baño de agua a 37 ± 1 °C durante 60 ± 1 minuto sin agitar. Retirar el envase del baño de agua, invertirlo suavemente 10 veces y transferir el contenido a un matraz. Inmediatamente medir la absorbancia a 272 nm, empleando *Solvente de extracción* como blanco.

Determinar la concentración de ftalato de bis(2-etilhexilo), en mg por cada 100 ml de extracto, a partir de la recta de calibración.

La concentración no debe exceder:

- 10 mg por cada 100 ml, para envases cuyo volumen nominal sea mayor o igual de 300 ml, pero menor de 500 ml;

- 13 mg por cada 100 ml, para envases cuyo volumen nominal sea mayor de 150 ml, pero menor de 300 ml;

- 14 mg por cada 100 ml, para envases cuyo volumen nominal sea menor o igual 150 ml.

Acondicionamiento y rotulado - Ver *Envases plásticos estériles para sangre humana o hemoderivados*.

Envases plásticos estériles de poli(cloruro de vinilo) plastificado para sangre humana que contienen solución anticoagulante

Los envases plásticos estériles de poli(cloruro de vinilo) para sangre humana que contienen una solución anticoagulante o soluciones conservadoras deberán cumplir con las monografías correspondientes. Estos envases se emplean para la recolección, almacenamiento y administración de sangre. Antes de ser llenados deberán cumplir con la descripción y características dadas en *Envases plásticos vacíos estériles de poli(cloruro de vinilo) plastificado para sangre humana o hemoderivados*.

A menos que se especifique de otro modo en *Envases plásticos estériles para sangre humana o hemoderivados*, la naturaleza y composición de los materiales de los envases deben cumplir con los requisitos para *Poli(cloruro de vinilo) plastificado para envases destinados a sangre humana o hemoderivados* y para *envases destinados a soluciones acuosas para perfusión intravenosa*.

ENSAYOS

Los envases deben cumplir con los ensayos para *Envases plásticos estériles para sangre humana o hemoderivados* y con los siguientes ensayos para medir el volumen de solución anticoagulante y para detectar materia extraíble.

Volumen de solución anticoagulante - Transferir completamente el contenido del envase a una probeta. El volumen no debe diferir en más de $\pm 10\%$ del volumen declarado.

Absorbancia - Determinar la absorbancia de la solución anticoagulante, extraída del envase, entre 250 y 350 nm, empleando como blanco una solución anticoagulante de la misma composición que no ha estado en contacto con el material plástico. La absorbancia, a la longitud de 280 nm, no debe ser mayor de 0,5.

Ftalato de bis(2-etilhexilo) extraíble - Retirar cuidadosamente la solución anticoagulante por medio del tubo de transferencia empleando un embudo adaptado a dicho tubo, llenar completamente el envase con agua, dejar en contacto durante 1 minuto, y presionar suavemente el envase. Después vaciarlo completamente y repetir el lavado. El envase vacío y lavado debe cumplir con el ensayo *Ftalato de bis(2-etilhexilo) extraíble* descrito en *Envases plásticos vacíos estériles de poli(cloruro de vinilo) para sangre humana o hemoderivados*.

Acondicionamiento y rotulado - Ver *Envases plásticos estériles para sangre humana o hemoderivados*.

Envases plásticos para soluciones acuosas para perfusión intravenosa

Los envases plásticos destinados a soluciones acuosas para perfusión intravenosa deben cumplir con los siguientes ensayos.

ENSAYOS

Solución S - Llenar un envase hasta su capacidad nominal con agua y taponarlo. Colocar el envase en un autoclave a una temperatura de 121 °C, durante 30 minutos. Si el calentamiento a 121 °C produce el deterioro del envase, calentar a 100 °C durante 2 horas. Emplear la solución, dentro de las 4 horas de preparada.

Blanco - Preparar un blanco calentando agua en un erlenmeyer de vidrio al borosilicato tapado, a la temperatura y por el tiempo empleado para la preparación de la *Solución S*.

Aspecto de la solución S - Debe ser transparente e incolora.

Acidez o alcalinidad - A un volumen de *Solución S* correspondiente al 4 % de la capacidad nominal del envase agregar 0,1 ml de fenoltaleína (SR). La solución debe ser incolora. Agregar 0,4 ml de hidróxido de sodio 0,01 M. La solución debe tomar una coloración rosa. Agregar 0,8 ml de ácido clorhídrico 0,01 M y 0,1 ml de rojo de metilo (SR 1). La solución debe ser de color anaranjado rojizo o rojo.

Absorbancia - Determinar la absorbancia de la *Solución S* entre 230 y 360 nm, no debe ser mayor de 0,20.

Sustancias reductoras - A 20,0 ml de *Solución S* agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido y 20,0 ml de solución de permanganato de potasio 0,002 M. Calentar a ebullición durante 3 minutos y enfriar inmediatamente. Agregar 1 g de ioduro de potasio y titular inmediatamente con tiosulfato de sodio 0,01 N, empleando 0,25 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. La diferencia entre los volúmenes de titulación no debe ser mayor de 1,5 ml.

Transparencia

Solución de sulfato de hidracina - Disolver 1,0 g de sulfato de hidracina en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Dejar reposar durante 4 a 6 horas.

Solución de hexametilentetramina - Transferir 2,5 g de hexametilentetramina a un matraz de 100 ml con tapón esmerilado. Agregar 25 ml de agua y disolver.

Suspensión opalescente primaria - Agregar a la *Solución de hexametilentetramina* contenida en el matraz, 25 ml de *Solución de sulfato de hidracina*. Mezclar y dejar reposar durante 24 horas. Esta

suspensión es estable durante 2 meses cuando se la almacena en envases de vidrio de superficies internas lisas. La suspensión no debe adherirse y debe mezclarse cuidadosamente antes de ser empleada.

Procedimiento - Llenar el envase empleado anteriormente para la preparación de la *Solución S*, con un volumen de *Suspensión opalescente primaria*, igual a la capacidad nominal del envase, diluida 1 en 200 para un envase de polietileno o polipropileno y 1 en 400 para otros tipos de envases. La opalescencia de la suspensión debe ser perceptible cuando se observa a través del envase, en comparación con un envase de similares características lleno en las mismas condiciones pero con agua.

Acondicionamiento - El envase deberá ser acondicionado en un sobre protector.

Rotulado - Debe cumplir con las normas vigentes.

430. ENVASES DE VIDRIO

A continuación se describen los ensayos para la caracterización de la calidad de los envases primarios de vidrio destinados para uso farmacéutico.

Existen diversos tipos de envases:

Ampollas: son envases de vidrio de paredes finas en los que el cerrado, después del llenado, se realiza por fusión del vidrio. El contenido se extrae en una sola vez, previa apertura de las mismas.

Frascos, viales, jeringas y carpules: son envases cilíndricos, de paredes de grosor apropiado, cuyos cierres son de vidrio o de otro material, como por ej., materiales plásticos o elastoméricos. El contenido se extrae en una o varias dosis.

Envases para contener sangre y hemoderivados: son envases cilíndricos, de paredes más o menos gruesas, de vidrio neutro, incoloro y de capacidad variable.

La estabilidad química de los envases de vidrio para uso farmacéutico es expresada por la resistencia hidrolítica, es decir, la resistencia para liberar sustancias minerales solubles en agua bajo condiciones específicas de contacto entre la superficie interna del envase o el polvo del vidrio y el agua. La resistencia hidrolítica es evaluada por titulación de la alcalinidad liberada.

El vidrio neutro es un vidrio al borosilicato que contiene cantidades importantes de piroborato de sodio, óxidos de aluminio o alcalino térreos. Debido a su composición, tiene una alta resistencia a los cambios térmicos y una alta resistencia hidrolítica.

El vidrio sódico-cálcico es un vidrio de sílice que contiene óxidos de metales alcalinos y alcalino térreos principalmente óxido de sodio y óxido de calcio, respectivamente. Debido a su composición, este tipo de vidrio posee moderada resistencia hidrolítica.

Clasificación de los envases de vidrio según su resistencia hidrolítica:

-Tipo I: son envases de vidrio neutro de alta resistencia hidrolítica; en general son apropiados para todas las preparaciones, sean o no para uso parenteral, para sangre y hemoderivados.

-Tipo II: son envases de vidrio sódico-cálcico de alta resistencia hidrolítica; en general son apropiados para las preparaciones parenterales acuosas neutras o ácidas.

-Tipo III: son envases de vidrio sódico-cálcico de moderada resistencia hidrolítica; en general son apropiados para preparaciones parenterales no

acuosas, polvos para uso parenteral y preparaciones no parenterales.

-Tipo IV: son envases de vidrio sódico-cálcico de baja resistencia hidrolítica; en general son apropiados para preparaciones sólidas, líquidas o semisólidas que no son para uso parenteral.

En todos los casos, la elección de un envase primario debe ser el resultado de un estudio de estabilidad llevado a cabo en condiciones apropiadas. El elaborador de un producto farmacéutico es el responsable de garantizar la compatibilidad del envase elegido con la preparación que contiene.

RESISTENCIA HIDROLÍTICA Materiales y reactivos

Para este ensayo es necesario emplear un autoclave; tamices N° 710, 425 y 250 (llamados a, b y c, respectivamente); dos erlenmeyers de vidrio resistente de 250 ml; un martillo de 900 g; un imán permanente; un desecador y un mortero con pilón, ambos de acero y contruados según las especificaciones dadas en la *Figura*.

Solución indicadora de rojo de metilo - Disolver 50 mg de rojo de metilo en una mezcla preparada con 50 ml de alcohol y 1,86 ml de hidróxido de sodio 0,1 M. Diluir a 100 ml con agua. El cambio de color se produce a pH entre 4,4 y 6,0.

Resistencia hidrolítica del vidrio pulverizado

La magnitud del ataque se determina por la cantidad de álcali liberado por el vidrio, bajo condiciones específicas.

Solución muestra - Lavar perfectamente con agua los envases destinados al ensayo y secarlos en estufa. Triturar aproximadamente 100 g de vidrio procedentes de tres envases como mínimo, de modo que la dimensión de los fragmentos obtenidos no sobrepase los 25 mm. Transferir una parte de la muestra al mortero, insertar el pilón y golpear fuertemente una sola vez. Transferir el contenido del mortero al tamiz superior (a). Repetir la operación con el resto de la muestra. Pasar rápidamente por los tamices y recolectar los fragmentos que quedan sobre los tamices (a) y (b). Someter estos fragmentos a una nueva trituración. Repetir la operación hasta que sólo queden sobre el tamiz (a) 20 g de vidrio aproximadamente. Rechazar esta fracción, así como la que ha pasado a través del tamiz (c). Seguidamente, someter los

tamices a agitación manual o mecánica, durante 5 minutos.

Conservar para el ensayo la fracción de polvo de vidrio que ha pasado a través del tamiz (b) y que es retenida por el tamiz (c). Eliminar mediante un imán las partículas metálicas que pueda contener el polvo. A continuación, transferir aproximadamente 22 g del polvo de vidrio a un erlenmeyer y lavarlo con 60 ml de acetona, agitar y decantar el líquido sobrenadante. Repetir esta operación 5 veces. Extender el polvo sobre un cristalizador, dejar que la acetona se evapore, secar en estufa a 110 °C durante 20 minutos y dejar enfriar.

Transferir 20 g del polvo de vidrio a un erlenmeyer de 250 ml. Agregar 100 ml de agua y pesar. En un erlenmeyer similar al anterior, transferir 100 ml de agua, que se emplearán como blanco y pesar. Cubrir los envases con cristalizadores de vidrio neutro o con hojas de aluminio lavada con agua. Asegurar la distribución uniforme del polvo de vidrio sobre el fondo del erlenmeyer. Colocar los erlenmeyers en el autoclave y mantenerlos a 121 °C durante 30 minutos. Enfriar los erlenmeyers, destaparlos, secarlos cuidadosamente y llevarlos a sus pesos originales mediante el agregado de agua.

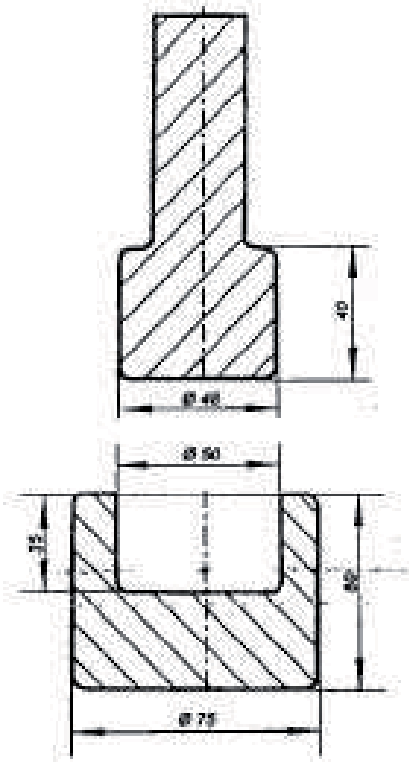


Figura 1. Mortero para pulverizar vidrio (las dimensiones son en mm).

Procedimiento - Transferir 50 ml del líquido sobrenadante transparente de la *Solución muestra*, equivalente a 10,0 g del polvo de vidrio, a un erlenmeyer de 250 ml. Agregar 50 ml de agua a un erlenmeyer idéntico, que será empleado como blanco. Agregar a cada erlenmeyer 0,1 ml de Solución indicadora de rojo de metilo y titular el blanco con ácido clorhídrico 0,01 N. Titular la

Solución muestra tomando como punto final el color obtenido en la titulación del blanco y hacer las correcciones necesarias. Expresar los resultados en función del tipo de vidrio, en ml de ácido clorhídrico 0,01 N por 10,0 g de vidrio: el valor obtenido no debe ser mayor que el indicado en la *Tabla 1*.

Tabla 1.

Tipo de vidrio	Cantidad máxima de ácido clorhídrico 0,01 N (ml)
I	2
II-III	17
IV	30

Resistencia hidrolítica de la superficie del vidrio

Procedimiento - La *Tabla 2* indica la cantidad de

envases a emplear según su capacidad y el volumen de solución empleado en la titulación.

Tabla 2.

Capacidad nominal (ml)	Nº de envases	Volumen de solución empleado para la titulación (ml)
≤ 3	no menor de 10	25
> 3 ≤ 30	no menor de 5	50
> 30	No menor de 3	100

Inmediatamente antes del ensayo, lavar por lo menos 3 veces cada envase con agua, a temperatura ambiente. Llenar los envases en su totalidad con agua, vaciarlos y calcular el volumen de derrame promedio.

Llenar las ampollas con agua hasta alcanzar el nivel del hombro y sellarlas. En el caso de los frascos, llenarlos al 90 % de su volumen de derrame y taparlos con vasos de precipitados de vidrio al borosilicato lavados con agua. Colocar los envases en el autoclave y calentar a 121 ± 1 °C durante 60 minutos, reducir el calor de modo que el autoclave se enfríe y la presión se normalice en un tiempo entre 38 y 46 minutos, evitando la formación de vacío.

En un tiempo no mayor de 1 hora después de haber sacado los envases del autoclave, combinar

los líquidos de los envases, mezclarlos y medir con una probeta el volumen especificado en la *Tabla 2* para cada caso, transfiriéndolo a un erlenmeyer. Agregar el mismo volumen de agua en un erlenmeyer idéntico, que será empleado como blanco. Agregar a cada erlenmeyer 0,05 ml de *Solución indicadora de rojo de metilo* cada 25 ml de líquido y titular el blanco con ácido clorhídrico 0,01 N. Titular la *Solución muestra* tomando como punto final el color obtenido en la titulación del blanco y hacer las correcciones necesarias. La diferencia entre ambas titulaciones representa el volumen de ácido clorhídrico 0,01 N requerido para el volumen empleado de la *Solución muestra*.

Calcular el volumen necesario para 100 ml y referir los resultados a los límites de la *Tabla 3*.

Tabla 3.

Capacidad del envase correspondiente al 90 % del volumen de derrame promedio (ml)	Cantidad máxima en ml de ácido clorhídrico 0,01 N por 100 ml de <i>Solución muestra</i>	
	Tipo I y II	Tipo III
≤ 1	2	20
> 1 y ≤ 2	1,8	17,6

Tabla 3. Continuación

Capacidad del envase correspondiente al 90 % del volumen de derrame promedio (ml)	Cantidad máxima en ml de ácido clorhídrico 0,01 N por 100 ml de <i>Solución muestra</i>	
	Tipo I y II	Tipo III
> 2 y ≤5	1,3	13,2
> 5 y ≤10	1	10,2
> 10 y ≤ 20	0,8	8,1
> 20 y ≤50	0,6	6,1
> 50 y ≤ 100	0,5	4,8
> 100 y ≤ 200	0,4	3,8
> 200 y ≤500	0,3	2,9
> 500	0,2	2,2

CONTENIDO DE ARSÉNICO PARA VIDRIOS DE TIPO I, II Y III

Determinar el contenido de arsénico (ver 540. *Límite de arsénico*) sobre una alícuota de 35 ml del líquido obtenido en *Solución muestra* en el ensayo de *Resistencia hidrolítica de la superficie del vidrio*: no debe contener más de 0,1 ppm.

TRANSMISIÓN DE LUZ

Solución muestra - Cortar el envase con una sierra circular de videa o similar. En el caso de los envases de vidrio soplado, elegir aquellas secciones que representan el espesor promedio de la pared y recortar al tamaño apropiado para ser colocadas en el espectrofotómetro. Lavar y secar evitando rayar

la superficie. Si la muestra es tan pequeña que no cubre la abertura del soporte de la celda, tapar la parte faltante con papel opaco o con tela adhesiva. Limpiar la muestra y colocarla con ayuda de alguna cera u otro medio apropiado. La muestra debe ser colocada de tal manera que el haz de luz sea perpendicular a la superficie de la misma.

Límites - Las lecturas de luz transmitida a través del vidrio tipo I, II y III no deben ser mayores que los valores indicados en la *Tabla 4*.

Las lecturas de luz transmitida a través del vidrio tipo IV no deben ser mayores del 10 % de transmitancia, independientemente del tamaño del envase, en cualquier longitud de onda entre 290 y 450 nm.

Tabla 4. Límites de luz transmitida para vidrio tipo I, II y III.

Tamaño nominal (ml)	Máxima transmisión de luz permitida (%) Entre 290 y 450 nm	
	Envases cerrados por fusión	Envases con tapa o tapón
1	50	25
2	45	20
5	40	15
10	35	13
20	30	12
≥ 50	15	10

[NOTA: cualquier envase de tamaño intermedio a los mencionados anteriormente debe tener una transmisión igual o menor que la del envase de tamaño inmediato superior en la *Tabla 4*.]

440. ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION Y EMISION ATOMICA

Estas técnicas se emplean para la determinación de la concentración de un elemento metálico en una muestra. La determinación se efectúa mediante la medida de la intensidad de absorción o emisión de luz, producida por el vapor atómico del elemento generado a partir de la muestra en solución, realizada a una longitud de onda específica para cada elemento.

Absorción atómica

Aparato - Consta de una fuente de radiación, un generador de átomos del elemento a analizar (llama, horno, generador de vapor, etc.) que permite introducir el analito en el paso óptico, un monocromador y un detector.

Generación de vapores atómicos -

Llama - Este sistema emplea un nebulizador para generar una niebla a partir de la solución del analito. Por evaporación del solvente cerca de la base de la llama, se obtienen pequeñas partículas sólidas, las que son fundidas y vaporizadas, disociándose sus moléculas constituyentes para producir átomos libres en estado basal.

El tipo de llama se debe seleccionar de acuerdo con la clase de elemento a analizar:

a) Para elementos fácilmente atomizables como cobre, plomo, potasio y sodio se debe emplear llama de aire-acetileno.

b) Para elementos que forman compuestos refractarios y que no se descomponen en la llama aire-acetileno como aluminio, silicio y tungsteno se debe emplear llama de óxido nitroso-acetileno.

c) Para determinar elementos tales como arsénico, calcio, cromo, magnesio, molibdeno, osmio, selenio o estroncio, pueden ser empleados indistintamente ambos tipos de llama.

Horno de grafito - En éste sistema, la solución del analito es atomizada de una sola vez en un tubo de grafito, donde se seca y luego se calcina por incremento de la temperatura permitiendo eliminar, tanto como sea posible, el material de la matriz sin pérdida del analito. La posterior vaporización de los residuos provenientes del período de calcinado genera átomos libres, los cuales permanecen en el paso óptico por un período de tiempo mayor que en el caso de la generación mediante llama.

Vapor frío - Este sistema es extremadamente sensible para determinar mercurio y ciertos elementos formadores de hidruros metálicos estables, tales como arsénico, selenio, antimonio, bismuto, telurio y estaño. Estos pueden ser

determinados reduciendo químicamente el elemento y luego arrastrando el producto con un gas inerte hasta la celda de absorción, donde se lo disocia por calentamiento, colocando los átomos así generados en el paso óptico.

Emisión atómica

Los átomos en el estado excitado generalmente son inestables y vuelven rápidamente al estado basal, perdiendo la energía adquirida en el proceso de absorción, dando lugar así a líneas de emisión a la misma longitud de onda a la cual ocurrió la absorción.

Aparato - Consta esencialmente de los mismos componentes que el aparato empleado para absorción atómica, excepto que no requiere una fuente de radiación. La excitación se efectúa empleando llamas de aire-acetileno y óxido nitroso-acetileno, como las indicadas en *Llama*.

La espectrofotometría de emisión atómica acoplada a plasma inductivo (ICP-AES) es una metodología relacionada, donde mediante temperaturas muy elevadas se logra la completa ionización de los elementos, minimizando las interferencias químicas.

Procedimiento general

Para operar el espectrofotómetro deben seguirse las instrucciones del fabricante y realizar el ensayo a la longitud de onda especificada en la monografía correspondiente. Emplear el *Método I* a menos que se especifique de algún modo en la monografía correspondiente.

El espectrofotómetro debe calibrarse según se indica a continuación:

Para las medidas de absorción - Introducir agua o la solución blanco especificada en la monografía correspondiente en el generador de vapor atómico y ajustar la lectura de forma que indique el 100 % de transmitancia. Introducir la solución estándar más concentrada en el generador y ajustar la sensibilidad para obtener una lectura apropiada.

Para las medidas de emisión - Introducir agua o la solución blanco especificada en la monografía correspondiente en el generador de vapor atómico y ajustar la lectura del aparato a cero. Introducir la solución estándar más concentrada en el generador y ajustar la sensibilidad para obtener una lectura apropiada.

Método I Calibración directa

Preparar no menos de tres soluciones estándar que contengan el elemento a determinar, abarcando el intervalo de concentración recomendado por el fabricante del aparato y para el elemento. Todo reactivo empleado en la preparación de la solución muestra se debe agregar a las soluciones estándar en la misma concentración. Luego de calibrar el aparato, introducir cada solución estándar en el generador por lo menos tres veces y registrar la lectura en cada caso cuando ésta sea constante. [NOTA: si el generador es una llama, lavar con agua o solución blanco luego de cada introducción; si se emplea un horno, quemar luego de cada introducción.] Realizar una curva de calibración, representando el promedio de cada grupo de tres lecturas en función de la concentración. Preparar una solución muestra según se especifica en la monografía correspondiente, ajustando la concentración para que la lectura obtenida esté comprendida dentro del intervalo de concentraciones de las soluciones estándar. Introducir la solución muestra en el generador y registrar la lectura. Repetir este procedimiento dos veces más y, empleando el promedio de las tres lecturas, determinar la concentración del elemento a partir de la curva de calibración.

Método II

Adición de estándar

Transferir volúmenes iguales de la solución muestra preparada según se especifica en la monografía correspondiente a tres matraces aforados. Agregar a dos de ellos una cantidad conocida de la solución estándar especificada para producir una serie de soluciones con cantidades crecientes del elemento a determinar. Diluir el contenido de cada matraz al volumen requerido con agua o el solvente especificado en la monografía correspondiente y homogeneizar. Las concentraciones de las muestras deben estar incluidas en la región donde la respuesta del aparato es directamente proporcional a la concentración.

Luego de calibrar el aparato como se indicó anteriormente, introducir cada solución en el generador no menos de tres veces y registrar la lectura cuando se estabilice. [NOTA: si el generador es una llama, lavar con agua o la solución blanco luego de cada introducción; si se emplea un horno, quemar luego de cada introducción, tomando la precaución de asegurar que la lectura vuelva al valor inicial del blanco luego de cada determinación.] Representar gráficamente los promedios de las lecturas obtenidas en función de la cantidad de elemento agregada, trazando la línea recta que mejor se ajuste a los puntos marcados.

Extrapolar la recta hasta su intersección con el eje de las abscisas; la distancia entre este punto y el punto de intersección de los ejes representa la concentración del elemento en la solución muestra.

450. ESPECTROFOTOMETRIA DE FLUORESCENCIA

La espectrofotometría de fluorescencia es una técnica empleada para determinar la concentración de una sustancia comparando la intensidad de luz fluorescente emitida por la misma con la emitida por la *Sustancia de referencia* correspondiente, en las mismas condiciones.

Aparato - Se pueden emplear dos tipos de aparatos, fluorómetro de filtro y espectrofluorómetro. El primero consta de los siguientes componentes:

— Una fuente de radiación, generalmente una lámpara de mercurio o tungsteno.

— Un filtro primario colocado entre la fuente de radiación y la celda, para seleccionar la longitud de onda de excitación.

— Una celda para contener la muestra.

— Un filtro secundario colocado entre la celda y el detector, que actúa como un filtro interruptor fino que permite transmitir la radiación fluorescente, bloqueando en cambio la radiación dispersa.

— Un detector de fluorescencia colocado de manera que forme un ángulo de 90 ° con respecto a la dirección del haz de luz incidente, con el objeto de minimizar la interferencia de la luz transmitida.

El espectrofluorómetro presenta los mismos componentes que el fluorómetro de filtro, sólo que los filtros se han reemplazado por sistemas monocromadores como prismas o redes de difracción, siendo frecuentemente empleada una lámpara de arco de xenón a alta presión como fuente de radiación.

Procedimiento - Ajustar la lectura del aparato a cero empleando el solvente o mezcla de solventes indicados para disolver la muestra, a la longitud de onda especificada en la monografía correspondiente. Transferir a la celda un volumen apropiado de una solución estándar preparada a partir de la *Sustancia de referencia* correspondiente y regular la sensibilidad del aparato de modo que la lectura sea mayor a 50. Si el segundo ajuste se realiza modificando la apertura de las rendijas, ajustar nuevamente a cero el aparato y medir nuevamente la intensidad de fluorescencia de la solución estándar. Disolver la muestra en el solvente o mezcla de solventes especificados en la monografía correspondiente. Transferir un volumen apropiado de esta solución a la celda y medir la intensidad de la luz emitida en las mismas condiciones. Calcular la concentración de la sustancia en la solución muestra, por la fórmula siguiente:

$$c_E I_M / I_E$$

en la cual C_E es la concentración de la solución estándar, I_M es la intensidad de luz emitida por la solución muestra e I_E es la intensidad de luz emitida por la solución estándar.

Realizar el ensayo dentro del intervalo de concentraciones en el cual la respuesta es lineal.

460. ESPECTROFOTOMETRIA INFRARROJA

INFRARROJO MEDIO

Aparato - Los espectrofotómetros para registrar espectros en la región infrarroja están constituidos por un sistema óptico capaz de proveer luz monocromática en la región de 4.000 a 600 cm^{-1} ($2,5$ a $15\text{ }\mu\text{m}$), o en algunos casos por debajo de 200 cm^{-1} ($50\text{ }\mu\text{m}$), y por elementos que permiten medir el cociente entre las intensidades de luz transmitida e incidente.

Calibración del aparato - Los aparatos empleados para registrar los espectros infrarrojos especificados en esta Farmacopea deben cumplir con los siguientes ensayos de calibración:

Resolución - Registrar el espectro de una película de poliestireno de $0,05\text{ mm}$ de espesor. La distancia entre el máximo de absorción a 2.851 cm^{-1} ($3,51\text{ }\mu\text{m}$) y el mínimo a 2.870 cm^{-1} ($3,48\text{ }\mu\text{m}$) debe ser equivalente a no menos de 18% de transmitancia y la distancia entre el máximo a 1.583 cm^{-1} ($6,32\text{ }\mu\text{m}$) y el mínimo a 1.589 cm^{-1} ($6,29\text{ }\mu\text{m}$) debe ser equivalente a no menos de 12% de transmitancia.

Verificación de la escala de longitud de onda - La escala de longitud de onda puede verificarse empleando una película de poliestireno que presente máximos de absorción a los siguientes números de onda (en cm^{-1}):

3.027,1 ($\pm 0,3$)	1.583,1 ($\pm 0,3$)
2.924,0 ($\pm 2,0$)	1.181,4 ($\pm 0,3$)
2.850,7 ($\pm 0,3$)	1.154,3 ($\pm 0,3$)
1.944,0 ($\pm 1,0$)	1.069, 1 ($\pm 0,3$)
1.871,0 ($\pm 0,3$)	1.028,0 ($\pm 0,3$)
1.801,6 ($\pm 0,3$)	906,7 ($\pm 0,3$)
1.601,4 ($\pm 0,3$)	698,9 ($\pm 0,5$)

[NOTA: los valores entre paréntesis indican las tolerancias permitidas.]

Preparación de la muestra - Las muestras se preparan de acuerdo con su naturaleza, de la siguiente manera:

En película fina - Colocar 1 ó 2 gotas entre dos placas de cloruro de sodio u otro material transparente a la radiación Infrarroja y presionar suavemente las placas para formar una fina película. También puede emplearse una celda del mismo material y de paso óptico apropiado.

En solución - Preparar una solución en el solvente y a la concentración especificada en la monografía correspondiente y transferir a una celda

de material transparente a la radiación infrarroja. La absorción debido al solvente puede compensarse colocando el solvente puro en la celda de referencia; sin embargo, aquellas regiones del espectro en las que el solvente presenta una fuerte absorción no deben tenerse en cuenta. La concentración apropiada del soluto varía según la sustancia, pero en general se emplean concentraciones entre 1 y 10% para un paso óptico de $0,5$ a $0,1\text{ mm}$.

En fase sólida - A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, triturar en un mortero aproximadamente 1 a 2 mg de la sustancia a analizar con 200 a 300 mg de bromuro de potasio o cloruro de potasio seco y finamente pulverizado. Estas cantidades son en general apropiadas para un disco de 13 mm de diámetro y un espectro de intensidad apropiada. Moler la mezcla con cuidado, esparcir uniformemente en un molde apropiado y comprimir a una presión de aproximadamente 10.000 kg/cm^2 , aplicando vacío. El disco obtenido se coloca en el espectrofotómetro con un soporte apropiado. Varios factores, tales como una molienda inadecuada, humedad e impurezas en el haluro pueden dar origen a discos no aptos para el análisis. El disco debe desecharse si no es uniforme cuando se lo examina visualmente o si la transmitancia a 2.000 cm^{-1} en ausencia de una banda de absorción específica, es menor de 75% sin emplear compensación en el haz de referencia.

En suspensión - Triturar 5 a 10 mg de la sustancia a analizar con 2 gotas de vaselina líquida apropiada hasta obtener una mezcla cremosa homogénea. Colocar una porción de la mezcla así obtenida entre dos placas de cloruro de sodio u otro material transparente a la radiación infrarroja y presionar suavemente las placas para formar una película fina.

Gases - Emplear una celda para gases con un paso óptico de aproximadamente 100 mm . Evacuarla y llenarla a la presión deseada mediante un robinete o válvula de aguja empleando una línea de transferencia apropiada para gases entre la celda y el recipiente de la sustancia a analizar. Si fuera necesario, ajustar la presión con un gas transparente a la radiación infrarroja, como por ej. nitrógeno o argón. Para evitar interferencias de absorción debido al vapor de agua, dióxido de carbono u otros gases atmosféricos, colocar en el haz de referencia una celda idéntica evacuada o llenada con un gas transparente a la radiación infrarroja.

Reflectancia múltiple - Cuando se especifica este método en una monografía, preparar la muestra por uno de los siguientes métodos:

Soluciones - Disolver la muestra en el solvente apropiado bajo las condiciones especificadas en la monografía correspondiente. Evaporar la solución sobre una placa de bromuro de talio-ioduro de talio o sobre otra placa apropiada.

Sólidos - Colocar la muestra sobre una placa de bromuro de talio-ioduro de talio o sobre otra placa apropiada, de manera de lograr un contacto uniforme.

Identificación por medio de espectros de referencia - Preparar la muestra en condiciones similares a las indicadas para la obtención del espectro de referencia y registrar el espectro de la sustancia a analizar. Sobre éste, registrar las bandas de poliestireno a 2.851 cm^{-1} ($3,51\text{ }\mu\text{m}$), 1.601 cm^{-1} ($6,25\text{ }\mu\text{m}$) y 1.028 cm^{-1} ($9,73\text{ }\mu\text{m}$). Comparar los espectros y los máximos del poliestireno indicados en *Verificación de la escala de longitud de onda*. Las zonas correspondientes a la impresión digital (entre 1.400 a 600 cm^{-1}) de ambas sustancias deben ser en un todo concordantes.

Identificación por medio de sustancias de referencia - Preparar la muestra según se especifica en la monografía correspondiente teniendo en cuenta la metodología indicada en *Preparación de la muestra*. Tratar la *Sustancia de referencia* de la misma manera. Registrar los espectros entre 4.000 y 600 cm^{-1} ($2,5$ a $15\text{ }\mu\text{m}$) bajo las mismas condiciones. Los máximos de absorción, correspondientes a la zona de impresión digital (entre 1.400 a 600 cm^{-1}), en el espectro obtenido con la muestra deben corresponder en posición e intensidad relativa a los del obtenido con la *Sustancia de referencia*.

470. ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA Y VISIBLE

La espectrofotometría en el ultravioleta y visible consiste en la medida de la absorción de las radiaciones electromagnéticas comprendidas en un intervalo espectral de 200 a 400 nm para la región ultravioleta y de 400 a 700 nm para la región visible.

El grado en que la radiación es absorbida al pasar a través de un medio homogéneo se expresa en términos de absorbancia, A . La absorbancia de una solución es el logaritmo decimal de la inversa de la transmitancia, T , siendo esta última definida: como la fracción de radiación incidente que logra atravesar la muestra. Para una radiación monocromática, A se calcula mediante la siguiente expresión:

$$A = \log(1/T) = \log(I_0/I)$$

donde I_0 es la intensidad de radiación incidente e I es la intensidad de radiación transmitida.

De acuerdo con la ley de Lambert-Beer, la absorbancia es proporcional al paso óptico, d , de la capa absorbente atravesada por la radiación y a la concentración, c , del analito:

$$A = kdc$$

La constante de proporcionalidad, k , asume distintas denominaciones según las unidades en que d y c son expresadas:

Absortividad (a): es la absorbancia de una solución cuya concentración, c , es de 1 g por litro, medida en una celda de paso óptico, d , de 1 cm.

$$a = A/cd$$

Coefficiente de extinción específica [E(1 %, 1 cm)]: es la absorbancia de una solución cuya concentración, c , es de 1 %, medida en una celda de paso óptico, d , de 1 cm,

$$E(1\%, 1cm) = A/cd = 10a$$

Absortividad molar (ϵ): es la absorbancia de una solución cuya concentración es 1 mol por litro, medida en una celda de paso óptico, d , de 1 cm. Puede calcularse como el producto de la absortividad por el peso molecular, PM , del analito.

$$\epsilon = aPM$$

Los valores de a , $E(1\%, 1\text{ cm})$ y ϵ , a una longitud de onda específica y en un solvente determinado son característicos del analito.

Aparato - Consta de un sistema óptico capaz de producir luz monocromática en la región de 200 a 800 nm, un dispositivo para seleccionar una banda angosta de longitudes de onda, una celda para contener la muestra y un detector apropiado para determinar la absorbancia.

Cuando se emplean aparatos de doble haz, la celda que contiene el blanco se coloca en el haz de referencia. Las celdas empleadas para la solución muestra y el blanco deben tener las mismas características espectrales.

Calibración del aparato - Los aparatos empleados para registrar los espectros ultravioleta y visible indicados en esta Farmacopea deben cumplir con los siguientes ensayos:

Verificación de la escala de longitud de onda - La escala de longitud de onda puede verificarse midiendo los máximos de absorbancia de una solución estándar de perclorato de holmio a 241,15; 287,15; 361,50 y 536,30 nm, los máximos de absorbancia correspondientes a las líneas de emisión de una lámpara de hidrógeno a 486,10 nm o deuterio a 486,00 nm, o las líneas de un arco de vapor de mercurio a 253,70; 302,25; 313,16; 334,15; 365,48; 404,66; 435,83; 546,07; 576,96 y 579,07 nm. La tolerancia permitida es de ± 1 nm para el ultravioleta y ± 3 nm para el visible.

Control de absorbancias - Controlar la absorbancia con una solución de dicromato de potasio preparada según se indica a continuación:

Solución de dicromato de potasio - Transferir a un matraz aforado de 1 litro aproximadamente 60 mg de dicromato de potasio, exactamente pesados y previamente secados a 130 °C hasta peso constante. Disolver y diluir a volumen con ácido sulfúrico 0,005 M.

Registrar el espectro de la *Solución de dicromato de potasio* y determinar las absorbancias a las longitudes de onda especificadas en la *Tabla*. Los valores de $E(1\%, 1\text{ cm})$ deben estar dentro de las tolerancia especificadas.

Tabla.

Longitud de onda (nm)	$E(1\%, 1\text{ cm})$	Tolerancia máxima
235	124,5	122,9 a 126,2
257	144,0	142,4 a 145,7
313	48,6	47,0 a 50,3

Límite de luz espuria - La absorbancia de una solución de cloruro de potasio al 1,2 %, medida a 200 nm con un paso óptico de 1 cm, empleando agua como blanco, debe ser mayor de 2.

Resolución (para análisis cualitativo) - Registrar el espectro de una solución de tolueno al 0,02 % en hexano. La relación entre el máximo de absorbancia a 269 nm, y el mínimo a 266 nm no debe ser menor de 1,5.

Asimismo, deberán tenerse las siguientes precauciones:

Ancho de rendija (para análisis cuantitativo) - Cuando se mide la absorbancia a un máximo de absorción y cuando se emplea un aparato con ancho de rendija variable a la longitud de onda seleccionada, el ancho de rendija debe ser pequeño comparado con la mitad del ancho de la banda de absorción. Sin embargo, debe ser lo más grande posible para obtener un valor alto de I_o y debe ser tal que una reducción adicional no resulte en un aumento de la lectura de absorbancia.

Celdas - Las absorbancias de las celdas de lectura, cuando se llenan con el mismo solvente, deben ser iguales. Si este no es el caso, debe aplicarse una corrección apropiada.

La tolerancia en el paso óptico de las celdas empleadas es $\pm 0,005$ cm. Las celdas deben limpiarse y manipularse con cuidado.

Solventes - Cuando se mide la absorbancia de una solución a una longitud de onda determinada, la absorbancia de la celda de referencia y su contenido no debe ser mayor de 0,4 y es conveniente que sea menor de 0,2 cuando se mide en referencia al aire a la misma longitud de onda. El solvente en la celda de referencia debe ser del mismo lote que el empleado para preparar la solución muestra.

Determinación de la absorbancia - A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, medir la absorbancia a la longitud de onda especificada empleando celdas de 1 cm de paso óptico y efectuar las medidas con referencia al solvente o solventes empleados para preparar la solución muestra. En caso de que las medidas se

deban efectuar con referencia a una mezcla de reactivos, los detalles se describen en las monografías correspondientes.

Cuando en una monografía se especifica la longitud de onda a la cual se presenta un máximo de absorción, implica que dicho máximo presenta una tolerancia de ± 2 nm.

Cuando un ensayo indica el empleo de una *Sustancia de referencia*, se deben realizar las medidas espectrofotométricas con la solución preparada a partir de la *Sustancia de referencia* y luego con la solución correspondiente preparada a partir de la muestra. Efectuar las medidas en sucesión inmediata, empleando la misma celda y las mismas condiciones experimentales.

Identificación por medio de Sustancias de referencia - Cuando en una monografía se especifica un ensayo de identificación por espectrofotometría ultravioleta, la solución muestra y la solución estándar deben medirse en celdas de 1 cm de paso óptico, en el intervalo espectral comprendido entre 200 y 400 nm, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente.

Disolver una porción de la muestra en el *Solvente* especificado para obtener una solución con una concentración conocida aproximadamente igual a la especificada en *Concentración* en la monografía correspondiente. En forma similar, preparar una *Solución estándar* que contenga la *Sustancia de referencia* correspondiente.

Registrar en sucesión inmediata los espectros de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. Calcular los coeficientes de extinción específica y/o la relación de absorbancias según se especifica en la monografía correspondiente. Los requisitos se cumplen si los espectros de absorción ultravioleta de la *Solución muestra* y la *Solución estándar* presentan máximos y mínimos a las mismas longitudes de onda, y los coeficientes de extinción específica y/o la relación de absorbancias están dentro de los límites especificados en dicha monografía

480. GRASAS Y ACEITES FIJOS

Definiciones generales -

Indice de acidez - Es la cantidad, en mg, de hidróxido de potasio necesaria para neutralizar los ácidos libres presentes en 1,0 g de muestra.

Indice de esterificación - Es la cantidad, en mg, de hidróxido de potasio necesaria para saponificar los ésteres presentes en 1,0 g de muestra.

Indice de hidroxilo - Es la cantidad, en mg, de hidróxido de potasio equivalente al contenido de hidroxilo de 1,0 g de muestra.

Indice de yodo - Es la cantidad, en g, de yodo capaz de ser fijado, bajo las condiciones indicadas, por 100 g de muestra.

Indice de saponificación - Es la cantidad, en mg, de hidróxido de potasio necesaria para neutralizar los ácidos libres y saponificar los ésteres presentes en 1,0 g de muestra.

Preparación muestra -

Si la muestra se presenta turbia debido a la presencia de estearina, calentar el envase en un baño de agua a 50 °C hasta que quede límpida; si el aceite no se clarifica por calentamiento, filtrarlo a través de un papel de filtro seco en un embudo que se pueda mantener caliente. Mezclar y pesar, de una vez, tantas porciones como se necesiten para las distintas determinaciones. Mantener la muestra fundida hasta que se hayan tomado las porciones necesarias.

Densidad relativa -

Determinar la densidad relativa de una grasa o aceite según se indica en <160>. *Determinación de la densidad relativa.*

Temperatura de fusión

Determinar la temperatura de fusión según se indica para el *Método II* en <260>. *Determinación del punto de fusión.*

Temperatura de solidificación de ácidos grasos

Aislamiento de los ácidos grasos - Calentar en un vaso de precipitados de 800 ml a 150 °C, 75 ml de solución de hidróxido de potasio-glicerina, preparada disolviendo 25 g de hidróxido de potasio en 100 ml de glicerina, y agregar 50 ml de la grasa clarificada. Calentar la mezcla durante 15 minutos con agitación frecuente, evitando que la temperatura sobrepase los 150 °C. La saponificación se considera completa cuando la mezcla se presenta homogénea, sin partículas adheridas al vaso en el menisco. Verter el contenido del vaso de precipitados en 500 ml de

agua próxima a hervir en un segundo vaso de precipitados o en una cápsula de 800 ml. Agregar lentamente 50 ml de ácido sulfúrico diluido, preparado mezclando 3 partes de agua con 1 parte de ácido sulfúrico, y calentar la solución, con agitación frecuente, hasta que los ácidos grasos se separen como una capa transparente. Lavarlos con agua hirviendo hasta que estén exentos de ácido sulfúrico y recolectarlos en un vaso de precipitados. Calentar en un baño de vapor hasta que el agua se separe y los ácidos grasos formen una capa clara; filtrar en un vaso de precipitados seco mientras se calienta y secar a 105 °C durante 20 minutos. Transferir los ácidos grasos aún calientes a un recipiente apropiado y enfriar en un baño de hielo hasta que se produzca la solidificación.

Ensayo de saponificación completa - Transferir 3 ml de los ácidos grasos aislados a un erlenmeyer y agregar 15 ml de alcohol. Calentar la solución a ebullición y agregar un volumen igual de hidróxido de amonio 6 N. La solución deberá permanecer límpida.

Procedimiento - Proceder según se indica para el *Procedimiento* en <180>. *Determinación de la temperatura de solidificación.* El promedio de no menos de cuatro lecturas consecutivas de la mayor temperatura observada, es la temperatura de solidificación de los ácidos grasos.

Determinación del índice de acidez (ácidos grasos libres)

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, disolver aproximadamente 10,0 g de muestra, exactamente pesados y previamente neutralizados frente a la fenolftaleína con hidróxido de sodio 0,1 N, en 50 ml de una mezcla de volúmenes iguales de alcohol y éter, contenida en un erlenmeyer. Si la muestra no se disuelve en el solvente frío, adaptar al erlenmeyer un condensador apropiado y calentar suavemente, agitando hasta disolución. Agregar 1 ml de fenolftaleína (SR). Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) hasta coloración rosada persistente durante 30 segundos. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Calcular el *Índice de acidez* o el volumen de álcali 0,1 N requerido para neutralizar 10,0 g de muestra (ácidos grasos libres), según corresponda.

Si el volumen de hidróxido de sodio 0,1 N (SV) requerido para la titulación es menor de 2 ml, puede emplearse un titulante más diluido o ajustarse convenientemente el tamaño de la muestra. Los resultados pueden expresarse en función del

volumen de titulante empleado o en función del volumen equivalente de hidróxido de sodio 0,1 N.

Si el aceite ha sido saturado con dióxido de carbono para su conservación, calentar a reflujo suavemente la solución de alcohol-éter durante 10 minutos antes de la titulación. El dióxido de carbono presente en el aceite puede eliminarse también colocándolo en un cristizador dentro de un desecador al vacío durante 24 horas antes de pesar la muestra.

Determinación del índice de saponificación

Transferir 1,5 a 2 g de muestra, exactamente pesados, a un erlenmeyer de 250 ml, previamente pesado, y agregar 25,0 ml de hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N (SV). Calentar en un baño de vapor, con un refrigerante apropiado para mantener el reflujo durante 30 minutos, agitando por rotación frecuentemente. Agregar 1 ml de fenoltaleína (SR) y titular el hidróxido de potasio en exceso con ácido clorhídrico 0,5 N (SV). Realizar una determinación con un blanco (ver *Titulaciones residuales en 780. Volumetría*). La diferencia entre los volúmenes, en ml, de ácido clorhídrico 0,5 N consumido por la muestra y el blanco, multiplicado por 28,05 y dividido por el peso, en g, de la muestra, es el *Índice de saponificación*.

Si el aceite ha sido saturado con dióxido de carbono para su conservación, colocarlo en un cristizador dentro de un desecador al vacío durante 24 horas antes de pesar la muestra para el ensayo.

Determinación del índice de esterificación

[NOTA: si se han determinado el *Índice de saponificación* y el *Índice de acidez*, por diferencia entre estos se obtiene el *Índice de esterificación*.]

Transferir entre 1,5 y 2 g de muestra, exactamente pesados, a un erlenmeyer de 250 ml, previamente pesado. Agregar entre 20 y 30 ml de alcohol neutralizado, agitar y agregar 1 ml de fenoltaleína (SR). Titular con hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N (SV) hasta neutralizar totalmente los ácidos grasos, libres. Agregar 25,0 ml de hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N (SV) y proceder según se indica en *Índice de saponificación*, comenzando donde dice "Calentar en un baño de vapor..." pero omitiendo el agregado adicional de fenoltaleína (SR). Realizar una determinación con un blanco. La diferencia entre los volúmenes, en ml, de ácido clorhídrico 0,5 N consumido por la muestra y el blanco, multiplicado

por 28,05 y dividido por el peso, en g, de la muestra tomada, es el Índice de esterificación.

Determinación del índice de hidroxilo

Reactivo piridina-anhídrido acético - Antes de comenzar el ensayo, mezclar 3 volúmenes de piridina recientemente destilada con 1 volumen de anhídrido acético recientemente destilado.

Procedimiento - Transferir una cantidad de muestra (determinada según la *Tabla 1*), exactamente pesada, a un erlenmeyer de 250 ml con tapón de vidrio y agregar 5,0 ml de *Reactivo piridina-anhídrido acético*. Transferir 5,0 ml de *Reactivo piridina-anhídrido acético* a un segundo erlenmeyer de 250 ml con tapón de vidrio, que será empleado como blanco. Acoplar a ambos erlenmeyers refrigerantes apropiados con juntas esmeriladas. Calentar en un baño de vapor durante 1 hora, agregar 10 ml de agua a través de cada refrigerante y calentar en el baño de vapor durante 10 minutos adicionales. Enfriar y agregar, a cada erlenmeyer, 25 ml de alcohol butílico previamente neutralizado frente a fenoltaleína (SR) con hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N; vertiendo los primeros 15 ml a través de cada refrigerante y, luego de retirar los refrigerantes, lavar las paredes de ambos erlenmeyers con la porción restante de 10 ml. A cada erlenmeyer agregar 1 ml de fenoltaleína (SR) y titular con hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N (SV). Registrar el volumen consumido por el ácido residual en la solución muestra como T y el consumido por el blanco como B. Transferir aproximadamente 10 g de muestra, exactamente pesados, a un erlenmeyer de 125 ml y mezclar con 10 ml de piridina recientemente destilada, neutralizada previamente frente a fenoltaleína (SR). Agregar 1 ml de fenoltaleína (SR) y titular con hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N (SV). Registrar el volumen constituido por los ácidos grasos libres presentes en la muestra como A, o emplear el *Índice de acidez* para obtener A. Calcular el *Índice de hidroxilo* por la fórmula siguiente:

$$(56,11N/P)[B + (PA/C) - T]$$

en la cual P y C son los pesos de la muestra, en g, tomados para la acetilación y para la determinación de ácidos libres, respectivamente, N es la normalidad exacta del hidróxido de potasio alcohólico, 56,11 es el peso molecular del hidróxido de potasio y los otros términos son los definidos anteriormente.

Tabla 1.

Intervalo de índice de hidroxilo	Peso de muestra (g)
0 a 20	10
20 a 50	5
50 a 100	3
100 a 150	2
150 a 200	1,5
200 a 250	1,25
250 a 300	1
300 a 350	0,75

Determinación del índice de iodo

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, determinar el *Índice de iodo* por el *Método I*.

Método I

Procedimiento - Transferir aproximadamente 800 mg de grasa sólida o 200 mg de aceite, exactamente pesados, a un matraz para iodo de 250 ml. Disolver en 10 ml de cloroformo, agregar 25,0 ml de bromuro de iodo (SR), tapar perfectamente y dejar en reposo durante 30 minutos al abrigo de la luz, agitando ocasionalmente. Agregar 30 ml de ioduro de potasio (SR) y 100 ml de agua, en ese orden. Titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agitando vigorosamente después de cada agregado de tiosulfato. Cuando el color del iodo se toma muy pálido, agregar 3 ml de almidón (SR) y continuar la titulación con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV) hasta que el color azul desaparezca. Realizar una determinación con un blanco (Ver *Titulaciones residuales* en 780. *Volumetría*). La diferencia entre los volúmenes, en ml, de tiosulfato de sodio 0,1 N (SV) consumido por la muestra y el blanco, multiplicado por 1,269 y dividido por el peso, en g, de la muestra, es el *Índice de iodo*.

[NOTA: si más de la mitad del bromuro de yodo (SR) es absorbido por la porción de muestra tomada, repetir la determinación, empleando una muestra de menor tamaño.]

Método II

Solución de ioduro de potasio - Disolver 10,0 g de ioduro de potasio en agua para obtener 100 ml. Almacenar en envases inactivos.

Solución indicadora de almidón - Mezclar 1 g de almidón soluble con cantidad suficiente de agua fría para hacer una pasta fina. Agregar esta pasta, con agitación, a 100 ml de agua hirviendo, mezclar y enfriar. Emplear solamente la solución clara.

Procedimiento - Fundir la muestra, si es sólida. [NOTA: la temperatura no debe ser mayor que el punto de fusión de la muestra en más de 10 °C.] Filtrar a través de dos piezas de papel de filtro para eliminar las impurezas sólidas y las trazas de humedad. La filtración puede realizarse en una estufa a 100 °C pero debe completarse en no más de 5 minutos \pm 30 segundos. La muestra debe estar totalmente seca. Todos los materiales de vidrio deben estar limpios y completamente secos. Luego de la filtración, dejar que la muestra filtrada alcance una temperatura entre 68 y 71 \pm 1 °C, antes de pesarla. Una vez que la muestra ha alcanzado la temperatura indicada, pesar de inmediato en un matraz para iodo de 500 ml. Emplear los pesos y exactitud de pesaje indicados en la *Tabla 2*. [NOTA: el peso de la muestra debe ser tal que el exceso de cloruro de iodo (SR) sea entre 50 y 60 % de la cantidad agregada, o sea, entre 100 y 150 o de la cantidad absorbida.] Agregar 15 ml de una mezcla de ciclohexano y ácido acético (1:1) y agitar hasta disolución. Agregar 25,0 ml de cloruro de yodo (SR), tapar perfectamente el matraz y mezclar. Dejar reposar, al abrigo de la luz, a 25 \pm 5 °C, con agitación ocasional, durante 1 hora para un índice de iodo menor a 150 o durante 2 horas para un índice de iodo mayor o igual a 150. Dentro de los 3 minutos después del tiempo de reacción indicado, agregar, 20 ml de *Solución de ioduro de potasio* y 150 ml de agua recientemente hervida y enfriada en ese orden y mezclar. Dentro de los siguientes 30 minutos, titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agitando mecánicamente después de cada agregado de tiosulfato. Cuando el color amarillo del iodo casi haya desaparecido, agregar 1 a 2 ml de *Solución indicadora de almidón* y continuar la titulación con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV) hasta que el color azul desaparezca. Realizar una determinación con un blanco (ver *Titulaciones residuales* en 780. *Volumetría*). La diferencia entre los volúmenes de tiosulfato de

sodio 0,1 N consumidos por el blanco y la muestra, multiplicada por 1,269 y dividido por el peso, en g,

de la muestra, es el *Índice de iodo*.

Tabla 2.

Índice de iodo esperado	Peso de muestra (g ± 0,001)
< 5	3
5-20	1
21-50	0,4
51-100	0,2
101-150	0,13
151-200	0,1

Materia insaponificable

Materia insaponificable - En aceites o grasas se refiere a aquellas sustancias que no son saponificables por hidróxidos alcalinos pero son solubles en los solventes grasos comunes y a productos de saponificación que son solubles en dichos solventes.

Procedimiento - Transferir aproximadamente 5,0 g, exactamente pesados, del aceite o grasa, a un erlenmeyer de 250 ml. Agregar 50 ml de una solución de hidróxido de potasio alcohólico, preparada disolviendo 12 g de hidróxido de potasio en 10 ml de agua y diluyendo con alcohol a 100 ml. Calentar el erlenmeyer en un baño de vapor con un refrigerante apropiado para mantener el reflujo durante 1 hora, agitando por rotación frecuentemente. Enfriar a una temperatura por debajo de 25 °C, transferir el contenido del erlenmeyer a una ampolla de decantación con un robinete de politetrafluoretileno y lavar el erlenmeyer con dos porciones de 50 ml de agua que se agregan a la ampolla de decantación. [NOTA: no emplear grasa en el robinete.] Extraer con tres porciones de 100 ml de éter, combinando los extractos etéreos en otra ampolla de decantación que contenga 40 ml de agua. Agitar suavemente la ampolla de decantación durante algunos minutos. [NOTA: una agitación violenta puede provocar la formación de una emulsión difícil de separar.] Dejar que la mezcla se separe y descartar la fase acuosa inferior. Lavar el extracto etéreo con dos porciones de 40 ml de agua adicionales y descartar la fase acuosa inferior. Lavar el extracto etéreo sucesivamente con una porción de 40 ml de una solución de hidróxido de potasio (3 en 100) y una porción de 40 ml de agua. Repetir tres veces la secuencia de lavado con solución de hidróxido de potasio y agua. Lavar el extracto etéreo con porciones de 40 ml de agua hasta que el último

lavado no se colorea por el agregado de 2 gotas de fenolftaleína (SR). Transferir el extracto etéreo a un erlenmeyer previamente pesado y lavar la ampolla de decantación con 10 ml de éter, agregando los lavados al erlenmeyer. Evaporar el éter en un baño de vapor y agregar al residuo 6 ml de acetona. Eliminar la acetona bajo una corriente de aire y secar el residuo a 105 °C hasta peso constante. Calcular el porcentaje de materia insaponificable en la porción de aceite o grasa tomada, por la fórmula siguiente:

$$100(P_R / P_M)$$

en la cual P_R es el peso, en g, del residuo y P_M es el peso, en g, del aceite o grasa tomado para el ensayo.

Disolver el residuo en 20 ml de alcohol, previamente neutralizado hasta punto final frente a fenolftaleína. Agregar fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio alcohólico 0,1 N (SV) hasta la aparición de un débil color rosado que persista por no menos de 30 segundos. Si el volumen de hidróxido de sodio alcohólico 0,1 N es mayor de 0,2 ml, la separación de las fases ha sido incompleta y, por lo tanto, el residuo pesado no puede considerarse como materia insaponificable. En tales casos se debe repetir el ensayo.

Composición de ácidos grasos

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama, un sistema de inyección sin división (splitless) y una columna capilar de sílice fundida de 30 m × 0,53 mm rellena con una fase estacionaria constituida por polietilenglicol (PM aproximadamente 15.000), de 1,0 μm de espesor. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 220 y 260 °C, respectivamente. Mantener la columna a 70 °C durante aproximadamente 2 minutos después de la inyección; aumentar, a razón de 5 °C por minuto,

hasta 240 °C y mantener a esta temperatura durante 5 minutos. Se emplea helio como gas transportador con una velocidad lineal de aproximadamente 50 cm por segundo.

Solución estándar - Preparar una mezcla de ésteres de composición conocida que contenga los ésteres que se especifiquen en la monografía correspondiente. Esta solución puede contener otros componentes. [NOTA: en el comercio existen mezclas de ésteres que pueden emplearse para este propósito.]

Solución muestra - Transferir aproximadamente 100 mg de muestra, exactamente pesados, a un erlenmeyer de 50 ml. [NOTA: si la muestra contiene ácidos grasos con más de dos dobles enlaces, purgar el erlenmeyer con nitrógeno.] Adosar un refrigerante y una barra de agitación magnética, agregar 4 ml de solución de hidróxido de sodio 0,5 N en metanol y calentar a reflujo entre 5 y 10 minutos, hasta que desaparezcan los glóbulos de aceite. Agregar 5 ml de una solución preparada disolviendo 14 g de trifluoruro de boro en 100 ml de metanol. Agitar por rotación para mezclar y calentar a reflujo durante 2 minutos. Agregar 4 ml de *n*-heptano a través del refrigerante y calentar a reflujo durante 1 minuto. Enfriar, retirar el refrigerante, agregar aproximadamente 15 ml de solución saturada de cloruro de sodio, agitar y dejar que las fases se separen. Filtrar la fase de *n*-heptano a través de 0,1 g de sulfato de sodio anhidro (previamente lavado con *n*-heptano). Transferir 1,0 ml del filtrado a un matraz aforado de 10 ml, diluir a volumen con *n*-heptano y mezclar.

Solución de aptitud del sistema - Transferir aproximadamente 20 mg de ácido esteárico, 20 mg de ácido palmítico y 20 mg de ácido oleico, exactamente pesados, a un erlenmeyer de 25 ml adaptado a un refrigerante y con una barra de agitación magnética. Proceder según se indica para la *Solución muestra*, comenzando donde dice "Agregar 5 ml de una solución preparada disolviendo...".

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución, *R*, entre los picos de estearato de metilo y oleato de metilo no es menor de 1,5; los tiempos de retención relativos son aproximadamente 0,87 para palmitato de metilo, 0,99 para estearato de metilo y 1,0 para el oleato de metilo; la desviación estándar relativa de las respuestas de los picos de palmitato de metilo y estearato de metilo para inyecciones repetidas no es mayor de 6,0 % y la desviación estándar relativa del cociente entre las

respuestas de los picos del palmitato y el estearato para inyecciones repetidas no es mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 1 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos de los ésteres de los ácidos grasos. Comparar los tiempos de retención de los picos de los ésteres de los ácidos grasos en el cromatograma de la *Solución muestra* con los obtenidos en el cromatograma de la *Solución estándar*. Calcular el porcentaje de cada ácido graso presente en la muestra, por la fórmula siguiente:

$$100(A/B)$$

en la cual *A* es la respuesta del pico obtenido para cada éster de ácido graso individual y *B* es la suma de las respuestas de todos los picos, excluyendo el pico del solvente, en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*.

Agua y sedimento en aceites fijos

Aparato - Emplear una centrífuga con un diámetro de giro (*d* = distancia entre los extremos de los tubos cuando están girando) de 38 a 43 cm y emplearla a una velocidad de aproximadamente 1500 rpm. Si se emplea una centrífuga de diferentes dimensiones, calcular la velocidad requerida, por la fórmula siguiente:

$$V \text{ (rpm)} = 1.500 \sqrt{40,6/d}$$

Emplear tubos de centrífuga cónicos graduados y con tapones. La capacidad total de cada tubo debe ser de aproximadamente 125 ml. Las graduaciones deben ser claras y diferenciadas, empezando desde el fondo del tubo hacia arriba según la escala que se indica en la *Tabla 3*.

Procedimiento - Transferir 50,0 ml de benceno a dos tubos de centrífuga y, a cada tubo, agregar una porción de 50,0 ml del aceite previamente calentado a 25 °C y agitado, si fuera necesario, para incorporar nuevamente la estearina separada. Tapar perfectamente los tubos, agitarlos vigorosamente hasta que el contenido se mezcle completamente y luego sumergirlos en un baño de agua a 50 °C durante 10 minutos. Centrifugar durante 10 minutos. Leer el volumen combinado de agua y sedimento en el fondo de cada tubo. Centrifugar nuevamente durante periodos de 10 minutos hasta que el volumen combinado de agua y sedimento permanezca constante en tres lecturas sucesivas. La suma de los volúmenes de agua y sedimento combinado en los dos tubos representa el

porcentaje, en volumen, de agua y sedimento en el aceite.

Tabla 3.

Volumen (ml)	División de la escala (ml)
0 a 3	0,1
3 a 5	0,5
5 a 10	1
10 a 25	5
25 a 50	25
50 a 100	50

490. IDENTIFICACIÓN DE BASES ORGÁNICAS NITROGENADAS

El siguiente ensayo se emplea para identificar sustancias que posean grupos amino terciarios.

Solución muestra - Para realizar el ensayo sobre materia prima, disolver 50 mg de la sustancia en ensayo en 25 ml de ácido clorhídrico 0,01 N. Para realizar el ensayo sobre comprimidos, reducirlos a polvo fino y disolver con agitación una cantidad, equivalente a 50 mg de la sustancia en ensayo, con 25 ml de ácido clorhídrico 0,01 N. Si el producto se presenta en cápsulas, proceder del mismo modo con una cantidad de polvo extraída de las mismas. Transferir la solución obtenida a una ampolla de decantación, filtrar y lavar con agua el residuo y el filtro, si fuera necesario.

Solución estándar - Transferir 50 mg de la *Sustancia de referencia* correspondiente a una

ampolla de decantación y disolver en 25 ml de ácido clorhídrico 0,01 N.

Procedimiento - Para cada solución, proceder de la siguiente manera: agregar 2 ml de hidróxido de sodio 1 N y 4 ml de disulfuro de carbono. Agitar durante 2 minutos y, si fuera necesario, centrifugar la solución para clarificar la fase inferior. Filtrar a través de un filtro seco, recolectando el filtrado en un matraz apropiado con tapón de vidrio.

Determinar el espectro de absorción infrarroja de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, en celdas de 1 mm, a una longitud de onda entre 7 y 15 μm , con un espectrofotómetro apropiado, empleando disulfuro de carbono como blanco. El espectro de absorción infrarroja de la *Solución muestra* debe presentar las mismas bandas de absorción que el de la *Solución estándar*

500. IDENTIFICACION DE TETRACICLINAS

El siguiente ensayo se emplea para identificar sustancias pertenecientes al grupo de las tetraciclinas. A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, emplear el *Método I*.

Solución estándar - A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, disolver y diluir la *Sustancia de referencia* correspondiente a la sustancia a identificar con el mismo solvente especificado para la *Solución muestra*, para obtener una solución con una concentración similar a la obtenida para la *Solución muestra*.

Solución muestra - Proceder según se especifica en la monografía correspondiente.

Método I

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver *100. Cromatografía*) recubierta con gel de sílice octilsilanizado con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor. Activar la placa por calentamiento a 130 °C durante 20 minutos, dejar enfriar y emplearla mientras esté tibia.

Fase móvil - Ácido oxálico 0,5 M, previamente ajustado a pH 2,0 con hidróxido de amonio, acetonitrilo y metanol (80:20:20).

Solución de resolución - A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, preparar una solución en metanol que contenga 0,5 mg de Clorhidrato de Clortetraciclina SR-FA, Hiclato de Doxiciclina SR-FA, Oxitetraciclina SR-FA y Clorhidrato de Tetraciclina SR-FA por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 1 µl de la *Solución estándar*, *Solución muestra* y *Solución de resolución*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartos de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejarla secar al aire. Exponer la placa a vapores de amoníaco durante 5 minutos

e inmediatamente examinar bajo luz ultravioleta a 366 nm: el cromatograma de la *Solución de resolución* debe presentar manchas separadas y la mancha principal obtenida a partir de la *Solución muestra* debe ser similar en intensidad, apariencia y valor de R_f a la obtenida a partir de la *Solución estándar*.

Método II

Solución reguladora de pH 3,5 - Disolver 13,4 g de ácido cítrico anhidro y 16,3 g de fósforo dibásico de sodio en 1 litro de agua y mezclar.

Fase estacionaria - Emplear un papel para cromatografía de 20 cm x 20 cm (Whatman N° 1 o equivalente). Impregnar la hoja con *Solución reguladora de pH 3,5* y eliminar el exceso del solvente presionando firmemente la hoja entre dos papeles secantes no fluorescentes.

Fase móvil - Nitrometano, cloroformo y piridina (20:10:3). Emplear esta mezcla el mismo día de preparada.

Solución mezcla - *Solución estándar* y *Solución muestra* (50:50).

Procedimiento - En una cámara para cromatografía ascendente (ver *100. Cromatografía*), colocar la *Fase móvil* hasta una altura de 0,6 cm. Sobre la línea de siembra en la hoja de papel y con una separación de 1,5 cm, aplicar 2 µl de la *Solución estándar*, *Solución muestra* y *Solución mezcla*. Antes de que las aplicaciones se sequen completamente, colocar el papel en la cámara cromatográfica de manera que el borde inferior se introduzca en la *Fase móvil*. Desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm, retirar la hoja de la cámara, marcar el frente del solvente y exponerla a vapores de amoníaco. Examinar bajo luz ultravioleta a 366 nm y visualizar la posición de las manchas amarillas principales: el valor del R_f de la mancha principal obtenida a partir de la *Solución muestra* y la *Solución mezcla* debe ser similar al obtenido a partir de la *Solución estándar*.

510. IMPUREZAS COMUNES

El perfil de impurezas de un producto se determina mediante la realización de este ensayo. La información general necesaria sobre cromatografía en placa delgada esta contenida en <100>. *Cromatografía*. A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente emplear el siguiente ensayo.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Emplear la fase móvil especificada en la monografía correspondiente.

Soluciones estándar - Preparar, empleando el solvente especificado en la monografía correspondiente, soluciones de la *Sustancia de referencia* o de la sustancia indicada, de concentraciones exactamente conocidas, iguales a 0,01; 0,05; 0,1 y 0,2 mg por ml. [NOTA: puede emplearse calentamiento o sonicación para favorecer la disolución cuando esto no afecte a la *Sustancia de referencia*.]

Solución muestra - Preparar, empleando el solvente especificado en la monografía correspondiente, una solución que contenga una concentración final de aproximadamente 10 mg por ml. [NOTA: se puede emplear calentamiento o sonicación para favorecer la disolución cuando esto no afecte a los componentes de la muestra.]

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución muestra* y las *Soluciones estándar*. Secar las aplicaciones bajo una corriente de nitrógeno y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartos de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar la placa empleando el *Revelador* especificado. Localizar las manchas, con excepción de la mancha principal en el cromatograma de la *Solución muestra*, y determinar sus intensidades relativas comparando con los cromatogramas de las *Soluciones estándar* correspondientes. El total de impurezas comunes no debe ser mayor de 2,0 %, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente.

Reveladores -

1. Luz ultravioleta de 254 y 366 nm.
2. Iodoplatinato (SR).

3. Solución A - Mezclar 850 mg de subnitrito de bismuto con 40 ml de agua y 10 ml de ácido acético glacial.

Solución B - Disolver 8 g de ioduro de potasio en 20 ml de agua.

Mezclar la Solución A y la Solución B para obtener una solución que pueda ser almacenada durante varios meses en envases de vidrio inactivo. Mezclar 10 ml de esta solución con 20 ml de ácido acético glacial y diluir con agua para obtener 100 ml.

4. Solución de ninhidrina para pulverizado - Disolver 200 mg de ninhidrina en 100 ml de alcohol. Calentar la placa luego de pulverizar sobre ésta.

5. Solución ácida para pulverizado - A 90 ml de alcohol, en un baño de hielo, agregar lentamente y con cuidado, agitando constantemente, 10 ml de ácido sulfúrico. Pulverizar sobre la placa y calentar hasta carbonizar.

6. Solución de dicromato ácido para pulverizado - A 100 ml de ácido sulfúrico, agregar dicromato de potasio, en cantidad suficiente, para obtener una solución saturada. Pulverizar sobre la placa y calentar hasta carbonizar.

7. Vainillina - Disolver 1 g de vainillina en 100 ml de ácido sulfúrico.

8. Cloramina T-Acido tricloroacético - Mezclar 10 ml de una solución acuosa de cloramina T al 3 % con 40 ml de una solución alcohólica de ácido tricloroacético al 25 %. Preparar inmediatamente antes de usar.

9. Folin C - A 70 ml de agua agregar 10 g de tungstato de sodio y 2,5 g de molibdato de sodio. Agregar 5 ml de ácido fosfórico al 85 % y 10 ml de ácido clorhídrico al 36 %, calentar a reflujo esta solución durante 10 horas.

10. Permanganato de potasio (KMnO₄) - Disolver 100 mg de permanganato de potasio en 100 ml de agua.

11. DAB - Mezclar 1 g de p-dimetilaminobenzaldehído en 100 ml de ácido clorhídrico 0,6 N.

12. DAC - Mezclar 100 mg de p-dimetilaminocinamalaldehído en 100 ml de ácido clorhídrico 1 N.

13. Ferricianuro - Mezclar cloruro férrico al 1 % y ferricianuro de potasio al 1 % (50:50). Emplear inmediatamente.

14. Fast Blue B -

Reactivo A - Disolver 500 mg de Sal de Fast Blue B en 100 ml de agua.

Reactivo B - Hidróxido de sodio 0,1 N. Pulverizar sobre la placa primero con activo A y luego con reactivo B.

15. Cianuro férrico alcalino - Diluir 1,5 ml de una solución de ferricianuro de potasio al 1% con agua a 20 ml y agregar 10 ml de solución de hidróxido de sodio al 15 %.

16. Solución de yodo para pulverizado - Preparar una solución de yodo al 0,5 % en cloroformo.

17. Exponer la placa durante 10 minutos a vapores de yodo en una cámara cerrada que en el fondo contiene cristales de yodo.

Solución A - Disolver 0,5 g de yoduro de potasio en 50 ml de agua.

Solución B - Preparar una solución de 0,5 g de almidón soluble en 50 ml de agua caliente. Pulverizar sobre la placa con una mezcla de volúmenes iguales de Solución A y Solución B.

19. PTS - Disolver 20 g de ácido p-toluensulfónico en 100 ml de alcohol. Pulverizar sobre la placa, secar durante 15 minutos a 110 °C y examinar bajo luz ultravioleta a 366 nm.

20. Solución de o-toluidina para pulverizado - Disolver 160 mg de o-toluidina en 30 ml de ácido acético glacial, diluir con agua a 500 ml. Agregar 1 g de yoduro de potasio y mezclar hasta disolución completa.

21. Mezclar 3 ml de solución de ácido cloroplátinico (1 en 10) con 97 ml de agua. Agregar 100 ml de solución de yoduro de potasio (6 en 100).

22. Solución de yodo-metanol para pulverizado - Mezclar yodo (SR) y metanol (1:1).

23. Solución A: mezclar cuidadosamente 100 ml de solución de óxido de mercurio al 5 % con 20 ml de ácido sulfúrico. Diluir a 250 ml con agua.

Solución B: solución de difenil carbazona al 0,1 %. Esta solución se debe preparar en el día de su uso o debe ser mantenida bajo refrigeración por no más de 20 días. Pulverizar en forma sucesiva, sobre la placa, primero con Solución A y luego con Solución B.

520. IMPUREZAS ORGÁNICAS VOLÁTILES

Los siguientes métodos se emplean para la determinación de impurezas orgánicas volátiles en productos farmacéuticos. El método a emplear, los detalles y variaciones del mismo se especifican en las monografías correspondientes.

Este ensayo puede evitarse cuando el elaborador tiene la seguridad, en base a su conocimiento sobre el proceso de elaboración, distribución y almacenamiento de un producto, que no hay presencia potencial de solventes tóxicos y que el material, si se ensaya, cumplirá con las normas establecidas (ver *Interpretación de los requisitos en Consideraciones generales*).

[NOTA: el agua libre de sustancias orgánicas especificada en los siguientes métodos no produce picos interferentes cuando se inyecta en el *Sistema cromatográfico establecido*.]

ÓXIDO DE ETILENO - Este ensayo se realiza sólo cuando se especifica en la monografía correspondiente. Los parámetros de la *Solución estándar* y el método de determinación se describen en la monografía correspondiente. El límite es 10 ppm.

Método I

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama, una precolumna de 5 m x 0,53 mm de sílice desactivada con fenilmetilsiloxano y una columna de 30 m x 0,53 mm de sílice fundida recubierta con una fase estacionaria, químicamente unida, constituida por 5 % de fenilpolisiloxano y 95 % de metilpolisiloxano de 5 µm. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 70 y 260 °C, respectivamente. Programar la temperatura de la columna del siguiente modo: mantener a 35 °C durante 5 minutos, aumentar hasta 175 °C a razón de 8 °C por minuto y luego aumentar hasta 260 °C a razón de 35 °C por minuto. Mantener a esta temperatura, por lo menos, durante 16 minutos. Se emplea helio como gas transportador con una velocidad lineal de aproximadamente 35 cm por segundo.

[NOTA: se recomienda nitrógeno, cuando se emplea un gas de compensación adicional para aumentar el caudal en el detector.]

Solución estándar - Preparar una solución, en agua libre de sustancias orgánicas o en el solvente especificado en la monografía correspondiente, que contenga, por cada ml, 12,0 µg de cloruro de metileno; 1,2 µg de cloroformo; 7,6 µg de 1,4-dioxano y 1,6 µg de tricloroetileno. [NOTA: la solución se debe preparar en el día de uso.]

Solución muestra - Disolver una porción de la muestra, exactamente pesada, en agua libre de sustancias orgánicas o en el solvente especificado en la monografía correspondiente, para obtener una solución con una concentración conocida de aproximadamente 20 mg por ml.

Aptitud del sistema - (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución, *R*, no debe ser menor de 1,0 y la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no es mayor de 15 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 1 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Identificar todos los picos presentes en los cromatogramas de la *Solución muestra*. La presencia e identidad de cualquiera de las impurezas volátiles enumeradas en la *Tabla* o la presencia e identidad de cualquier otra impureza orgánica volátil que eluya con un tiempo de retención comparable, se podrá establecer empleando un detector de espectrometría de masa o mediante el empleo de una segunda columna validada que contenga una fase estacionaria diferente.

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, la cantidad de cada impureza orgánica volátil presente en el material no debe ser mayor al límite especificado en la *Tabla*.

Tabla.

Límite de impurezas orgánicas volátiles	
	Límite (ppm)
Benceno	2
Cloroformo	60
1,4-Dioxano	380
Cloruro de metileno	600
Tricloroetileno	80

Método II

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama, una precolumna de sílice de 5 m x 0,53 mm desactivada con fenilmetilsiloxano y una columna de sílice fundida de 30 m x 0,53 mm recubierta con una fase estacionaria constituida por 94 % de dimetilpolisiloxano y 6 % de cianopropilfenil polisiloxano (los porcentajes se refieren a la sustitución molar), de 3,0 µm de espesor, empleando una jeringa hermética para gases previamente calentada y 1 ml del espacio libre superior. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 140 y 260 °C, respectivamente. Programar la temperatura de la columna del siguiente modo: mantener a 40 °C durante 20 minutos, aumentar rápidamente hasta 240 °C y mantener a esta temperatura durante 20 minutos. Se emplea helio como gas transportador con una velocidad lineal de aproximadamente 35 cm por segundo.

[NOTA: pueden emplearse aparatos de muestreo de espacio libre superior que transfieren automáticamente una cantidad medida del espacio libre superior del vial a la columna.]

Solución estándar - Preparar según se indica para la *Solución estándar* en *Método I*. Transferir 5 ml de la solución a un vial equipado con un septo y precinto metálico que contenga 1 g de sulfato de sodio anhidro y sellar el vial. Calentar el vial a 80 °C durante 60 minutos.

Solución muestra - Transferir 100 mg de muestra, exactamente pesados, a un vial. Agregar 5,0 ml de agua o el solvente especificado en la monografía correspondiente y 1 g de sulfato de sodio anhidro. Tapar con un septo y precintar. Calentar el vial a 80 °C durante 60 minutos o el tiempo especificado en la monografía correspondiente.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Método I*.

Método III

Sistema cromatográfico y Procedimiento - Proceder según se indica en *Método II*, pero sin emplear una jeringa hermética para gases previamente calentada y 1 ml del espacio libre superior.

Solución estándar y Solución muestra - Proceder según se indica en *Método I*.

Aptitud del sistema - (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución, *R*, no debe ser menor de 3 y la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 15 %.

Método IV

Emplear este método para determinar la presencia de cloruro de metileno en comprimidos recubiertos. El límite de cloruro de metileno es 500 µg por día, en base a la dosis diaria máxima declarada en el rótulo.

Sistema cromatográfico - Proceder según se indica en *Método III*, pero inyectar 1 ml de muestra del espacio libre superior, empleando una jeringa hermética para gases previamente calentada. [NOTA: puede emplearse un aparato de muestreo de espacio libre superior que automáticamente transfiere una cantidad medida de muestra del espacio libre superior del vial a la columna.]

Solución madre del estándar - Transferir 3,8 µl, exactamente medidos, equivalentes a 5 mg de cloruro de metileno a un matraz aforado de 1 litro, diluir a volumen con agua libre de sustancias orgánicas y mezclar.

Solución estándar - [NOTA: realizar una incisión en la cubierta de los comprimidos antes de preparar la solución.] Transferir varios comprimidos enteros, equivalente a 1 g, a un matraz aforado con tapón de vidrio. Transferir 20 ml de *Solución madre del estándar* al matraz, insertar el tapón con firmeza, colocar en un baño ultrasónico hasta que los comprimidos se desintegren completamente y centrifugar la

solución resultante. Transferir 2 ml de la solución sobrenadante transparente a un-vial equipado con un septo y una tapa con precinto metálico y sellar. Colocar el vial en un baño de agua a 85 °C durante aproximadamente 20 minutos.

Solución muestra - Preparar según se indica para la *Solución estándar*, pero empleando 20 ml de agua libre de sustancias orgánicas en vez de 20 ml de *Solución madre del estándar*.

Solución de aptitud del sistema - Preparar una solución en agua libre de sustancias orgánicas que contenga, por ml, 5 µg de alcohol y 5 µg de cloruro de metileno. Transferir 2,0 ml a un vial equipado con un septo y una tapa, con precinto metálico y sellar. Colocar el vial en un baño de agua a 85 °C durante 20 minutos.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) Cromatografiar 1 ml de la fase gaseosa de la *Solución de aptitud del sistema*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución, *R*, entre el alcohol y el cloruro de metileno no es menor de 1,5 y la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no es mayor de 10,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 1 ml) del espacio libre superior de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Determinar la presencia de cloruro de metileno en la *Solución muestra*. Calcular la cantidad de cloruro de metileno, en µg por comprimido.

Calcular la cantidad máxima permitida de cloruro de metileno, en µg por comprimido por día, por la fórmula siguiente:

$$\frac{500(\mu\text{g}/\text{día})}{D(\text{mg})} \times C(\text{mg}/\text{comprimido})$$

en la cual *D* representa la dosis máxima diaria y *C* la cantidad declarada de principio activo por comprimido.

La cantidad de cloruro de metileno por comprimido no debe ser mayor que la cantidad máxima permitida calculada por la fórmula.

530. LIBERACION DE PRINCIPIOS ACTIVOS

En el presente capítulo se incluyen las metodologías aplicables a productos de liberación prolongada y a productos de liberación retardada (con cubierta entérica). La elección de una u otra dependerá de las características de liberación establecidas para el producto.

PRODUCTOS DE LIBERACION PROLONGADA

Las alícuotas extraídas para efectuar el ensayo serán reemplazadas por volúmenes iguales de *Medio* a 37 °C. Cuando se haya demostrado que el agregado de medio durante el ensayo no es necesario, se podrán aplicar correcciones por el cambio de volumen al realizar los cálculos.

Aparato - Emplear el *Aparato 1* o el *Aparato 2* (ver 320. *Ensayo de disolución*) según se especifique en la monografía correspondiente.

Medio y procedimiento - Proceder según se indica para *Muestreo individual* en <320>. *Ensayo de disolución*.

Tiempo - Las alícuotas se deben extraer en por lo menos tres tiempos diferentes, expresados en horas, con una tolerancia de $\pm 2\%$ del tiempo establecido.

Interpretación - A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, los requisitos se cumplen si la cantidad disuelta de principio activo se ajusta a la *Tabla de aceptación 1*. En el caso que los resultados no estén dentro de los límites especificados para N_1 se deberá continuar el ensayo para N_2 y N_3 . Los límites de principio activo disuelto se expresan en función del porcentaje del contenido declarado.

PRODUCTOS DE LIBERACIÓN RETARDADA (CUBIERTA ENTERICA)

Emplear el *Método I* o *II* y el *Aparato 1* ó *2* según se especifique en la monografía correspondiente.

Método I

Procedimiento -

ETAPA ÁCIDA - Transferir 750 ml de ácido clorhídrico 0,1 N a cada vaso. Dejar que el medio se equilibre a una temperatura de $37,0 \pm 0,5$ °C. Colocar un comprimido o una cápsula en cada vaso y operar el equipo durante 2 horas a la velocidad especificada en la monografía correspondiente. Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso y proceder de inmediato según se indica en *Etapas de la solución reguladora*. Realizar el análisis de

las alícuotas tomadas empleando el *Procedimiento* indicado en la monografía correspondiente.

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, los requisitos de esta etapa se cumplen si la cantidad disuelta de principio activo, calculada como porcentaje del contenido declarado, se ajusta a la *Tabla de aceptación 2*.

ETAPA DE LA SOLUCIÓN REGULADORA -

[NOTA: agregar la solución reguladora y ajustar el pH en no más de 5 minutos.] Con el equipo funcionando a la velocidad especificada en la monografía correspondiente, agregar al líquido contenido en cada vaso, 250 ml de fosfato tribásico de sodio 0,20 M equilibrado a $37,0 \pm 0,5$ °C. Ajustar, si fuera necesario, con ácido clorhídrico 2 N o hidróxido de sodio 2 N a $\text{pH } 6,80 \pm 0,05$. Continuar operando el equipo durante un tiempo máximo de 45 minutos o durante el tiempo especificado en la monografía correspondiente. Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso analizándolas empleando el *Procedimiento* indicado en la monografía correspondiente.

Interpretación - A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, los requisitos se cumplen si la cantidad disuelta de principio activo se ajusta a la *Tabla de aceptación 3*. Continuar el ensayo a través de los tres niveles, salvo que los resultados de ambas etapas estén dentro de los límites especificados para un nivel inferior. El valor de Q en la *Tabla de aceptación 3* debe ser 75 %, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente. El valor de Q , especificado en la monografía, es la cantidad total de principio activo disuelto en la *Etapas de la solución reguladora* y en la *Etapas de la solución reguladora*, expresado como porcentaje del contenido declarado en el rótulo. Los valores de 5 y 15 % en la *Tabla de aceptación 3* son porcentajes del contenido declarado en el rótulo, es decir, estos valores y Q están en los mismos términos.

Método II

Procedimiento -

ETAPA ÁCIDA - Transferir 1 litro de ácido clorhídrico 0,1 N a cada vaso. Dejar que el medio se equilibre a una temperatura de $37 \pm 0,5$ °C. Colocar un comprimido o una cápsula en cada vaso y operar el equipo durante 2 horas a la velocidad especificada en la monografía correspondiente. Cumplido el tiempo

especificado, extraer una alícuota de cada vaso y proceder de inmediato según se indica en *Etapa de la solución reguladora*. Realizar el ensayo de las alícuotas extraídas empleando el *Procedimiento* indicado en la monografía correspondiente.

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, los requisitos de esta etapa se cumplen si la cantidad disuelta de principio activo, calculada como porcentaje contenido declarado en el rótulo, se ajusta a la *Tabla de aceptación 2*.

ETAPA DE LA SOLUCION REGULADORA -

[NOTA: emplear solución reguladora previamente equilibrada a una temperatura de $37,0 \pm 0,5$ °C.] Descartar el medio ácido del vaso y agregar al mismo 1 litro de solución reguladora de fosfato de pH 6,8, preparada mezclando ácido

clorhídrico 0,1 N con fosfato tribásico de sodio 0,20 M (3: 1) y ajustando, si fuera necesario, con ácido clorhídrico 2 N o hidróxido de sodio 2 N a pH $6,80 \pm 0,05$. [NOTA: este procedimiento puede realizarse también del siguiente modo: retirar el vaso que contiene el ácido, sustituirlo por otro vaso que contenga la solución reguladora y transferir la unidad de dosificación al vaso que contiene la solución reguladora.] Continuar operando el equipo durante un tiempo máximo de 45 minutos o durante el tiempo especificado en la monografía correspondiente. Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, analizándolas empleando el *Procedimiento* indicado en la monografía correspondiente.

Interpretación - Proceder según se indica para *Interpretación* en el *Método I*.

Tabla de aceptación 1.

Nivel	Unidades ensayadas	Criterios
N_1	6	Ningún valor individual debe encontrarse fuera de los correspondientes intervalos establecidos y ningún valor individual es menor al establecido para el tiempo final.
N_2	6	El promedio de las 12 unidades (N_1+N_2) debe encontrarse dentro de cada uno de los intervalos establecidos y el promedio para el tiempo final no debe ser menor que el valor establecido para dicho tiempo. Ningún valor individual debe ser diferente en más de un 10 %, del contenido declarado, de los intervalos establecidos; y ningún valor individual debe ser menor en más de un 10 %, del contenido declarado, del límite establecido para el tiempo final.
N_3	12	El promedio de las 24 unidades ($N_1+N_2+N_3$) debe encontrarse dentro de cada uno de los intervalos establecidos y el promedio para el tiempo final no debe ser menor que el valor establecido para dicho tiempo. No más de 2 de los 24 valores individuales podrán ser diferentes en más de un 10 % del contenido declarado de los intervalos establecidos; no más de 2 de los 24 valores individuales podrán ser menores en más de un 10 % del contenido declarado del límite establecido para el tiempo final; y ningún valor individual es diferente en más de un 20 % del contenido declarado por debajo del límite establecido para el tiempo final.

Tabla de aceptación 2.

Nivel	Unidades ensayadas	Criterios
Na_1	6	En ninguna unidad individual la cantidad disuelta debe ser mayor de 10 %.
Na_2	6	El promedio de la cantidad disuelta para las 12 unidades ($Na_1 + Na_2$) no debe ser mayor de 10 % y en ninguna unidad individual la cantidad disuelta debe ser mayores de 25.
Na_3	12	El promedio de la cantidad disuelta para las 24 unidades ($Na_1 + Na_2 + Na_3$) no debe ser mayor de 10 % y en ninguna unidad individual la cantidad la cantidad disuelta debe ser mayor de 25 %.

Tabla de aceptación 3.

Nivel	Unidades ensayadas	Criterios
Nb_1	6	Cada unidad individual no debe ser menor de $Q + 5 \%$.
Nb_2	6	El promedio de la cantidad disuelta para las 12 unidades ($Nb_1 + Nb_2$) debe ser igual o mayor que Q y ninguna unidad individual debe ser menor de $Q - 15 \%$.
Nb_3	12	El promedio de las 24 unidades ($Nb_1 + Nb_2 + Nb_3$) debe ser igual o mayor que Q , no más de 2 unidades deben ser menores de $Q - 15 \%$ y ninguna unidad individual debe ser menor de $Q - 25 \%$.

540. LIMITE DE ARSENICO

Precaución - La arsina generada es sumamente tóxica.

Este procedimiento se diseñó para determinar la presencia de trazas de arsénico transformándolo en arsina, la cual forma un complejo de color rojo al pasar a través de una solución de dietilditiocarbamato de plata. El color rojo producido se compara, visual o espectrofotométricamente, contra un control que tiene una cantidad de arsénico equivalente al límite especificado en la monografía correspondiente. Los límites se establecen en términos de arsénico. El contenido de arsénico no debe exceder el límite especificado en la monografía correspondiente.

Existen dos métodos que difieren en el tratamiento preliminar de la muestra a ensayar y del estándar. El *Método I* se emplea generalmente para sustancias inorgánicas y el *Método II* para sustancias orgánicas.

Aparato (ver *Figura*) - Consta de un generador de arsina *A*, al que se le adapta una unidad depuradora *C*, y un tubo de absorción *E*, con juntas estándar o esféricas *B* y *D*, colocadas entre las unidades. Se puede emplear cualquier otro aparato que tenga características similares.

Solución madre de trióxido de arsénico - Transferir 132,0 mg de trióxido de arsénico, exactamente pesados y previamente secados a 105 °C durante 1 hora, a un matraz aforado de 1 litro. Agregar 5 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 5) y disolver. Neutralizar la solución con ácido sulfúrico 2 N, agregar 10 ml adicionales de ácido sulfúrico 2 N, completar a volumen y mezclar con agua recientemente hervida y enfriada.

Solución estándar de arsénico - Transferir 10,0 ml de la *Solución madre de trióxido de arsénico* a un matraz aforado de 1 litro y agregar 10 ml de ácido sulfúrico 2 N. Completar a volumen y mezclar con agua recientemente hervida y enfriada. Cada ml de la solución estándar de arsénico contiene el equivalente a 1 µg de arsénico. Conservar esta solución en un recipiente de vidrio y emplearla dentro de los tres días de preparada.

Método I

Solución estándar - Transferir 3,0 ml de la *Solución estándar de arsénico* al generador de arsina y diluir con agua hasta obtener un volumen de 35 ml.

Solución muestra - A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, transferir al generador de arsina la cantidad, en g,

de la sustancia en ensayo calculada por la fórmula siguiente:

$$3,0/L$$

en la cual *L* es el límite de arsénico en ppm. Disolver en agua hasta obtener un volumen de 35 ml.

Procedimiento - Agregar a la *Solución muestra* y a la *Solución estándar* 20 ml de ácido sulfúrico 7 N, 2 ml de ioduro de potasio (SR), 0,5 ml de cloruro estañoso concentrado (SR) y 1 ml de alcohol isopropílico. Mezclar y dejar reposar a temperatura ambiente durante 30 minutos. Colocar en la unidad depuradora dos trozos de algodón previamente impregnados con solución saturada de acetato de plomo, exprimidos para eliminar el exceso de solución y secados al vacío a temperatura ambiente, dejando un pequeño espacio de 2 mm entre las dos porciones de algodón. Lubricar las juntas esmeriladas con grasa apta para emplearse con solventes orgánicos y conectar la unidad depuradora al tubo de absorción. Transferir 3,0 ml de dietilditiocarbamato de plata (SR) al tubo de absorción. Agregar 3,0 g de cinc granulado (malla N° 20) a la mezcla contenida en el, generador de arsina e inmediatamente conectar la unidad depuradora al mismo. Colocar el sistema en un baño de agua a 25 ± 3 °C y permitir la formación de hidrógeno y el desarrollo de color durante 45 minutos agitando el sistema suavemente a intervalos de 10 minutos. Desconectar el tubo de absorción y la unidad depuradora del generador de arsina y transferir la solución a celdas de absorción de 1 cm.

El color rojo producido por la *Solución muestra* no debe ser mayor que el producido por la *Solución estándar*. Si fuera necesario, determinar la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción, entre 535 y 540 nm, en un espectrofotómetro o colorímetro apropiado, empleando dietilditiocarbamato de plata (SR) como blanco.

Método II

Precaución - Se deben tomar medidas de seguridad en todo momento ya que algunas sustancias pueden reaccionar en forma explosiva cuando se oxidan con peróxido de hidrógeno.

[NOTA 1: si se trabaja con compuestos que contienen halógenos, calentar las muestras con ácido sulfúrico a menor temperatura, evitando que la mezcla entre en ebullición y agregar, con mucho cuidado, el peróxido de hidrógeno antes de efectuar la carbonización, para prevenir la pérdida de arsénico trivalente.]

[NOTA 2: si la sustancia en ensayo reacciona rápidamente y comienza a carbonizarse con 5 ml de ácido sulfúrico antes de calentarse, emplear en su lugar 10 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 2) y frío, y agregar unas pocas gotas de peróxido de hidrógeno antes de calentar.]

Solución estándar - Transferir 3,0 ml de *Solución estándar de arsénico* al generador de arsina; agregar 2 ml de ácido sulfúrico y mezclar. Agregar el volumen de peróxido de hidrógeno al 30 % empleado en la *Solución muestra*. Calentar la mezcla hasta que se desprendan vapores fuertes. Dejar enfriar y agregar con cuidado 10 ml de agua y nuevamente calentar hasta que se produzcan vapores fuertes. Se debe repetir este procedimiento con otros 10 ml de agua para eliminar cualquier traza del peróxido de hidrógeno. Enfriar y diluir con agua hasta 35 ml.

Solución muestra - A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, transferir al generador de arsina la cantidad, en g, de la sustancia en ensayo calculada por la fórmula siguiente:

$$3,0/L$$

en la cual L es el límite de arsénico en ppm.

Agregar a la muestra 5 ml de ácido sulfúrico, algunas perlas de vidrio y digerir calentando preferiblemente sobre una placa calefactora, debajo de una campana de ventilación a una temperatura no mayor de 120 °C, hasta que se inicie la carbonización. Agregar más ácido sulfúrico, si fuera necesario, para humedecer completamente la muestra pero se debe tener en cuenta que el volumen total agregado no puede ser mayor de 10 ml. Agregar cuidadosamente, gota a gota, la solución de peróxido de hidrógeno al 30 %, esperando entre gota y gota a que la reacción cese antes de efectuar la siguiente

adición. Agregar las primeras gotas muy lentamente con agitación constante para evitar una reacción violenta. Interrumpir el calentamiento si el desprendimiento de gases es excesivo. Cuando la reacción ha terminado, calentar cuidadosamente, rotando el generador de arsina ocasionalmente, para evitar que algunas porciones de la muestra queden adheridas a las paredes del generador de arsina. Mantener las condiciones de oxidación durante la digestión agregando pequeñas cantidades de solución de peróxido de hidrógeno al 30 %, cada vez que la mezcla se tome de color marrón o se oscurezca. Continuar la digestión hasta que la materia orgánica se destruya y se desprendan abundantes vapores de trióxido de azufre y que la solución sea incolora o presente solamente un color amarillo pálido. Enfriar y agregar cuidadosamente 10 ml de agua, mezclar y evaporar nuevamente hasta que aparezcan vapores fuertes. Si fuera necesario, repetir el procedimiento para eliminar cualquier traza de peróxido de hidrógeno. Enfriar, lavar las paredes del generador de arsina con 10 ml de agua y diluir con agua a 35 ml.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento para el Método I*.

Interferencias químicas - Los metales o las sales de metales como el cromo, cobalto, cobre, mercurio, molibdeno, níquel, paladio y plata, pueden interferir con la formación de arsina. El antimonio que forma estibina produce una interferencia positiva en el desarrollo del color con dietilditiocarbamato de plata (SR). Cuando se sospecha la presencia de antimonio, el color rojo que se produce en las dos soluciones de dietilditiocarbamato de plata, puede ser comparado a la longitud de onda de máxima absorción entre 535 y 540 nm con un colorímetro apropiado ya que a esta longitud de onda la interferencia debida a la estibina es despreciable.

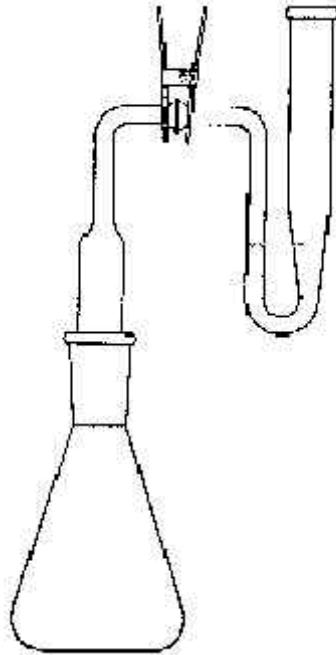


Figura. Aparato para el ensayo límite de arsénico.

550. LÍMITE DE CALCIO, POTASIO Y SODIO

Para la determinación de estos elementos, emplear un fotómetro de llama.

Solución estándar de calcio - Transferir 249,7 mg de carbonato de calcio, previamente secado durante 3 horas a 300 °C y enfriado en un desecador durante 2 horas, a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 20 ml de agua y 5 ml de solución de ácido clorhídrico 3 N, agitar hasta disolución, completar a volumen con agua y mezclar. Cada ml contiene 1,00 mg de calcio.

Solución estándar de potasio - Transferir 190,7 mg de cloruro de potasio, previamente secado durante 2 horas a 105 °C, a un matraz aforado de 100 ml. Disolver con agua, completar a volumen y mezclar. Cada ml contiene 1,00 mg de potasio.

Solución estándar de sodio - Transferir 254,2 mg de cloruro de sodio, previamente secado durante 2 horas a 105 °C, a un matraz aforado de 100 ml. Disolver con agua, completar a volumen y mezclar. Cada ml contiene 1,00 mg de sodio.

Solución muestra - A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, transferir 2,00 g de muestra a un matraz aforado de 100 ml, enfriar en un baño de hielo y agregar 5 ml de ácido nítrico concentrado. Agitar hasta disolución y dejar reposar a temperatura ambiente. Si la solución resultante presenta turbidez, calentar suavemente hasta obtener una solución transparente. Dejar reposar a temperatura ambiente, completar a volumen con agua y mezclar. Si fuera necesario, filtrar o

centrifugar para obtener una solución transparente o ligeramente turbia.

Solución estándar - Transferir 50 ml de la *Solución muestra* a un matraz aforado de 100 ml, agregar los volúmenes de *Soluciones estándar de calcio, potasio o sodio* indicados en la monografía correspondiente, completar a volumen con agua y mezclar. Diluir alícuotas de esta solución con agua hasta obtener una concentración apropiada del elemento en ensayo.

Procedimiento - Ajustar el fotómetro de llama para obtener una lectura con la *Solución estándar* lo más cercana posible al 100 % de transmitancia, a la longitud de onda de máxima emisión, según se indica en la *Tabla*. Emplear como ancho de rendija de salida un valor lo más cercano posible al ancho de banda designado. Registrar la lectura de transmitancia y designarla con la letra *S*. Diluir las alícuotas de la *Solución muestra* con agua para obtener una solución con una concentración similar a la de la *Solución estándar*. Sin cambiar ninguno de los ajustes realizados en el fotómetro de llama, registrar la lectura de transmitancia de la *Solución muestra* y designarla con la letra *T*. Reajustar solamente el monocromador a la longitud de onda asignada como corrección de fondo. Registrar la lectura de transmitancia de la *Solución muestra* a esta longitud de onda y designarla con la letra *B*. El ensayo es válido si el valor de *T* menos *B* es menor o igual que el valor de *S* menos *T*.

Tabla.

Elemento	Longitud de onda (nm)		Ancho de banda (nm)
	Máxima	Corrección de fondo	
Calcio	422,7	430	0,8
Potasio	766,5	750	12
Sodio	589,0	580	0,8

560. LIMITE DE CLORURO Y SULFATO

Preparar la *Solución muestra* y la *Solución de comparación* empleando tubos de Nessler (ver *Consideraciones generales*). Emplear cantidades iguales de los reactivos, tanto para la *Solución muestra* como para la *Solución de comparación*. Si después de la acidificación, la solución no está perfectamente límpida, filtrarla a través de un papel de filtro libre de cloruro y sulfato. Según corresponda, agregar el precipitante, nitrato de plata (SR) o cloruro de bario (SR) a la *Solución muestra* y a la *Solución de comparación*.

Cuando en la monografía correspondiente se especifique la realización de este ensayo sobre un volumen específico de *Solución muestra* y el límite para cloruro o sulfato corresponda a 0,20 ml o menos de ácido clorhídrico o ácido sulfúrico 0,020 N respectivamente, realizar el ensayo sobre la solución sin diluir. En tales casos mantener la misma relación de volumen para la *Solución de comparación* y la *Solución muestra*. Cuando se realiza el ensayo sobre sales de metales pesados, que presentan normalmente una reacción ácida, omitir la acidificación y no neutralizar la solución. En el caso de las sales de bismuto, disolverlas en la menor cantidad de agua y 2 ml de ácido nítrico antes del tratamiento con el agente precipitante.

Cloruro - Disolver la cantidad especificada de la sustancia en ensayo en 30 a 40 ml de agua o, si la muestra está en solución, agregar agua hasta obtener un volumen total entre 30 y 40 ml y, si fuera necesario, neutralizar la solución con ácido nítrico empleando papel de tornasol como indicador. Agregar 1 ml de ácido nítrico, 1 ml de nitrato de plata (SR) y cantidad suficiente de agua para obtener 50 ml. Mezclar, dejar en reposo durante 5 minutos protegido de la luz solar directa y comparar la turbidez con la producida en una solución que contiene el volumen de ácido clorhídrico 0,020 N especificado en la monografía correspondiente.

Sulfato - Disolver la cantidad especificada de la sustancia en ensayo en 30 a 40 ml de agua o, si la muestra está en solución, agregar agua hasta obtener un volumen total entre 30 y 40 ml y, si fuera necesario, neutralizar la solución con ácido clorhídrico empleando papel de tornasol como indicador. Agregar 1 ml de ácido clorhídrico 3 N, 3 ml de cloruro de bario (SR) y cantidad suficiente de agua para obtener 50 ml. Mezclar, dejar en reposo durante 10 minutos y comparar la turbidez con la producida en una solución que contiene el

volumen de ácido sulfúrico 0,020 N especificado en la monografía correspondiente.

570. LIMITE DE DIMETILANILINA

Este ensayo constituye un procedimiento general para la determinación de dimetilamina empleando cromatografía de gases (ver 100. *Cromatografía*).

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de 2 m x 2 mm rellena con una fase líquida constituida por 50 % de fenilsilicona y 50 % de metilpolisiloxano al 3 % sobre un soporte silanizado de tierra silícea para cromatografía de gases calcinada con carbonato de sodio a 900 °C, lavada con ácido y luego con agua hasta neutralidad. Mantener la columna a 120 °C. Se emplea nitrógeno como gas transportador con un caudal de aproximadamente 30 ml por minuto.

Solución del estándar interno - A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, preparar una solución de naftaleno en ciclohexano para obtener una solución con una concentración conocida de aproximadamente 50 µg por ml.

Solución estándar - A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, transferir aproximadamente 50,0 mg de *N,N*-dimetilnilina, exactamente pesados, a un matraz aforado de 50 ml. Agregar 25 ml de ácido clorhídrico 1 N, agitar por rotación hasta disolver, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 5,0 ml de la solución resultante a un matraz aforado de 250 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 1,0 ml de esta solución a un tubo de centrifuga, agregar 5,0 ml de hidróxido de sodio 1 N y 1,0 ml de *Solución del estándar interno*, agitar vigorosamente durante 1 minuto y centrifugar. Emplear la solución sobrenadante transparente.

Solución muestra - A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, transferir aproximadamente 1,0 g de la muestra, exactamente pesado, a un tubo de centrifuga, agregar 5 ml de hidróxido de sodio 1 N y agitar por rotación hasta disolución. Agregar 1,0 ml de *Solución del estándar interno*, agitar vigorosamente durante 1 minuto y centrifugar. Emplear la solución sobrenadante transparente.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. El cociente entre las respuestas de los picos de dimetilnilina y naftaleno, obtenidos a partir de la *Solución muestra*

no debe ser mayor que el obtenido a partir de la *Preparación estándar* (0,002 %).

580. LIMITE DE HIERRO

Este ensayo se emplea para determinar que el contenido de hierro, férrico o ferroso, no excede el límite especificado en la monografía correspondiente. La determinación se realiza mediante la comparación visual con un control preparado a partir de una solución estándar de hierro.

Reactivos especiales

Solución estándar de hierro - Disolver 863,4 mg de sulfato férrico amónico $[\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}]$ en cantidad suficiente de agua, agregar 10 ml de ácido sulfúrico 2 N y diluir con agua hasta completar 100,0 ml. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz aforado de 1 litro, agregar 10 ml de ácido sulfúrico 2 N, diluir a volumen con agua y mezclar. Esta solución contiene el equivalente a 10 μg de hierro por ml.

Solución de tiocianato de amonio - Disolver 30 g de tiocianato de amonio en agua para obtener 100 ml.

Solución estándar - Transferir 1 ml de *Solución estándar de hierro* (10 μg de Fe) a un tubo de Nessler de 50 ml, diluir con agua a 45 ml, agregar 2 ml de ácido clorhídrico y mezclar.

Solución muestra - Transferir la solución preparada para el ensayo según se indica en la monografía correspondiente a un tubo de Nessler de 50 ml y, si fuera necesario, diluir con agua a 45 ml o disolver en agua y luego diluir a 45 ml la cantidad de la sustancia en ensayo, en g, calculada por la fórmula siguiente:

$$1/(1.000L)$$

en la cual L es el límite de hierro en porcentaje. Agregar 2 ml de ácido clorhídrico y mezclar.

Procedimiento - A cada uno de los tubos que contienen la *Solución estándar* y la *Solución muestra* agregar 50 mg de cristales de persulfato de amonio, 3 ml de *Solución de tiocianato de amonio* y mezclar: el color de la solución obtenida a partir de la *Solución muestra* no debe ser más intenso que el de la solución obtenida a partir de la *Solución estándar*.

590. LÍMITE DE METALES PESADOS

Este ensayo se emplea para establecer que el contenido de impurezas metálicas que reaccionan con el ión sulfuro, bajo las condiciones especificadas, no excede el *Límite de metales pesados* especificado en la monografía correspondiente, expresado como porcentaje (en peso) de plomo en la sustancia en ensayo, determinado mediante comparación visual (ver *Comparación visual* en *Consideraciones generales*) con un control preparado a partir de una *Solución estándar de plomo*.

[NOTA: los cationes que generalmente responden a este ensayo son: plomo, mercurio, bismuto, arsénico, antimonio, estaño, cadmio, plata, cobre y molibdeno.]

El *Método I* se emplea para sustancias que dan soluciones límpidas en las condiciones específicas del ensayo. El *Método II* se emplea para sustancias que no dan soluciones límpidas o incoloras en las condiciones del ensayo especificadas para el *Método I* o para sustancias que, por su naturaleza, dificultan la precipitación de metales por el ión sulfuro o para aceites fijos y volátiles. A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, emplear el *Método I*. El *Método III* es un método de digestión por vía húmeda, que se emplea sólo en aquellos casos donde ni el *Método I* ni el *Método II* pueden emplearse.

Reactivos especiales

Solución madre de nitrato de plomo - Disolver 159,8 mg de nitrato de plomo en 100 ml de agua a la cual se le ha agregado 1 ml de ácido nítrico y diluir a 1 litro con agua. Preparar y almacenar esta solución en envases de vidrio exentos de sales de plomo solubles.

Solución estándar de plomo - En el día del ensayo, diluir 10,0 ml de *Solución madre de nitrato de plomo* a 100,0 ml con agua. Cada ml de *Solución estándar de plomo* contiene el equivalente a 10 µg de plomo. Una solución de comparación preparada sobre la base de 100 µl de *Solución estándar de plomo* por g de muestra contiene el equivalente a 1 ppm de plomo.

Método I

Solución reguladora de acetato pH 3,5 - Disolver 50 g de acetato de amonio en 100 ml de ácido clorhídrico 6 N, ajustar a pH 3,5, si fuera necesario, con hidróxido de amonio 6 N o ácido clorhídrico 6 N y diluir con agua a 200 ml.

Solución estándar - Transferir 2 ml de *Solución estándar de plomo* (20 µg de Pb) a un tubo de Nessler de 50 ml y diluir con agua a 25 ml. Ajustar a pH entre 3,0 y 4,0 con ácido acético 1 N o hidróxido de

amonio 6 N, empleando papel indicador de pH, diluir con agua a 40 ml y mezclar.

Solución muestra - Transferir 25 ml de la solución preparada para el ensayo según se indica en la monografía correspondiente a un tubo de Nessler de 50 ml. Alternativamente, cuando se indique en la monografía correspondiente, emplear el volumen de ácido indicado, disolver la cantidad en g de muestra, calculada por la fórmula siguiente:

$$2,0/(1.000L)$$

en la cual *L* es el *Límite de metales pesados*, en porcentaje. Diluir a 25 ml con agua y ajustar a pH entre 3,0 y 4,0 con ácido acético 1 N o hidróxido de amonio 6 N, empleando papel indicador de pH, diluir a 40 ml con agua y mezclar.

Solución control - Transferir 25 ml de una solución preparada según se indica para la *Solución muestra* a un tercer tubo de Nessler de 50 ml y agregar 2,0 ml de *Solución estándar de plomo*. Ajustar a pH entre 3,0 y 4,0 con ácido acético 1 N o hidróxido de amonio 6 N, empleando papel indicador de pH, diluir a 40 ml con agua y mezclar.

Procedimiento - A cada uno de los tubos que contienen la *Solución estándar*, la *Solución muestra* y la *Solución control*, respectivamente, agregar 1,2 ml de tioacetamida-glicerina básica (SR) y 2 ml de *Solución reguladora de acetato de pH 3,5*, diluir a 50 ml con agua, mezclar, dejar reposar durante 5 minutos y observar longitudinalmente sobre una superficie blanca: el color de la solución obtenida a partir de la *Solución muestra* no debe ser más oscuro que el de la obtenida a partir de la *Solución estándar* y la intensidad del color de la *Solución control* debe ser igual o mayor que la de la *Solución estándar*.

[NOTA: si el color de la *Solución control* es más claro que el de la *Solución estándar*, emplear el *Método II*.]

Método II

Solución reguladora de acetato pH 3,5 - Preparar según se indica en *Método I*.

Solución estándar - Preparar según se indica en *Método I*.

Solución muestra - Emplear una cantidad en g de muestra calculada por la fórmula siguiente:

$$2,0/(1.000L)$$

en la cual *L* es el *Límite de metales pesados*, en porcentaje. Transferir la cantidad de muestra pesada a un crisol, agregar suficiente ácido sulfúrico para impregnar la sustancia y someter cuidadosa-

mente a ignición hasta que la sustancia se carbonice por completo. [NOTA: cubrir el crisol parcialmente durante la carbonización.] Agregar a la masa carbonizada 2 ml de ácido nítrico y 5 gotas de ácido sulfúrico y calentar con cuidado hasta que no se desprendan vapores blancos. Someter a ignición, en una mufla, entre 500 y 600 °C, hasta que el residuo carbonoso desaparezca. Dejar enfriar a temperatura ambiente. Agregar 4 ml de ácido clorhídrico 6 N, tapar el crisol y transferir a un baño de vapor durante 15 minutos. Destapar y evaporar lentamente hasta sequedad. Agregar al residuo 1 gota de ácido clorhídrico, 10 ml de agua caliente y digerir durante 2 minutos. Agregar hidróxido de amonio 6 N, gota a gota, hasta que la solución sea alcalina frente al papel de tornasol, diluir a 25 ml con agua y ajustar a pH entre 3,0 y 4,0 con ácido acético 1 N empleando papel indicador de pH de intervalo estrecho. Filtrar, si fuera necesario, lavar el crisol y el filtro con 10 ml de agua, combinar el filtrado y el agua de lavado en un tubo de Nessler de 50 ml, diluir a 40 ml con agua y mezclar.

Procedimiento - A cada uno de los tubos que contienen la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, respectivamente, agregar 1,2 ml de tioacetamida-glicerina básica (SR) y 2 ml de *Solución reguladora de acetato pH 3,5*, diluir a 50 ml con agua, mezclar, dejar reposar durante 5 minutos y observar longitudinalmente sobre una superficie blanca: el color de la solución obtenida a partir de la *Solución muestra* no debe ser más oscuro que el de la solución obtenida a partir de la *Solución estándar*.

Método III

Solución reguladora de acetato pH 3,5 - Preparar según se indica en *Método I*.

Solución estándar - Transferir una mezcla de 8 ml de ácido sulfúrico y 10 ml de ácido nítrico a un matraz de Kjeldahl de 100 ml. Agregar un volumen adicional de ácido nítrico igual al agregado a la *Solución muestra*. Calentar la solución hasta desprendimiento de vapores densos y blancos, enfriar y agregar con cuidado 10 ml de agua. Si se empleó peróxido de hidrógeno al 30 % al tratar la *Solución muestra*, agregar el mismo volumen de peróxido de hidrógeno y calentar a ebullición suavemente hasta que se desprendan vapores densos y blancos. Enfriar a temperatura ambiente, agregar con cuidado 5 ml de agua, mezclar y calentar a ebullición suavemente hasta la producción de vapores blancos y obtener un volumen de 2 a 3 ml. Enfriar, diluir con cuidado con 2 a 5 ml de agua, agregar 2,0 ml de *Solución estándar de plomo* (20 µg de Pb) y mezclar. Transferir a un tubo de Nessler de 50 ml, lavar el matraz con agua, agregando los lavados al tubo hasta completar un volumen de 25 ml y mezclar.

Solución muestra -

Si la sustancia es sólida - Transferir la cantidad de muestra especificada en la monografía correspondiente a un matraz de Kjeldahl de 100 ml. [NOTA: emplear un matraz de 300 ml si la reacción genera espuma en exceso.] Inclinar el matraz a 45° y agregar, con cuidado, cantidad suficiente de una mezcla de 8 ml de ácido sulfúrico y 10 ml de ácido nítrico para impregnar la muestra. Calentar suavemente hasta que la reacción comience, dejar que la reacción disminuya y agregar porciones adicionales de la misma mezcla hasta un volumen final de 18 ml. Calentar suavemente a ebullición hasta que la solución se oscurezca. Enfriar a temperatura ambiente, agregar 2 ml de ácido nítrico y calentar nuevamente hasta que la solución se oscurezca. Continuar calentando luego del agregado de ácido nítrico hasta que la mezcla no presente oscurecimiento. Luego calentar fuertemente hasta la producción de vapores densos y blancos. Enfriar, agregar con cuidado 5 ml de agua, calentar suavemente a ebullición hasta la producción de vapores densos, blancos y continuar calentando hasta que el volumen se reduzca a unos pocos ml. Enfriar a temperatura ambiente, agregar con cuidado 5 ml de agua y examinar el color de la solución. Si el color es amarillo, agregar con cuidado 1 ml de peróxido de hidrógeno al 30 % y nuevamente evaporar hasta la producción de vapores blancos y obtener un volumen de 2 a 3 ml. Si la solución sigue siendo amarilla, agregar 5 ml de agua y repetir el tratamiento con peróxido de hidrógeno. Enfriar, diluir con cuidado con 2 a 5 ml de agua, lavar y transferir a un tubo de Nessler de 50 ml, teniendo cuidado que el volumen total no exceda los 25 ml.

Si la sustancia es líquida - Transferir la cantidad de muestra especificada en la monografía correspondiente a un matraz de Kjeldahl de 100 ml. [NOTA: emplear un matraz de 300 ml si la reacción genera espuma en exceso.] Inclinar el matraz a 45° y agregar, con cuidado, unos pocos ml de una mezcla de 8 ml de ácido sulfúrico y 10 ml de ácido nítrico. Calentar suavemente hasta que la reacción comience, dejar que la reacción disminuya y proceder según se indica en *Si la sustancia es un sólido*, comenzando donde dice "*agregar porciones adicionales de la misma mezcla hasta un volumen final de 18 ml...*".

Procedimiento - Tratar la *Solución muestra* y la *Solución estándar* del siguiente modo: ajustar a pH entre 3,0 y 4,0, empleando papel indicador de pH de intervalo estrecho, con hidróxido de amonio (puede emplearse una solución de amoníaco diluido, cuando el intervalo especificado es estrecho), agregar agua hasta 40 ml y mezclar. Agregar a cada tubo 1,2 ml de tioacetamida-glicerina básica (SR) y 2 ml de *Solución reguladora de acetato pH 3,5*, diluir a

50 ml con agua, mezclar, dejar reposar durante 5 minutos y observar longitudinalmente sobre una superficie blanca: el color de la *Solución muestra*

no debe ser más oscuro que el de la *Solución estándar*.

600. LIMITE DE PLOMO

Para este ensayo se deben almacenar todos los reactivos y soluciones en envases de vidrio al borosilicato. Lavar perfectamente todos los materiales de vidrio a emplear con ácido nítrico diluido 1 en 2 y luego con agua.

Precaución - Todo este procedimiento debe realizarse bajo campana. El operador debe extremar las medidas de seguridad ya que puede liberarse ácido cianhídrico y algunas sustancias pueden producir explosiones violentas cuando son digeridas con peróxido de hidrógeno.

Reactivos

Solución de amoníaco-cianuro - Disolver 2 g de cianuro de potasio en 15 ml de hidróxido de amonio y diluir con agua a 100 ml.

Solución de ditizona para extracción - Disolver 30 mg de ditizona en 1 litro de cloroformo y agregar 5 ml de alcohol. Almacenar esta solución en un sitio frío. Antes de emplear, agitar un volumen determinado de esta solución con aproximadamente la mitad de su volumen de ácido nítrico diluido (1 en 100) en una ampolla de decantación y descartar el ácido nítrico.

Solución de citrato de amonio - Disolver 40 g de ácido cítrico en 90 ml de agua. Agregar 2 ó 3 gotas de rojo de fenol (SR) y luego agregar, cuidadosamente, hidróxido de amonio hasta que la solución se torne de color rojizo. Extraer el plomo que pudiera estar presente en la solución, con porciones de 20 ml de *Solución de ditizona para extracción*, hasta que ésta mantenga su color verde anaranjado.

Solución estándar de plomo diluida - Diluir un volumen, exactamente medido, de Solución estándar de plomo (ver 590. *Límite de metales pesados*) que contenga 10 µg de plomo por ml (10 ppm) con 9 volúmenes de ácido nítrico diluido (1 en 100), hasta obtener una solución que contenga 1 µg de plomo por ml (1 ppm).

Solución de clorhidrato de hidroxilamina - Disolver 20 g de clorhidrato de hidroxilamina en cantidad suficiente de agua y diluir hasta obtener 65 ml de solución. Transferir a una ampolla de decantación y agregar 5 gotas de azul de timol (SR). Luego agregar hidróxido de amonio hasta que la solución adquiera un color amarillo. Agregar 10 ml de una solución de dietilditiocarbamato de sodio (1 en 25), mezclar y dejar en reposo 5 minutos. Extraer esta solución con porciones sucesivas de 10 a 15 ml de cloroformo hasta que una porción de 5 ml del extracto clorofórmico no presente un color amarillo cuando se agita con sulfato cúprico (SR).

Agregar ácido clorhídrico 3 N hasta que la solución se torne de color rosado y luego diluir con agua a 100 ml.

Solución de cianuro de potasio - Disolver 50 g de cianuro de potasio en 100 ml de agua. Extraer el plomo de esta solución con porciones sucesivas de *Solución de ditizona para extracción*, según se indica en *Solución de citrato de amonio* y luego agitar con cloroformo para extraer cualquier resto de ditizona. Finalmente diluir con cantidad suficiente de agua para obtener una solución con una concentración al 10 % de cianuro de potasio.

Solución estándar de ditizona - Disolver 10 mg de ditizona en 1 litro de cloroformo. Almacenar esta solución en envase inactivo, con tapón de vidrio, exento de plomo. Conservar esta solución en un sitio frío.

Solución muestra - Cuando en la monografía no se especifique la preparación de la *Solución muestra*, proceder del siguiente modo.

Transferir 1,0 g de la muestra, exactamente pesado, a un matraz aforado. Agregar 5 ml de ácido sulfúrico y unas perlas de vidrio. Calentar lentamente sobre una placa calefactora hasta que comience la carbonización. [NOTA: si la muestra reacciona rápidamente y antes de calentar comienza a carbonizarse con los 5 ml de ácido sulfúrico, emplear en su lugar 10 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 2), enfriar y agregar unas gotas de peróxido de hidrógeno antes del calentamiento.] Si fuera necesario, agregar ácido sulfúrico hasta impregnar la muestra completamente en un volumen total que no exceda los 10 ml. Agregar lentamente peróxido de hidrógeno al 30 %, mezclar con cuidado para evitar una reacción rápida y discontinuar el calentamiento si la formación de espuma es excesiva. Agitar por rotación la solución en el matraz para impedir que la muestra que no haya reaccionado se aglutine en las paredes del mismo. Agregar más peróxido de hidrógeno si la mezcla se oscurece. Continuar el calentamiento hasta que se desprendan gases copiosos de trióxido de azufre y la solución se torne incolora. Enfriar y agregar, con cuidado, 10 ml de agua, evaporar hasta que nuevamente se desprendan gases de trióxido de azufre y enfriar. Repetir este procedimiento con otros 10 ml de agua para eliminar el peróxido de hidrógeno remanente. Diluir con 10 ml de agua y enfriar.

Procedimiento - Transferir la *Solución muestra* o el volumen de *Solución muestra* especificado en la monografía correspondiente a una ampolla de decantación. [NOTA: si fuera necesario, lavar con

10 ml de agua.] Agregar 6 ml de *Solución de citrato de amonio* y 2 ml de *Solución de clorhidrato de hidroxilamina*. [NOTA: para la determinación de plomo en sales de hierro emplear 10 ml de *Solución de citrato de amonio*.] Agregar 2 gotas de rojo de fenol (SR) y alcalinizar la solución, mediante el agregado de hidróxido de amonio, hasta que se torne de color rojo. Si fuera necesario, enfriar la solución y agregar 2 ml de *Solución de cianuro de potasio*. De inmediato, extraer la solución con porciones de 5 ml de *Solución de ditizona para extracción* y eluir cada extracto en otra ampolla de decantación, hasta que la solución de ditizona mantenga su color verde. Agitar las soluciones combinadas durante 30 segundos con 20 ml de ácido nítrico diluido (1 en 100) y descartar la fase clorofórmica. Agregar a la solución ácida 5,0 ml de *Solución estándar de ditizona* y 4 ml de *Solución de amoníaco-cianuro*. Agitar durante 30 segundos: el color violeta de la fase clorofórmica no debe ser más intenso que el de una solución control preparada con un volumen de *Solución estándar de plomo diluida*.

610. LÍMITE DE SELENIO

Solución madre de selenio - Transferir 40,0 mg de selenio metálico a un matraz aforado de 1 litro. Disolver en 100 ml de ácido nítrico diluido (1 en 2) y, si fuera necesario, calentar suavemente para completar la disolución. Diluir a volumen con agua y mezclar. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Cada ml de la solución resultante contiene el equivalente a 1 µg de selenio.

Solución de diaminonaftaleno - Disolver 100 mg de 2,3-diaminonaftaleno y 500 mg de clorhidrato de hidroxilamina en ácido clorhídrico 0,1 N para obtener 100 ml de solución. Preparar la solución el día del ensayo.

Solución estándar de selenio - Transferir 6 ml de *Solución madre* a un vaso de precipitados de 150 ml. Agregar 25 ml de agua y 25 ml de ácido nítrico diluido (1 en 30).

Solución muestra - Proceder según se indica en 60. *Combustión en erlenmeyer con oxígeno*, empleando 100 ó 200 mg de muestra, un erlenmeyer de combustión de 1 litro y 25 ml de ácido nítrico diluido (1 en 30), como líquido absorbente, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente. [NOTA: la combustión completa de la muestra es un factor importante en la realización de este ensayo. Cuando se especifique en la monografía correspondiente, agregar óxido de magnesio para obtener una combustión total.] Una vez finalizada la combustión, colocar unos ml de agua en el reservorio del erlenmeyer, aflojar el tapón y lavar con 10 ml de agua los componentes del aparato. Con la ayuda de 20 ml de agua, transferir la solución a un vaso de precipitados de 150 ml y calentar suavemente a temperatura de ebullición durante 10 minutos. Dejar enfriar a temperatura ambiente.

Solución blanco - Preparar una mezcla de 25 ml de agua y 25 ml de ácido nítrico diluido (1 en 30).

Procedimiento - Proceder con la *Solución estándar de selenio*, la *Solución muestra* y la *Solución blanco* en sucesión inmediata y en paralelo según se indica a continuación. Ajustar a pH $2,0 \pm 0,2$ con solución de hidróxido de amonio (1 en 2). Diluir con agua a 60 ml y transferir a una ampolla de decantación de vidrio inactínico. Lavar los vasos de precipitados respectivos con 10 ml de agua y transferirlos a la ampolla de decantación. Agregar 200 mg de clorhidrato de hidroxilamina, agitar e inmediatamente agregar 5,0 ml de *Solución de diaminonaftaleno* y mezclar. Dejar la solución a temperatura ambiente durante 100 minutos. Agregar 5,0 ml de ciclohexano, agitar

vigorosamente durante 2 minutos y dejar que las fases se separen. Descartar la fase acuosa y centrifugar el extracto de ciclohexano para separar el agua dispersada. Determinar las absorbancias de los extractos de ciclohexano de la *Solución muestra* y la *Solución estándar de selenio* en celdas de 1 cm, a 380 nm con un espectrofotómetro, empleando como blanco el extracto de ciclohexano de la *Solución blanco*. Comparar las absorbancias. Si la cantidad de muestra a ensayar es de 200 mg, la absorbancia de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la absorbancia de la *Solución estándar de selenio*. Si la cantidad de muestra a ensayar es de 100 mg, la absorbancia de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la mitad de la absorbancia de la *Solución estándar de selenio*.

620. MATERIALES VOLUMÉTRICOS

La exactitud de los resultados analíticos depende de las características de los materiales volumétricos empleados. Estos materiales deben elegirse de manera de asegurar el grado de exactitud requerido.

La mayoría de los materiales volumétricos están calibrados a 20 °C, aunque la temperatura generalmente especificada en los ensayos y valoraciones farmacopeicas es 25 °C, esta diferencia es irrelevante si se considera que la temperatura ambiente del laboratorio se mantiene relativamente constante.

La calibración del material volumétrico se realiza de dos maneras diferentes: calibración por contenido (generalmente identificada como "In") y calibración por vertido (generalmente identificada como "Ex").

En los materiales volumétricos calibrados por contenido, la cantidad de líquido contenida corresponde exactamente al volumen indicado. Por el contrario, la cantidad de líquido vertida está reducida en la cantidad de líquido que permanece adherida a la pared del vidrio. En los materiales volumétricos calibrados por vertido, la cantidad de

líquido vertida corresponde exactamente al volumen indicado, pues la cantidad de líquido que permanece adherida a la pared del vidrio se tuvo en cuenta al realizar la calibración.

El material volumétrico para laboratorio se clasifica en Clase A y Clase B de acuerdo al error máximo permitido. En general, el error máximo permitido para la Clase B es el doble del permitido para la Clase A. En esta Farmacopea se emplea material Clase A a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente.

Los errores máximos permitidos para matraces aforados, pipetas aforadas y buretas se indican en las *Tablas 1, 2 y 3*.

Las pipetas graduadas y aforadas calibradas por vertido se desagotan en posición vertical y luego se completa el drenaje tocando la punta de la pipeta contra la pared del recipiente en el cual se transfiere el líquido. La lectura de volúmenes en buretas se estima a la división más cercana.

Las pipetas calibradas por contenido se emplean generalmente para medir líquidos viscosos. Este tipo de pipetas se puede reemplazar por un matraz aforado.

Tabla 1. Capacidad y errores máximos permitidos para matraces aforados.

Capacidad (ml)	Errores máximos permitidos	
	Clase A (ml)	Clase B (ml)
5	±0,025	±0,05
10	±0,025	±0,05
25	±0,04	±0,08
50	±0,06	±0,12
100	±0,10	±0,20
200	±0,15	±0,30
250	±0,15	±0,30
500	±0,25	±0,50
1.000	±0,40	±0,80
2.000	±0,60	±1,20

Tabla 2. Capacidad y errores máximos permitidos para pipetas aforadas.

Capacidad (ml)	Capacidad y errores máximos permitidos para pipetas aforadas	
	Clase A (ml)	Clase B (ml)
0,5	±0,005	±0,01
1	±0,007	±0,015
2	±0,01	±0,02
5	±0,015	±0,03
10	±0,02	±0,04
20	±0,03	±0,06
25	±0,03	±0,06
50	±0,05	±0,10
100	±0,08	±0,16

Tabla 3. Capacidad y errores máximos permitidos para buretas.

Capacidad (ml)	Menor división de la escala (ml)	Errores máximos permitidos	
		Clase A (ml)	Clase B (ml)
5	0,02	±0,01	±0,02
10	0,02	±0,02	±0,05
10	0,05	±0,02	±0,05
25	0,05	±0,03	±0,05
25	0,1	±0,05	±0,1
50	0,1	±0,05	±0,1
100	0,2	±0,1	±0,2

630. MÉTODOS DE FARMACOGNOSIA

Definición de Droga Vegetal - Se denomina así a las plantas o sus partes enteras, molidas o pulverizadas (flores, frutos, semillas, tubérculos, cortezas, etc.) frescas o secas, así como los jugos, gomas, látex, aceites esenciales o fijos y otros componentes similares, que se emplean puras o mezcladas en la elaboración de medicamentos.

Debido a las características de las drogas vegetales, en particular su falta de homogeneidad, se requieren procedimientos especiales en relación a los ensayos a realizar.

MUESTREO

Los siguientes procedimientos de muestreo constituyen las consideraciones mínimas aplicables a las drogas vegetales. Algunos productos o ensayos pueden requerir procedimientos más estrictos que incluyan el muestreo de mayor número de envases y/o más muestras por envase.

Si el examen externo de los envases y rótulos indica que puede considerarse el lote como homogéneo, tomar muestras individuales de un número de envases seleccionados aleatoriamente según se indica a continuación. Si el lote no puede considerarse homogéneo, fraccionarlo en sublotes que sean lo más homogéneos posible y realizar el muestreo con cada uno como un lote homogéneo.

N° de envases por lote (<i>N</i>)	N° de envases a Muestrear (<i>n</i>)
1 a 5	todos
6 a 50	5
> a 50*	10 % de los envases

* Redondear *N* al múltiplo de diez próximo superior.

Las muestras se deben tomar de las secciones superior, media e inferior de cada envase y en diferentes sitios. En el caso de los polvos o material compuesto por fragmentos de 1 cm o menos en cualquier dimensión, retirar la muestra a través de un dispositivo de muestreo que permita tomar el material desde la parte superior hasta el fondo del envase. Si el material está compuesto por fragmentos mayores de 1 cm en cualquier dimensión, retirar las muestras en forma manual. En el caso de fardos o bolsas grandes, las muestras deben tomarse a más de 10 cm de los bordes porque el contenido de humedad de la capa superficial puede ser diferente que el de las capas internas.

Combinar y mezclar las muestras tomadas de cada envase abierto, evitando aumentar el grado de fragmentación o modificar significativamente el contenido de humedad. Disponer la muestra así

preparada en forma de cuadrado y fraccionarla diagonalmente en cuatro partes iguales. Tomar luego dos partes opuestas y mezclarlas cuidadosamente. Repetir el procedimiento, si fuera necesario, hasta obtener la cantidad requerida para realizar todos los ensayos necesarios (cuarteo).

Sólo si se indica, moler la muestra para que pase a través de un tamiz N° 20 y mezclar el polvo resultante. Si el material no puede ser molido, reducirlo al estado más fino posible.

ANÁLISIS MICROSCÓPICO

Cortes y coloración

Hidratación o ablandamiento - Colocar en un vaso de precipitados una cantidad apropiada de material con 20 a 30 veces su volumen de agua. Colocar sobre una plancha calefactora o una tela metálica, calentar suavemente hasta ebullición y mantenerla durante 5 minutos. Si el material no puede ser cortado después de hidratarlo, se procede a ablandarlo hirviéndolo durante 5 minutos en agua con detergente y ensayando su consistencia. Si se considera que aún no está lo suficientemente blando como para ser cortado, colocar una cantidad apropiada del material en un vaso de precipitados que contenga un volumen apropiado de etilenglicol. Ensayar periódicamente la consistencia del material. Para futuros análisis, determinar el tiempo que tarda cada material en adquirir una consistencia tal que permita su corte.

Cortes - Obtener secciones transversales delgadas del material vegetal. Esto se logra cortando a mano alzada o mediante el empleo de micrótopo. [NOTA: en el caso de la obtención de transcortes de hoja, resulta necesario el empleo de un soporte para poder cortar. Generalmente se coloca la hoja entre dos semicilindros de médula de sauco o de hinojo y se procede a cortar todo junto.]

Los instrumentos cortantes pueden ser hoja de afeitar, bisturí o cuchilla para histología.

Los cortes se colocan en un recipiente con agua (vidrios de reloj, vasos de precipitados de 30 ml). Se seleccionan los más delgados para observación al microscopio a 10x.

Coloración - Sumergir los cortes en solución de hipoclorito de sodio al 50 % para eliminar el contenido celular. Dejar actuar hasta que los cortes se vuelvan transparentes (no más de 10 a 15 minutos). Lavar los cortes con agua hasta eliminación del hipoclorito de sodio, pH neutro. Colocar los cortes en solución de azul de toluidina al 0,05 %, durante 10 segundos. Lavar con agua luego con solución de ácido acético al 0,5 % y por

último nuevamente con agua. Colocar entre porta y cubreobjetos con 2 a 3 gotas de una mezcla de glicerina-agua (1:1) y observar al microscopio a 10x y 40x. Las paredes celulósicas se tiñen de rosa púrpura. Las paredes lignificadas y las paredes con tanino se tiñen de color azul verdoso brillante. [NOTA: la coloración así obtenida no es estable.]

Observación de la droga en polvo

Observación directa - Colocar 2 a 10 mg de la droga en polvo sobre un portaobjetos. Agregar 2 ó 3 gotas de solución de ácido láctico al 5 % (diafanizante) y colocar el cubreobjetos. Observar al microscopio a 10x y 40x.

Reacciones histoquímicas -

Detección de almidón - Colocar 2 a 10 mg de la droga en polvo sobre un portaobjetos. Verter 2 ó 3 gotas de Solución de Lugol (SR) diluida (1:5) en agua. Colocar el cubreobjetos y observar al microscopio a 10x y 40x. Los granos de almidón se colorean de azulvioláceo intenso.

Detección de lípidos y aceites esenciales - Colocar 2 a 10 mg de la droga en polvo sobre un portaobjetos. Verter 2 ó 3 gotas de solución de Sudan III (SR) y dejar actuar durante 2 ó 3 minutos. Escurrir el líquido y lavar bien con alcohol 70 %. Colocar el cubreobjetos y observar al microscopio a 10x y 40x. Los lípidos aparecen como gotas de color rojo.

Detección de concreciones de carbonato de calcio (cistolitos) y de cristales de oxalato de calcio - Colocar 2 a 10 mg de la droga en polvo sobre un portaobjetos. Verter 2 ó 3 gotas de ácido clorhídrico 2 M, con la precaución de que el reactivo esté en íntimo contacto con todos los componentes del polvo. Colocar el cubreobjetos y observar inmediatamente al microscopio a 10x. La presencia de carbonato de calcio está indicada por la aparición de burbujas. Los cristales de oxalato de calcio, que en general tardan más tiempo en disolverse, no desprenden burbujas.

Detección de taninos - Colocar 2 a 3 mg de la droga en polvo sobre un portaobjetos. Verter 2 ó 3 gotas de solución de cloruro férrico al 5 %. Colocar el cubreobjetos y observar al microscopio a 10x y 40x. La presencia de taninos se traduce en la aparición de masas oscuras de color pardo, azul o negro.

Obtención de disociados

Disociación leve o débil - Este método se emplea principalmente para el análisis de hojas, tallos herbáceos y cortezas. Los cristales se conservan. Los almidones pierden su estructura característica.

Colocar en un vaso de precipitados de 30 ml una porción del material vegetal. Agregar 10 ml de solución de hidróxido de sodio al 5 % y llevar a ebullición durante 5 minutos. Enfriar. Trasvasar a un tubo de centrifuga. Centrifugar durante 2 minutos a 3000 rpm. Descartar la solución sobrenadante. Lavar con agua. Colocar una porción del centrifugado sobre un portaobjetos con 2 ó 3 gotas de una mezcla de glicerina-agua (1:1). Colocar el cubreobjetos y terminar la disgregación ejerciendo presión. Observar al microscopio a 10x y 40x.

Disociación fuerte - Este método se emplea principalmente para el análisis de leños, tegumentos de semillas y endocarpios esclerosados-carozos. No se conservan los cristales ni los almidones.

Colocar en un vaso de precipitados de 30 ml una porción del material vegetal. Agregar 10 ml de solución de hidróxido de potasio al 10 % y llevar a ebullición durante 10 minutos. Enfriar. Eliminar cuidadosamente la solución sobrenadante. Lavar con agua. Colocar el material vegetal en un tubo de centrifuga. Agregar 10 ml de solución de ácido crómico al 25 % y dejar actuar durante un tiempo no inferior a 30 minutos a temperatura ambiente. Ensayar la consistencia del material vegetal con una varilla de vidrio. Cuando esté lo suficientemente blando, centrifugar durante 2 minutos a 3000 rpm. Descartar el sobrenadante y lavar con agua hasta eliminar totalmente el color amarillo del ácido crómico. Colocar una porción del centrifugado sobre un portaobjetos con 2 ó 3 gotas de una mezcla de glicerina-agua (1:1). Colocar el cubreobjetos y terminar la disgregación ejerciendo presión. Observar al microscopio a 10x y 40x.

Determinación del índice de estomas

(Se emplea para hojas). Es el número de estomas por cada 100 células epidérmicas en un área fija.

Delimitar sobre una hoja de papel, con ayuda de una cámara clara, de un tubo de dibujo o de un ocular de dibujo, un área de 2 mm de lado empleando un micrómetro objetivo, observando con objetivo de 5x y ocular de 8x.

Colocar un trozo de hoja de 0,5 cm x 0,5 cm en un vaso de precipitados de 30 ml. Agregar 10 ml de una mezcla de hidrato de cloral y agua (5:2). Llevar a ebullición durante 10 a 15 minutos o hasta que el trozo se vuelva transparente. Esta operación se realiza bajo campana.

Colocar el trozo de hoja sobre un portaobjetos con la epidermis inferior hacia arriba. Agregar 2 ó 3 gotas de la mezcla de hidrato de cloral y agua y colocar el cubreobjetos. Contar las células epidérmicas y los estomas que aparecen en el área

delimitada empleando un objetivo de 40x. Las dos células estomáticas se cuentan como una sola.

El índice de estomas se calcula por la fórmula siguiente:

$$\frac{S}{S + E} 100$$

en la cual *S* es el número de estomas y *E* el número de células epidérmicas en el área delimitada.

MÉTODOS DE ANÁLISIS

Materia extraña

Se considera materia extraña a cualquier parte de la planta medicinal que no esté comprendida en la definición o en la descripción de la monografía correspondiente; cualquier organismo, parte o producto de un organismo no comprendido en la definición o en la descripción; o residuos minerales, como por ej., tierra, piedras, arena o polvo.

Durante el almacenamiento, los productos deben mantenerse en un área limpia, de modo de evitar su contaminación. Deben tomarse precauciones especiales para evitar la proliferación de hongos dado que algunos de ellos pueden generar aflatoxinas.

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, obtener por cuarteo las siguientes cantidades de muestra:

<i>Raíces, rizomas, cortezas</i>	
<i>y plantas enteras.....</i>	500 g
<i>Hojas, flores, semillas y frutos.....</i>	250 g
<i>Drogas vegetales en fragmentos</i>	
<i>de 0,5 g o menores.....</i>	50 g

Extender la muestra en una capa delgada y separar la materia extraña a mano, en la forma más completa posible. Pesarla y determinar el porcentaje de materia extraña a partir de la cantidad de droga empleada.

Cenizas totales

Pesar exactamente una cantidad de muestra, obtenida según se indica en *Muestreo*, que represente de 2 a 4 g del material; molerla para que pase a través de un tamiz N° 20 y secarla al aire en un crisol previamente pesado. Someter a calcinación, suavemente al principio, y aumentar gradualmente la temperatura hasta 675 ± 25 °C. Continuar la calcinación hasta eliminar el residuo carbonoso y determinar el peso de las cenizas. Si de esta forma no se obtienen cenizas libres de residuo carbonoso, extraer la masa carbonizada con agua caliente. Recolectar el residuo insoluble en un papel de filtro libre de cenizas, calcinar el residuo y el papel de filtro hasta que las cenizas sean blancas

o casi blancas. Luego, agregar el filtrado, evaporarlo hasta sequedad y calentar a 675 ± 25 °C. Si de esta forma no se obtienen cenizas libres de residuo carbonoso, enfriar el crisol, agregar 15 ml de alcohol, disgregar las cenizas con una varilla de vidrio, quemar el alcohol y calentar nuevamente a 675 ± 25 °C. Enfriar en un desecador, pesar las cenizas y calcular el porcentaje de cenizas totales a partir de la cantidad de droga empleada.

Cenizas insolubles en ácido

Calentar a ebullición las cenizas obtenidas según se indica en *Cenizas totales*, con 25 ml de ácido clorhídrico 3 M durante 5 minutos. Recolectar el material insoluble en un crisol filtrante previamente pesado o en un filtro libre de cenizas lavado con agua caliente, llevar a temperatura de calcinación y pesar. Determinar el porcentaje de cenizas insolubles en ácido a partir del peso de droga empleada.

Extracto alcohólico

Método I (método de extracción caliente) - Transferir a un erlenmeyer con tapón de vidrio aproximadamente 4 g, exactamente pesados, del material en polvo grueso y secado al aire. Agregar 100 ml de alcohol y pesar el erlenmeyer. Agitar y dejar en reposo durante 1 hora. Conectar un refrigerante al erlenmeyer y calentar suavemente a ebullición durante 1 hora, enfriar y pesar. Ajustar nuevamente al peso original mediante el agregado de alcohol. Agitar y filtrar rápidamente a través de un filtro seco. Transferir 25 ml del filtrado a un cristallizador y evaporar hasta sequedad en baño de agua. Secar a 105 °C durante 6 horas, enfriar en un desecador durante 30 minutos y pesar inmediatamente. Calcular el contenido, en mg por g, de materia extraíble en alcohol en la muestra empleada.

Método II (método de extracción fría) - Transferir a un erlenmeyer con tapón de vidrio aproximadamente 4 g, exactamente pesados, de material en polvo grueso y secado al aire. Agregar 100 ml de alcohol, tapar el erlenmeyer y macerar durante 24 horas, agitando frecuentemente durante las primeras 8 horas y luego dejar reposar. Filtrar rápidamente, tomando precauciones para evitar la pérdida de alcohol. Evaporar 25 ml del filtrado hasta sequedad en un cristallizador previamente pesado y secar a 105 °C hasta peso constante. Calcular el contenido, en mg por g, de la materia extraíble en alcohol en la muestra empleada.

Extracto acuoso

Método I (método de extracción caliente) - Proceder según se indica para el *Método I* en

Extracto alcohólico, excepto que se debe emplear agua en lugar de alcohol.

Método II (método de extracción fría) - Proceder según se indica para el *Método II* en *Extracto alcohólico*, excepto que se debe emplear agua en lugar de alcohol.

Fibra cruda

Extraer con éter hasta agotar una cantidad exactamente pesada de la muestra que represente aproximadamente 2 g de la droga. Transferir la droga agotada a un balón de 500 ml y agregar 200 ml de ácido sulfúrico diluido (1:78) en agua a punto de ebullición. Conectar el balón a un refrigerante y calentar a reflujo la mezcla durante exactamente 30 minutos. Filtrar a través de un filtro de papel grueso o muselina y lavar el residuo retenido en el filtro con agua hirviendo hasta que los lavados no sean ácidos. Lavar el residuo en el balón con 200 ml de solución de hidróxido de sodio, libre de carbonato de sodio, aproximadamente a 100 °C, ajustada al 1,25 % mediante titulación. Calentar nuevamente a reflujo la mezcla durante exactamente 30 minutos, filtrar rápidamente a través de un filtro previamente pesado, lavar el residuo con agua hirviendo hasta que el último lavado sea neutro y secar a 110 °C hasta peso constante. Someter el residuo seco a calcinación hasta peso constante, enfriar en un desecador y pesar las cenizas obtenidas: la diferencia entre el peso obtenido por secado a 110 °C y el de las cenizas representa el peso de la fibra cruda. [NOTA: la ebullición con ácido y álcali debería continuar durante exactamente 30 minutos, desde el tiempo que el líquido (que se enfría debajo del punto de ebullición al agregarlo al balón frío)

hierva nuevamente. Luego de que la solución haya entrado en ebullición, se debe disminuir el calor lo suficiente como para que ésta se mantenga.

Durante la ebullición, rotar el balón suavemente, varias veces, para remover cualquier partícula que pueda quedar adherida a las paredes. Una corriente lenta de aire introducida en el balón durante la operación ayuda a impedir la excesiva formación de espuma].

Determinación de aceites esenciales

La determinación de aceites esenciales en vegetales se lleva a cabo mediante extracción por arrastre con vapor de agua en un aparato apropiado en las condiciones que se detallan a continuación. El aceite esencial es recolectado en un tubo graduado empleando xileno para fijarlo, mientras que el agua retorna al balón de extracción.

Aparato (ver *Figura 1*) - Consta de un balón con cuello corto esmerilado cuyo diámetro máximo interno es de 29 mm y de un condensado con junta esmerilada. Las diferentes partes de este condensador están construidas en una sola pieza de vidrio de bajo coeficiente de expansión. El tapón *K'* tiene una abertura y el tubo *K* posee un orificio de 1 mm de diámetro, el cual coincide con la ubicación de la abertura del tapón. El extremo final del tubo *K* es esmerilado y tiene un diámetro interno de 10 mm; un tubo en forma de pera *J* de 3 ml de capacidad; un tubo *JL* graduado en 0,01 ml; un tubo en forma de bulbo de aproximadamente 2 ml de capacidad y una válvula de tres vías *M*. La unión *B* se encuentra a 20 mm de la graduación máxima superior. El aparato posee un dispositivo apropiado para ser calentado.

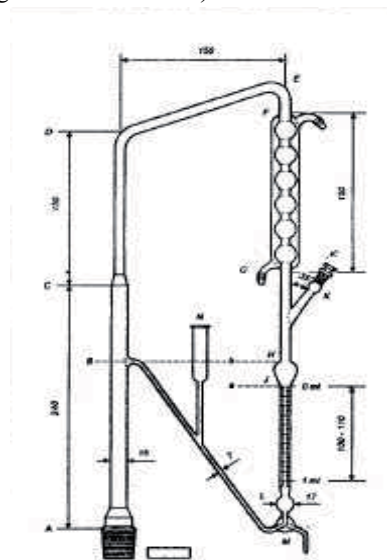


Figura 1. Aparato para la determinación de aceites esenciales en drogas vegetales (las dimensiones son mm).

Procedimiento - Llevar a cabo el ensayo de acuerdo con la naturaleza de la droga a ser examinada. Transferir al balón el volumen de líquido indicado en la monografía correspondiente, agregar algunos trozos de plato poroso y colocar el condensador. Introducir agua a través del tubo de llenado *N* hasta el nivel *B*. Quitar el tapón *K'* y transferir la cantidad indicada de xileno empleando una pipeta con su extremo en la parte inferior del tubo *K*. Colocar el tapón *K'* asegurándose que los orificios de *K* y *K'* coincidan entre sí. Calentar el líquido en el balón hasta ebullición y ajustar la velocidad de extracción a aproximadamente 2 ml

por minuto, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente.

Para determinar la velocidad de extracción, disminuir el nivel de agua por medio de la válvula de tres vías hasta que el menisco se encuentre en la marca inferior *a* (ver *Figura 2*). Cerrar la válvula y medir el tiempo que toma el líquido en alcanzar la marca superior *b*. Abrir la válvula y continuar con la extracción, modificando el calentamiento para regular la velocidad de extracción. Extraer durante 30 minutos. Detener el calentamiento y leer el volumen de xileno en el tubo graduado después de por lo menos 10 minutos.

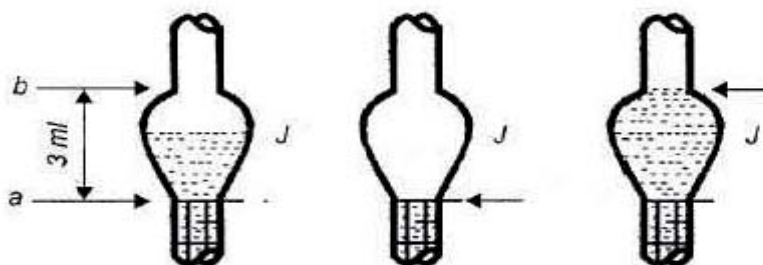


Figura 2.

Transferir el balón la cantidad de muestra especificada en la monografía correspondiente y continuar la extracción como se ha descrito anteriormente en tiempo y velocidad según se indique. Detener el calentamiento y después de 10 minutos leer el volumen de líquido recolectado en el tubo graduado y restarle el volumen de xileno anteriormente medido. Calcular el resultado en ml por cada 100 g de droga.

Cuando un aceite esencial se emplee para propósitos analíticos, la obtención de la mezcla de xileno y aceite esencial libre de agua se realiza como se detalla a continuación: quitar el tapón *K'* y transferir 1,1 ml de una solución de fluoresceinato de sodio al 0,1 % y 0,5 ml de agua. Disminuir el volumen de la mezcla de xileno y aceite esencial dentro del tubo *L* por medio de la válvula de tres vías; dejar en reposo durante 5 minutos y descargar la mezcla lentamente hasta alcanzar justo el nivel de la válvula *M*. Abrir la válvula en el sentido contrario a las agujas del reloj de manera tal que el agua fluya fuera del tubo de conexión *BM*. Lavar el tubo, primero con acetona y luego con tolueno, introducidos por el tubo de llenado *N*. Girar la llave en el sentido contrario a las agujas del reloj de manera tal que se pueda recuperar la mezcla de xileno y aceite esencial en un recipiente apropiado.

Pérdida por secado

Reducir 10 g de muestra a fragmentos de aproximadamente 3 mm de espesor. Las semillas o frutos más pequeños de 3 mm se deben fragmentar. Evitar el empleo de molinos de gran velocidad para preparar la muestra y tomar las precauciones necesarias para no modificar el contenido de humedad de la muestra. Pesar exactamente 10 g de droga en un cristizador previamente pesado. Secar a 105 °C durante 5 horas y pesar. Repetir el procedimiento de secado y pesado a intervalos de 1 hora hasta que la diferencia entre dos pesadas sucesivas corresponda a no más de 0,25 % de muestra.

RESIDUOS DE PESTICIDAS

La lista de pesticidas consignada para este ensayo es de carácter orientativo. Para mayor información consultar las resoluciones que a tal efecto emita la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos de la Nación.

Definición - Para los propósitos de esta Farmacopea, un pesticida es aquella sustancia o mezcla de sustancias empleadas para prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, especies de plantas o animales indeseables que puedan causar daño o interferir en la producción, procesamiento,

almacenamiento, transporte o comercialización de las drogas vegetales. El término incluye a sustancias empleadas como reguladores del crecimiento, desfoliantes o desecantes y cualquier otra sustancia aplicada para brindar una protección antes o después de la cosecha, o para prevenir el deterioro de la droga vegetal durante el almacenamiento o transporte.

Límites - A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente la muestra debe cumplir con los límites expresados en la *Tabla 1*. Los pesticidas que no figuren en la misma deben cumplir con las especificaciones dadas por las resoluciones que a tal efecto emita la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos de la Nación. Los límites para los pesticidas que no figuran en la *Tabla 1* se calculan por la fórmula siguiente:

$$\frac{IDA \times M}{DDD \times 100}$$

en la cual *IDA* es la ingesta diaria admisible, recomendada por la FAO, expresada en mg por kg de peso corporal, *M* es el peso corporal en kilogramo (considerar 60 kg) y *DDD* es la dosis diaria de la droga en kg.

Si la droga vegetal es empleada en la preparación de extractos, tinturas u otras formas farmacéuticas cuyo método de preparación modifique el contenido del pesticida en el producto final, el límite se calcula por la fórmula siguiente:

$$\frac{IDA \times M \times E}{DDD \times 100}$$

en la cual *E* es el factor de extracción del método de preparación, determinado experimentalmente.

Tabla 1.

Pesticida	Límite
Alaclor	0,02
Aldrin y dieldrin, suma de	0,05
Azinfos, metil	1
Bromopropilato	3
Cipermetrina (e isómeros)	1
Clordano (suma de cis-, trans- y oxiclordano)	0,05
Clorfenvinfos	0,5
Clorpirifos	0,2
Clorpirifos, metil	0,1
DDT (suma de p,p'-DDT, o, p'-DDE y p,p'-TDE)	1
Deltametrina	0,5
Diazinon	0,5
Diclorvos	1
Ditiocarbamatos (expresado como CS ₂)	2
Endosulfan (suma de isómeros y sulfato de endosulfano)	3
Endrin	0,05
Etion	2
Fenitrothion	0,5
Fenvalerato	1,5
Fonofos	0,05
Fosalono	0,1
Heptacloro (suma de heptacloro y heptacloro epóxido)	0,05
Hexaclorobenceno	0,1
Hexaclorociclohexano, isómeros (distintos de γ)	0,3
Lindano (γ-hexaclorociclohexano)	0,6
Malation	1
Metidation	0,2
Paration	0,5
Paration, metil	0,2
Permetrina	1
Piperonil, butóxido	3
Piretrinas, suma de	3
Pirimifos, metil	4

Quintozeno, suma de quintozeno, pentacloroanilina y metil 1
pentaclorofenil sulfuro)

Análisis cualitativo y cuantitativo de residuos de pesticidas

Los procedimientos analíticos empleados deben satisfacer los siguientes criterios: el método de extracción elegido debe ser apropiado para la combinación de pesticidas que se pretende

investigar y no provocar interferencias. Los límites de detección y cuantificación deben determinarse para cada combinación de pesticidas a ser analizada. La recuperación debe estar entre el 70 y 110 %. La repetitividad y reproducibilidad del método no debe ser menor que la indicada en la *Tabla 2*.

Tabla 2.

Concentración de pesticida (mg/kg)	Repetitividad (\pm mg/kg)	Reproducibilidad (\pm mg/kg)
0,01	0,005	0,01
0,1	0,025	0,05
1	0,125	0,25

Pesticidas organoclorados, organofosforados y piretroides

Los ensayos que se describen a continuación se emplean para el análisis de pesticidas, a menos que se especifique lo contrario en la monografía correspondiente. Dependiendo de la sustancia a analizar, puede ser necesario, en algunos casos, introducir modificaciones en los procedimientos descritos. En cualquier caso, puede ser necesario emplear otra columna con diferente polaridad u otro método de detección (espectrometría de masa, etc.) o un método diferente para confirmar los resultados obtenidos (métodos inmunoquímicos, etc.).

Este ensayo es válido solamente para el análisis de drogas vegetales con un contenido de agua menor de 15 %. Las muestras con mayor humedad pueden secarse, teniendo en cuenta que el procedimiento empleado no afecte significativamente el contenido de pesticida.

Extracción - A 10 g de muestra, en forma de polvo grueso, agregar 100 ml de acetona y dejar reposar durante 20 minutos. Agregar 1 ml de solución que contenga 1,8 μ g por 1 ml de carbofenotion en tolueno. Homogeneizar empleando un agitador de alta velocidad durante 3 minutos. Filtrar y lavar el residuo con dos porciones de acetona de 25 ml. Combinar el filtrado y los lavados en un balón y evaporar hasta casi sequedad en un evaporador rotatorio a una temperatura no mayor a 40 °C. Al residuo así obtenido, agregarle unos ml de tolueno y continuar con el calentamiento a la temperatura especificada anteriormente hasta evaporación total de la acetona. Disolver el residuo en 8 ml de tolueno. Filtrar a través de una membrana

filtrante de 45 μ m, lavar el balón y el filtrado de tolueno. Diluir a 10 ml con el mismo solvente. Denominar esta solución como *Solución A*.

Purificación -

Pesticidas organoclorados, o ganofosforados y piretroides - Emplear una columna de 30 cm x 7,8 mm para cromatografía (ver 100. *Cromatografía*) con fase estacionaria constituida por copolímero rígido, esférico de divinilbenceno y estireno, de 5 μ m de diámetro. Emplear tolueno como fase móvil. El caudal es de aproximadamente 1 ml por minuto.

Para verificar la aptitud de la columna, inyectar 100 μ l de una solución en tolueno que contenga 0,5 mg por ml de rojo de metilo y 0,5 mg por ml de azul de oracet 2R y proceder con la cromatografía. La columna es apta si los colores del eluato cambian de anaranjado a azul en un volumen de elución de aproximadamente 10,3 ml. Calibrar la columna, si fuera necesario, empleando una solución en tolueno que contenga una concentración apropiada del pesticida a ser analizado de menor peso molecular (por ej., diclorvos) y aquél de mayor peso molecular (por ej., deltametrina). Determinar en qué fracción del eluato se encuentran ambos pesticidas.

Purificación de la solución - Inyectar un volumen apropiado de *Solución A* (100 a 500 μ l) y proceder con la cromatografía. Recolectar las fracciones según se indicó anteriormente e identificarlas como *Solución B*. Los pesticidas organofosforados generalmente eluyen entre 8,8 y 10,9 ml, y los organoclorados y piretroides lo hacen entre 8,5 y 10,3 ml.

Pesticidas organoclorados y piretroides - Emplear una columna cromatográfica de 10 cm x 5 mm. Introducir un trozo de lana de vidrio y 0,5 g de gel de sílice para cromatografía tratada según se indica a continuación: calentar el gel de sílice para

cromatografía en una estufa a 150 °C durante 4 horas. Dejar enfriar y agregar gota a gota una cantidad de agua equivalente a 1,5 % de la masa de gel de sílice empleada, agitar vigorosamente hasta que desaparezcan los grumos y continuar agitando durante 2 horas empleando un agitador mecánico. Acondicionar la columna empleado 1,5 ml de hexano. [NOTA: pueden emplearse columnas empacadas con 0,5 g de gel de sílice apropiado si su empleo ha sido previamente validado].

Concentrar la *Solución B* hasta casi sequedad bajo una corriente de helio o nitrógeno libre de oxígeno y diluir a un volumen apropiado con tolueno (200 µl a 1 ml de acuerdo con el volumen inyectado en la preparación de la *Solución B*). Transferir cuantitativamente a la columna y eluir con 1,8 ml de tolueno. Recolectar el eluato e indentificarlo como *Solución C*.

Análisis cuantitativo

Pesticidas organofosforados -

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de nitrógeno-fósforo o un detector de ionización a la llama y una columna de sílice fundida de 30 m x 0,32 mm con una fase estacionaria constituida por una capa de dimetilpolisiloxano de 0,25 µm de espesor. Mantener la columna a 80 °C durante 1 minuto, luego aumentar la temperatura a razón de 30 °C por minuto hasta 150 °C, mantener a esa temperatura durante 3 minutos. Aumentar la

temperatura a razón de 4 °C por minuto hasta 280 °C y mantener a esta temperatura durante 1 minuto. Mantener el inyector y el detector a 250 y 275 °C, respectivamente. Se emplea hidrógeno como gas transportador.

[NOTA 1: pueden emplearse otros gases transportadores como nitrógeno o helio si su empleo ha sido previamente validado].

[NOTA 2: emplear carbofenotion como estándar interno; en ciertos casos puede ser necesario emplear un segundo estándar interno para identificar una posible interferencia con el pico correspondiente al carbofenotion].

Soluciones estándar - Preparar al menos tres soluciones en tolueno, que contengan los insecticidas a determinar y carbofenotion en concentraciones apropiadas para obtener una curva de calibración.

Solución muestra - Concentrar la *Solución B* bajo una corriente de helio o nitrógeno libre de oxígeno hasta casi sequedad y diluir a 100 µl con tolueno.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo los volúmenes elegidos para cada solución, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos. Los tiempos de retención relativos aproximados se indican en la *Tabla 3*. [NOTA: los valores tabulados son orientativos y se transcriben para dar una idea de la secuencia en que eluyen las sustancias].

Calcular el contenido de pesticida a partir de las respuestas de los picos y las concentraciones de las soluciones empleadas.

Tabla 3.

Sustancia	Tiempos de retención relativos
Diclorvos	0,20
Fonofos	0,50
Diazinon	0,52
Paration, metil	0,59
Cloropirifos, metil	0,60
Pirimifos, metil	0,66
Malation	0,67
Paration	0,69
Cloropirifos	0,70
Metidation	0,78
Etion	0,96
Carbofenotion	1,00
Azinfos, metil	1,17
Fosalon	1,18

Pesticidas organoclorados y piretroides -

Sistema cromatográfico - Emplear un cromatógrafo de gases equipado con un detector de captura electrónica y una columna de sílice fundida de 30 m x 0,32 mm con fase estacionaria constituida por una capa de dimetilfenilpolisiloxano de 0,25 µm de espesor. Mantener la columna a

80 °C durante 1 minuto, aumentar la temperatura a razón de 30 °C por minuto hasta 150 °C, mantener esa temperatura durante 3 minutos. Aumentar la temperatura a razón de 4 °C por minuto hasta 280 °C y mantener a esta temperatura durante de 1 minuto. Mantener el inyector y el detector a 250

y 275 °C, respectivamente. Se emplea hidrógeno como gas transportador.

[NOTA 1: pueden emplearse otros gases transportadores como nitrógeno o helio si su empleo ha sido previamente validado].

[NOTA 2: emplear carbofenotion como estándar interno, en ciertos casos puede ser necesario emplear un segundo estándar interno para identificar una posible interferencia con el pico correspondiente al carbofenotion].

Soluciones estándar - Preparar al menos tres soluciones en tolueno, que contengan los pesticidas a determinar y carbofenotion en concentraciones apropiadas para obtener una curva de calibración.

Solución muestra - Concentrar la *Solución C* bajo una corriente de helio o nitrógeno libre de oxígeno hasta casi sequedad y diluir a 500 µl con tolueno.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo los volúmenes elegidos para cada solución, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos. Los tiempos de retención relativos aproximados se indican en la *Tabla 4*. [NOTA: los valores tabulados son orientativos y se transcriben para dar una idea de la secuencia en que eluyen-las sustancias].

Calcular el contenido de pesticida a partir de las respuestas de los picos y las concentraciones de las soluciones empleadas.

Tabla 4.

Sustancia	Tiempos de retención relativos
α-Hexaclorociclohexano	0,44
Hexaclorobenceno	0,45
β-Hexaclorociclohexano	0,49
Lindano	0,49
δ-Hexaclorociclohexano	0,54
ε-Hexaclorociclohexano	0,56
Heptacoloro	0,61
Aldrin	0,68
cis-Heptacoloro epóxido	0,76
p,p'-DDE	0,81
α-Endosulfan	0,82
Dieldrin	0,87
p,p'-DDE	0,87
o,p'-DDD	0,89
Endrin	0,91
β-Endosulfan	0,92
o,p'-DDT	0,95
Carbofenotion	1,00
p,p'-DDT	1,02
cis-Permetrina	1,29
trans-Permetrina	1,31
Cipermetrina*	1,40
Fenvalerato*	1,47
	1,49
Deltametrina	1,54

La sustancia presenta varios picos

CONTROL HIGIÉNICO

Proceder según se indica en <90>. *Control higiénico de productos no obligatoriamente*

estériles y en <110>. Determinación de aflatoxinas. Los límites permitidos son los establecidos en la *Tabla 5*.

Tabla 5.

	Materias primas y productos terminados destinados a la preparación de infusiones	Productos terminados de uso tópico	Productos terminados de uso oral
Recuento de aerobios viables	No más de 10 ⁷ ufc/g	No más de 10 ⁴ uf/g	No más de 10 ⁴ uf/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia en un gramo	Ausencia en un gramo	Ausencia en un gramo
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	Ausencia en un gramo	-
<i>Salmonella</i> spp.	Ausencia en un gramo	-	Ausencia en un gramo
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia en un gramo	-	Ausencia en un gramo
Anaerobios sulfito-reductores	Ausencia en un gramo	-	Ausencia en un gramo
Recuento de Enterobacteriaceae	No más de 10 ⁴ ufc/g	No mas de 10 ² ufc/g	No mas de 10 ² ufc/g
Recuento de hongos y levaduras	No más de 10 ⁴ ufc/g	No mas de 10 ² ufc/g	No mas de 10 ² ufc/g
Aflatoxinas	No más de 20 µg/kg*	Ausencia en un gramo	Ausencia en un gramo

*siempre que B₁ no supere los 5 µg por kg.

640. OSMOLARIDAD Y OSMOLALIDAD

La concentración osmolar se expresa en osmoles de soluto por litro de solución, pero generalmente se emplea el submúltiplo miliosmoles (mosmol) de soluto por litro de solución. Idealmente, el peso de un osmol es el peso de la molécula gramo de una sustancia dividido por el número de iones o especies químicas osmóticamente activas (n) formados con la disolución. En soluciones ideales, por ejemplo, $n = 1$ para glucosa, $n = 2$ para cloruro de sodio o sulfato de magnesio, $n = 3$ para el cloruro de calcio y $n = 4$ para el citrato de sodio.

La concentración osmolar ideal puede determinarse por la fórmula siguiente:

$$\text{Conc. osmolar} = \text{mosmol} = (P/M) n 1.000$$

en la cual P es el peso de sustancia seca o anhidra según corresponda, en g por litro, y M es el peso molecular asignado, en gramos.

La concentración osmolal se expresa en osmol por kilogramo de solvente, pero el submúltiplo empleado generalmente es miliosmoles por kilogramo (mosmol/kg).

A medida que aumenta la concentración de soluto, aumenta la interacción entre las partículas disueltas y disminuye la osmolaridad real con respecto al valor ideal. La desviación de las condiciones ideales es generalmente pequeña en soluciones dentro del intervalo fisiológico. En soluciones de alta concentración, la osmolaridad real puede tener valores considerablemente inferiores a los ideales. Por ejemplo, la osmolaridad ideal de la *Solución Inyectable de Cloruro de Sodio* al 0,9 % es $9/58,4 \times 2 \times 1.000 = 308$ mosmol por litro. Sin embargo, n es algo menor que 2 para soluciones de cloruro de sodio a esta concentración y la osmolaridad medida real de la *Solución inyectable de cloruro de sodio* al 0,9 % es aproximadamente 286 mosmol por litro.

Procedimiento general

Cada osmol de soluto agregado a 1,0 kg de agua disminuye el punto de congelación en 1,858 °C y la

presión de vapor baja aproximadamente 0,3 mm Hg (a 25 °C). Estos cambios físicos son cuantificables, lo que permite estimaciones exactas de las concentraciones osmolales. La relación existente entre la miliosmolalidad y el descenso crioscópico puede expresarse por la fórmula siguiente:

$$\text{Osmolalidad (mosmol/kg)} = (\Delta T/1,858) 1.000 \text{ mosmol/kg}$$

Cuando se emplean osmómetros que miden el descenso crioscópico, un volumen medido de solución (generalmente 2 ml) se coloca en un tubo de vidrio sumergido en un baño de temperatura controlada. Se coloca en la solución un termistor y un sistema de vibración y la temperatura del baño se reduce hasta lograr que la solución se sobreenfríe. El sistema de vibración se activa para inducir la cristalización del agua en la solución muestra y el calor de fusión liberado aumenta la temperatura de la mezcla hasta su punto de congelación. A través de un puente de Wheatstone, el punto de congelación registrado se convierte en una medida de la osmolalidad. Para cada determinación, emplear un volumen constante de la solución en ensayo. El aparato se calibra empleando dos soluciones estándar de cloruro de sodio que abarcan el intervalo de osmolalidades esperado. Puede emplearse agua en lugar de una de las dos soluciones de referencia para calibrar el osmómetro. En todo caso, seguir las instrucciones del fabricante.

Cuando la presión osmótica de la muestra es mayor que 3000 mosmol, se debe diluir la muestra empleando un solvente apropiado, hasta llegar a un intervalo de mosmol-medible.

Preparación de las soluciones de referencia para la calibración del osmómetro

Pesar exactamente la cantidad de cloruro de sodio, previamente secado entre 500 y 650 °C durante 40 ó 50 minutos y enfriado en un desecador sobre sílica gel; que se indica en la *Tabla*. Disolver el cloruro de sodio en 100 g de agua, exactamente pesados, para cada solución de referencia.

Tabla. Soluciones de referencia para la calibración de osmómetros.

Osmolalidad real (mosmol/kg)	Peso de ClNa (g)	Descenso crioscópico (°C)	Presión osmótica	
			KPa 0 °C	KPa 38 °C
100	0,3087	0,186	227	259
200	0,6259	0,372	454	517
300	0,9463	0,558	681	776
400	1,2684	0,744	908	1.035
500	1,5916	0,930	1.136	1.294
600	1,9147	1,116	1.363	1.552
700	2,2380	1,302	1.590	1.811

650. PARTICULAS EN INYECTABLES

Las partículas presentes en las soluciones inyectables son sustancias extrañas móviles insolubles. Las soluciones inyectables, incluyendo las obtenidas por disolución de sólidos estériles, deben estar libres de partículas que puedan detectarse por inspección visual. La inspección visual, en condiciones estandarizadas, de la totalidad del lote producido se acepta para determinar la ausencia de partículas visibles en soluciones inyectables. Sin embargo, todos los inyectables de gran volumen y aquéllos de pequeño volumen, deben cumplir con los ensayos para la determinación de partículas subvisibles que se indican en este capítulo.

Los ensayos que se describen a continuación se emplean para contar las partículas extrañas subvisibles dentro de intervalos específicos de tamaño. Se describen dos procedimientos para la determinación de partículas en inyectables, uno de bloqueo de luz y otro microscópico. Las formulaciones inyectables son analizadas primero por el *Ensayo de recuento de partículas por bloqueo de luz*, si no cumplen con las especificaciones de este ensayo, se procede con el *Ensayo de recuento microscópico de partículas*. No todas las formulaciones inyectables pueden ser analizadas por medio de estos ensayos para determinar la presencia de partículas. Si el producto no es una solución, con transparencia y viscosidad similar a la del agua, pueden obtenerse datos erróneos al ser analizado por el método de recuento por bloqueo de luz. Dichos materiales pueden ser analizados por el método microscópico. En algunos casos, la viscosidad de un material puede ser tan elevada que imposibilite su análisis por los métodos descriptos. En dichos casos, puede realizarse una dilución cuantitativa con un diluyente apropiado para disminuir la viscosidad tanto como sea necesario, permitiendo de esta manera la realización del análisis.

En los ensayos que se describen a continuación, los resultados que se obtienen al analizar una cantidad discreta o un grupo de unidades para verificar la presencia de partículas, no se pueden extrapolar con certeza a otras unidades que no hayan sido ensayadas. Por lo tanto, deben desarrollarse planes de muestreo estadístico que se basen en factores operativos conocidos, si se desea obtener una referencia válida a partir de los datos observados para caracterizar el nivel de partículas en un grupo grande de unidades. Los planes de muestreo deberán tener en cuenta el volumen del producto,

el número de partículas encontrado históricamente en el producto, en comparación con los límites, la distribución de tamaños de las partículas presentes y la variabilidad del recuento de partículas entre unidades.

Ensayo de recuento de partículas por bloqueo de luz

Este ensayo se aplica a inyectables de gran volumen, en cuyo rótulo se declara que contienen un volumen mayor o igual a 100 ml y a inyectables monodosis o multidosis de pequeño volumen, en cuyo rótulo se declara que contienen un volumen menor a 100 ml, ya sean soluciones o soluciones reconstituidas a partir de sólidos estériles, cuando se especifica expresamente en la monografía correspondiente.

Los inyectables en cuyo rótulo se declara que el producto se debe emplear con filtración están exentos de este requisito.

Aparato –

Es un sistema de recuento electrónico de partículas, que emplea un sensor de bloqueo de luz, provisto de un dispositivo apropiado para la introducción de muestras.

Los parámetros críticos a tener en cuenta en la elección de un equipo son los siguientes:

Límites de concentración del sensor - Emplear un aparato que posea un límite de concentración (máximo número de partículas por ml) que sea mayor que la concentración de partículas en la muestra que se va a someter a recuento. El límite de concentración de un sensor, certificado por el fabricante, se define como el nivel de recuento en el cual la coincidencia de pulsos debidos a la presencia simultánea de dos o más partículas en el intervalo de captación del sensor, representa menos del 10 % de los recuentos recogidos para partículas de 10 μm .

Intervalo dinámico del sensor – El intervalo dinámico del aparato empleado (intervalo de tamaños de partícula que se pueden medir y contar con precisión) debe incluir el tamaño más pequeño de partícula a determinar en los productos a ensayar.

Ambiente para el ensayo –

Los productos a ensayar se deben limpiar de tal modo que no introduzcan cantidades significativas de partículas que puedan modificar el resultado del ensayo. Las muestras, los materiales de vidrio, tapas y otros equipos empleados deben prepararse preferentemente en

un medio ambiente protegido por filtros de aire de alta eficiencia (HEPA). Durante la preparación de las muestras, se deben emplear guantes libres de polvo y vestimentas de las cuales no se desprendan partículas contaminantes. Limpiar los materiales de vidrio, tapas y cualquier otro elemento empleado, preferentemente sumergiéndolos en una solución de detergente no iónico. Enjuagar con agua corriente y luego enjuagar nuevamente con agua destilada o desionizada y filtrada. También pueden emplearse solventes orgánicos para facilitar la limpieza. [NOTA: en forma alternativa, se pueden emplear equipos exentos de partículas que resultan apropiados para estos ensayos]. Enjuagar el aparato con agua destilada o desionizada y filtrada, empleando una boquilla de mano a presión con un filtro en el extremo u otra fuente de agua filtrada, como por ejemplo agua destilada o desionizada pasada a través de un filtro de porosidad de 1,2 μm o menor.

Para obtener los recuentos del blanco, emplear un recipiente limpio del mismo tipo y volumen al empleado en el ensayo. Transferir un volumen de 50 ml de agua destilada o desionizada y filtrada al recipiente y agitar la muestra. Desgasificar mediante sonicación (entre 80 y 120 watts) durante aproximadamente 30 segundos o dejar reposar. Agitar para suspender las partículas. Retirar y obtener los recuentos de partícula para tres muestras consecutivas de no menos de 5 ml cada una, sin tener en cuenta el primer recuento. Si se observan más de diez partículas mayores o iguales a 10 μm de tamaño, o más de dos partículas mayores o iguales a 25 μm de tamaño en la muestra combinada de 10 ml, el ambiente no es apropiado para el análisis de partículas, pudiendo inferirse que el agua destilada o desionizada y filtrada, y los materiales de vidrio no han sido preparados apropiadamente, o al contador está generando recuentos espurios. En este caso, repetir los pasos preparatorios hasta que las condiciones de análisis sean apropiadas para el ensayo.

Preparación muestra –

Preparar las muestras a ensayar en la siguiente secuencia. Fuera del entorno del flujo laminar, retirar los cierres exteriores, precintos y cualquier rótulo adherido. Lavar exteriormente los envases con agua destilada o desionizada y filtrada según se describe en *Ambiente para el ensayo*. Proteger los envases de la contaminación ambiental hasta que se haya terminado el ensayo. Retirar el contenido de los envases de modo que se evite la posibilidad de generar partículas que puedan contaminar la muestra. Los envases con tapones

desmontables pueden ensayarse directamente quitándoles la tapa. Asimismo, se pueden emplear dispositivos con agujas con las cuáles se penetran las tapas de las unidades. Los productos envasados en envases de plástico flexible pueden ensayarse haciendo un corte en el tubo de administración o cortando un vértice del envase.

Dependiendo de la forma farmacéutica, proceder según corresponda:

Preparaciones líquidas - El número de unidades a ensayar debe ser apropiado para proveer una evaluación estadísticamente válida de que un lote de producción u otro grupo grande de unidades, cumplan o excedan los límites establecidos. Las soluciones inyectables monodosis de pequeño volumen donde el volumen de cada unidad es menor a 25 ml pueden ensayarse combinando diez o más unidades. Para inyectables de gran volumen se deben ensayar unidades individuales. Para inyectables de gran volumen se deben ensayar unidades individuales. Para inyectables de gran volumen o inyectables de pequeño volumen donde el volumen de cada unidad es mayor o igual a 25 ml se pueden ensayar menos de diez unidades, en base a la definición de un plan de muestreo estadístico.

Contenido menor de 25 ml por cada unidad - Proceder según se indica en *Preparación muestra*. Mezclar y suspender las partículas en cada unidad invirtiendo veinte veces su contenido. [NOTA: debido al pequeño volumen de algunos productos, puede ser necesario agitar la solución vigorosamente para suspender las partículas completamente]. Abrir y combinar, en un envase limpio, el contenido de diez o más unidades para obtener un volumen no menor a 20 ml. Desgasificar la mezcla combinada mediante sonicación durante aproximadamente 30 segundos o dejar reposar hasta que la solución quede exenta de burbujas de aire. Agitar ligeramente, el contenido del envase teniendo cuidado de no introducir burbujas de aire o contaminación. Extraer no menos de tres alícuotas, cada una no menor de 5 ml y colocarlas en el sensor del sistema de recuento por bloqueo de luz. Descartar los datos de la primera porción.

Contenido de 25 ml o más por cada unidad - Proceder según se indica en *Preparación muestra*. Mezclar y suspender las partículas de cada unidad invirtiéndola veinte veces. Desgasificar la solución por sonicación durante aproximadamente 30 segundos o dejar reposar hasta que la misma quede exenta de burbujas de aire. Quitar el cierre, e insertar la sonda del contador en el centro de la solución. Agitar suavemente a mano el contenido de la unidad. Extraer no menos de tres alícuotas,

cada una no menor de 5 ml, y colocarlas en el sensor del sistema de recuento por bloqueo de luz. Descartar los datos de la primera porción.

Inyectables en envases multidosis - Proceder según se indica en *Contenido de 25 ml o más por cada unidad*. Calcular el resultado del ensayo en base al volumen de una alícuota que equivale a la dosis máxima declarada en el rótulo; por ej., si el volumen total del envase es 50 ml y el volumen de la dosis máxima es 10 ml, el promedio del recuento de partículas por bloqueo de luz por ml se multiplica por 10 para obtener el resultado del ensayo en base a la dosis máxima de 10 ml. [NOTA: para los cálculos siguientes, considerar que el volumen de dosis máxima es equivalente al contenido del envase total].

Polvos y liofilizados - Proceder según se indica en *Preparación muestra*. Los polvos y liofilizados, se pueden reconstituir, ya sea quitando la tapa para agregar el diluyente o inyectando el diluyente mediante una jeringa hipodérmica que posee un filtro de 1,2 µm o más fino, teniendo cuidado de no contaminar el contenido o la tapa. Si las muestras se combinan, quitar la tapa y vaciar el contenido de cada uno en un envase limpio. Colocar el cierre y agitar el envase para disolver la muestra. [NOTA: para ciertos productos puede ser necesario dejar en reposo las unidades durante un intervalo apropiado y luego agitar nuevamente hasta que la muestra se disuelva completamente]. Después que la muestra se haya disuelto completamente, mezclar y suspender las partículas presentes de cada unidad invirtiendo veinte veces su contenido antes del ensayo. Proceder según se indica para el volumen apropiado de la unidad en *Preparaciones líquidas* y analizar extrayendo no menos de tres alícuotas, cada una no menor de 5 ml, y colocarlas en el sensor del sistema de recuento por bloqueo de luz. Descartar los datos de la primera alícuota.

Cálculos -

Muestras combinadas (inyectables de pequeño volumen) - Promediar los recuentos de dos o más

alícuotas analizadas. Calcular el número de partículas en cada envase por la fórmula siguiente:

$$\frac{PV_t}{V_a n}$$

en la cual P es el recuento de partículas promedio obtenido a partir de las porciones analizadas, V_t es el volumen de mezcla combinada, en ml, V_a es el volumen de cada porción analizada, en ml, y n es el número de unidades mezcladas.

Muestras individuales (inyectables de pequeño volumen) - Promediar los recuentos obtenidos para las porciones de las alícuotas de 5 ml o mayores de cada unidad analizada y calcular el número de partículas en cada unidad por la fórmula siguiente:

$$\frac{PV}{V_a}$$

en la cual P es el recuento de partículas promedio obtenido a partir de las porciones ensayadas, V es el volumen, en ml, de la unidad ensayada y V_a es el volumen, en ml, de cada porción analizada.

Muestras de unidades individuales (inyectables de gran volumen) - Promediar los recuentos obtenidos para dos o más alícuotas de 5 ml tomadas de la muestra. Calcular el número de partículas en cada mililitro del inyectable analizado por la fórmula siguiente:

$$\frac{P}{V}$$

en la cual P es el recuento de partículas promedio para una muestra individual de 5 ml o de mayor volumen y V es el volumen, en ml, de la porción tomada.

Interpretación -

El inyectable cumple con los requisitos del ensayo si el número promedio de partículas presentes en las unidades ensayadas no es mayor al valor indicado en la *Tabla 1*.

Tabla 1. Límite máximo de partículas por bloqueo de luz.

	≥ 10 µm	≥ 25 µm
Inyectables de pequeño volumen	6.000 por unidad	600 por unidad
Inyectables de gran volumen	25 por unidad	3 por ml

Ensayo de recuento microscópico de partículas

El ensayo de recuento microscópico de partículas puede aplicarse tanto a inyectables de

gran volumen como de pequeño volumen. Este ensayo cuenta las partículas sólidas subvisibles presentes, después de la recolección de las mismas sobre una membrana filtrante. Al realizar este ensayo, no se deben considerar los materiales

amorfos, semilíquidos o aquellos que presenten una mancha o decoloración sobre la superficie de la membrana. Estos materiales muestran poco o ningún relieve en su superficie y presentan un aspecto gelatinoso o similar al de una película.

Aparatos -

Microscopio - Emplear un microscopio binocular. La combinación de lentes del objetivo y el ocular debe dar una magnificación de $100 \pm 10x$. El objetivo debe ser de $10x$ de magnificación nominal, acromático planar o de mejor calidad, con una apertura numérica mínima de 0,25. Los oculares deben poseer una magnificación de $10x$. Además, el ocular debe ser diseñado para aceptar y enfocar en un ocular reticulado. El microscopio debe tener una platina mecánica capaz de sostener y recorrer en su totalidad el área de una membrana filtrante de 25 ó 47 mm de diámetro.

Iluminadores - Se requieren dos iluminadores. Uno es un iluminador auxiliar externo, de foco regulable para iluminar en dirección oblicua con

un ángulo de 10° a 20° . El otro es un iluminador episcópico interno de campo brillante. Ambos iluminadores deben ser de una potencia suficiente para proporcionar una fuente de iluminación brillante y pareja, pueden estar equipados con filtros de color azul para reducir la fatiga del operador durante su empleo.

Retículo para la medición del diámetro de partículas - Emplear un ocular reticulado circular (ver *Figura*) apropiado para el modelo de objetivo y ocular del microscopio en que los círculos de clasificación por tamaño estén dentro de 2 % del tamaño establecido en el plano de la platina del aparato.

Según se puede observar en la *Figura*, el círculo grande está fraccionado por filamentos en cuadrantes que determinan el campo reticular (CR). Los círculos transparentes, de color negro, con diámetros de 10 y 25 μm en $100x$ se proporcionan como escalas de comparación para clasificar las partículas por tamaño.

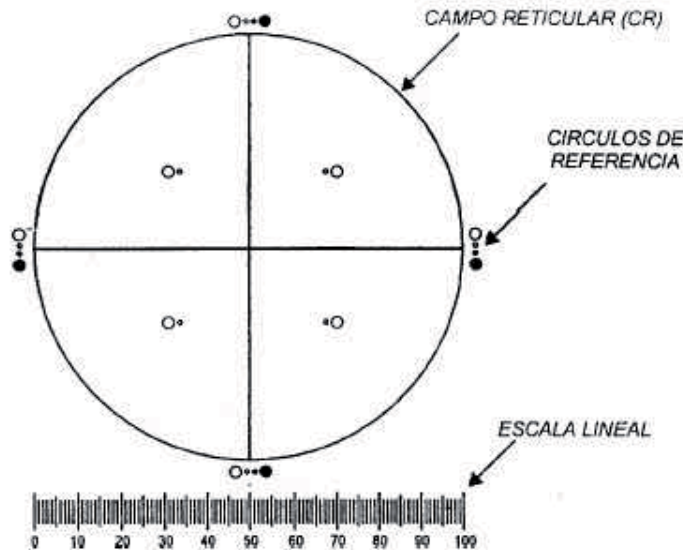


Figura.

Micrómetro - Emplear un micrómetro de platina certificado, con graduaciones de 10 μm .

Aparatos de filtración - Emplear un embudo filtrante apropiado para el volumen a ensayar, con un diámetro mínimo de aproximadamente 21 mm. El embudo debe ser de plástico, vidrio acero inoxidable. Colocar el filtro sobre una criba de acero inoxidable o una placa de vidrio sinterizado para que actúe como difusor del filtrado. El aparato de filtración está equipado con una fuente de vacío, un dispensador de solvente capaz de entregar solvente filtrado a través de un filtro

1,2 μm o porosidad menor en un intervalo de presiones de 10 a 80 psi y membranas filtrantes (de 25 ó 47 mm, reticuladas o no, de color negro o gris oscuro, de un material apropiado compatible con el producto, de 1,0 μm o porosidad menor). Emplear pinzas de punta roma para manipular los filtros de membrana.

Ambiente para el ensayo -

Una campana de flujo laminar u otro recinto - con flujo de aire laminar, con una capacidad suficiente para separar el área donde se lleva a

cabo el análisis, con aire filtrado a través de un filtro HEPA no habiendo más de 3.500 partículas (mayores o iguales a 0,5 µm) por metro cúbico. Para la determinación del blanco, medir con el dispensador un volumen de 50 ml de agua destilada o desionizada y filtrada. Aplicar vacío y pasar el volumen total de agua a través del filtro de membrana. Retirar la membrana de la base del embudo y colocarla sobre una cinta con adhesivo en ambas caras, en un portaobjetos o una placa de Petri. Dejar secar la membrana, examinarla microscópicamente a una magnificación de 100x. Si no más de 20 partículas mayores o iguales a 10 µm y 5 partículas mayores o iguales a 25 µm están presentes dentro del área de filtración, el nivel de partículas es apropiado para llevar a cabo el ensayo.

Durante todo este procedimiento, se deben emplear guantes apropiados libres de polvo, materiales de vidrio y equipos completamente limpios. Antes de realizar el ensayo limpiar todas las superficies del área de flujo laminar con un solvente apropiado. El material de vidrio y los equipos deben haber sido enjuagados sucesivamente con una solución de detergente libre de residuos a aproximadamente a 100 °C, agua caliente, agua destilada o desionizada y alcohol isopropílico. [NOTA: el agua destilada o desionizada y el alcohol isopropílico se deben filtrar empleando filtros de 1,2 µm o porosidad menor]. Hacer los enjuagues bajo un flujo laminar equipado con filtros HEPA. Dejar secar los materiales de vidrio y los aparatos de filtración bajo la campana. Preferentemente, la campana debe estar ubicada en una habitación separada, provista con aire filtrado y acondicionado, mantenida bajo presión positiva.

Preparación del microscopio –

Colocar el iluminador auxiliar cerca de la platina, enfocar el iluminador para dar un área concentrada de iluminación sobre una membrana filtrante colocada en la platina. Ajustar la altura del iluminador para que el ángulo de incidencia de la luz sea 10° ó 20° con respecto a la horizontal. Empleando el iluminador episcópico interno, abrir totalmente el campo y la abertura de los diafragmas. Centrar el filamento de la lámpara y enfocar el microscopio en un filtro que contenga partículas. Ajustar la intensidad de iluminación reflejada hasta que las partículas sean claramente visibles y muestren sombras pronunciadas. Ajustar la intensidad de iluminación episcópica al grado más bajo y luego aumentar la hasta que las sombras producidas por las partículas muestren la disminución menos perceptible de contraste.

Operación del retículo para la medición del diámetro de partículas -

El error relativo del retículo empleado debe medirse inicialmente con un micrómetro de platina certificado. Para realizar esto, alinear la escala micrométrica del retículo con la del micrómetro de la platina para que queden paralelas. [NOTA: comparar las escalas, empleando el mayor número posible de graduaciones]. Leer el número de divisiones de la escala del ocular reticulado, DEOR, comparado con las divisiones del micrómetro de la platina, DMP. Calcular el error relativo por la fórmula siguiente:

$$100 \left[\frac{(DEOR - DMP)}{DMP} \right]$$

Un error relativo de ± 2 % es aceptable. La técnica básica de medición aplicada con el empleo del retículo para la medición del tamaño de partículas consiste en transformar mentalmente la imagen de cada partícula en un círculo y luego compararlo con los círculos de referencia del retículo de 10 y 25 µm. El proceso de medición por tamaño se lleva a cabo sin superponer la partícula en los círculos de referencia; las partículas no deben moverse de sus localizaciones dentro del campo del retículo (el círculo grande) para compararlas con los círculos de referencia. Emplear el diámetro interno de los círculos claros de referencia del retículo para clasificar por tamaño a las partículas blancas y transparentes. Emplear el diámetro exterior de los círculos de referencia de color negro del retículo para clasificar por tamaño a las partículas oscuras.

Rotar el retículo en el ocular derecho del microscopio para que la escala lineal quede ubicada en la parte inferior del campo; enfocando rápida y definitivamente el retículo mediante el ajuste del anillo derecho de la dioptra del ocular mientras se observa la muestra fuera de foco. Enfocar el microscopio sobre la muestra, mirando solamente a través del ocular derecho. Luego, mirando a través del ocular izquierdo, ajustar la dioptra del ocular izquierdo para enfocar con definición.

Preparación del aparato de filtración –

Lavar preferentemente todos los componentes del aparato de filtración en una solución de detergente líquido y agua caliente. Enjuagar con agua caliente. Aplicar un segundo enjuague con agua destilada o desionizada y filtrada, empleando agua a presión sobre todas las superficies exteriores e interiores del aparato de filtración. Repetir el procedimiento del enjuague a presión

empleando alcohol isopropílico filtrado. Finalmente, empleando el dispositivo de enjuague a presión, enjuagar el aparato con agua destilada o desionizada y filtrada.

Retirar una membrana filtrante de su envase empleando una pinza limpia de punta roma. Emplear agua destilada o desionizada y filtrada para lavar ambos lados del filtro. Armar el aparato de filtración con el difusor en la base y colocar el filtro sobre el difusor. Colocar el embudo en la parte superior de la base y fijarlo en su lugar.

Preparación muestra –

Proceder según se indica en *Preparación muestra en Recuento de partículas por bloqueo de luz*.

Preparaciones líquidas - Para inyectables de pequeño volumen con un volumen mayor o igual a 25 ml, ensayados individualmente, y para inyectables de gran volumen, se debe realizar el ensayo sobre todo el volumen de la unidad. Para inyectables de gran volumen o inyectables de pequeño volumen donde el volumen de cada unidad es mayor o igual a 25 ml se deben ensayar menos de diez unidades seleccionadas en base a la definición de un plan de muestreo estadístico. Mezclar y suspender las partículas en cada unidad invirtiendo veinte veces su contenido. Abrir las unidades de manera de generar el menor número posible de partículas. Para productos con un volumen menor a 25 ml, abrir y combinar el contenido de diez o más unidades en un envase limpio. Filtrar las unidades de gran volumen en forma individual. Se pueden filtrar individualmente las unidades de pequeño volumen mayor o igual a 25 ml.

Mediante el empleo del embudo de filtración transferir el volumen total de una solución combinada o una unidad individual y aplicar vacío. Si se va a emplear el procedimiento de recuento parcial (ver *Procedimiento de recuento parcial en Recuento de Partículas*), no dejar que el volumen del líquido en el embudo filtrante se encuentre por debajo de la mitad del volumen del embudo entre cada uno de los llenados. [NOTA: emplear un embudo filtrante apropiado al volumen de la solución si se va emplear el procedimiento de recuento parcial. Esto es necesario para asegurar la distribución pareja de las partículas sobre la membrana]. Después de agregar la última porción de la solución, comenzar a lavar las paredes del embudo filtrante aplicando en forma circular agua destilada o desionizada y filtrada y dejar de lavar antes que el volumen llegue por debajo de un cuarto del nivel de llenado. Mantener el vacío hasta haber filtrado

todo el líquido. Retirar el embudo filtrante de la base mientras se mantiene el vacío, cerrar el vacío y retirar la membrana con una pinza de punta roma. Colocar la membrana sobre una placa de Petri u otro envase similar, fijarla con una cinta con adhesivo en ambas caras e identificar la muestra. Dejar que el filtro se seque al aire en el recinto de flujo laminar dejando la tapa del envase semiabierta.

Polvos y liofilizados - Proceder según se indica en *Preparación muestra en Recuento de partículas por bloqueo de luz*. Empleando una solución combinada de diez unidades o más o el número requerido de unidades individuales, proceder según se indica en *Preparaciones líquidas*.

Inyectables en envases multidosis - Proceder según se indica en *Preparaciones líquidas*, filtrando el volumen total de la unidad. Calcular el resultado del ensayo referido al volumen de una porción equivalente a la dosis máxima declarada en el rótulo. Considerar que esta porción es el equivalente al contenido del envase total. Por ejemplo, si el volumen total del envase es 50 ml y el volumen de la dosis máxima es 10 ml, el resultado del ensayo de recuento del volumen total se multiplicará por 0,1 para obtener el resultado del ensayo en base a la dosis máxima de 10 ml. [NOTA: para los cálculos, considerar que esta porción es el equivalente al contenido de un envase lleno].

Recuento de partículas -

El ensayo microscópico descrito en esta sección es flexible con respecto al modo de recuento, ya que permite contar partículas por ml, en muestras que contengan 1 partícula por ml así como en muestras que contengan un número significativamente mayor de partículas por ml. Este método puede emplearse cuando se cuentan todas las partículas en la superficie de la membrana de análisis o cuando solamente se cuentan aquellas partículas en un área fraccionada de la superficie de la membrana.

Procedimiento de recuento total -

En un recuento total, se ignora el campo reticular (CR) definido por el círculo grande del retículo y se emplea el filamento vertical. Barrer la membrana totalmente de derecha a izquierda en un camino que colinda, pero no se superponga, con el primer camino de barrido. Repetir este procedimiento, moviéndose de izquierda a derecha, y nuevamente a la izquierda, hasta que todas las partículas de la membrana hayan sido contadas. Registrar el número total de partículas mayores o iguales a 10 µm y mayores o iguales a

25 µm. Para inyectables de gran volumen, calcular el número de partículas, por ml, para la unidad ensayada, por la fórmula siguiente:

$$\frac{P}{V}$$

en la cual P es el número total de partículas contadas y V es el volumen de la solución, en ml. Para inyectables de pequeño volumen, calcular el número de partículas, por unidad, por la fórmula siguiente:

$$\frac{P}{n}$$

en la cual P es el número total de partículas contadas y n es el número de unidades combinadas.

Procedimiento de recuento parcial -

Si se realizara un recuento parcial de partículas sobre una membrana, el operador debe, en primer lugar, asegurarse de que se realice una distribución homogénea de partículas en la membrana. Esto es evaluado barriendo rápidamente para buscar agregados de partículas. No debe observarse ningún agregado. Contar las partículas mayores o iguales a 10 µm en el CR en el borde del área de filtración así como en el centro de la membrana. El número de partículas mayores o iguales a 10 µm en el CR con el recuento total más alto de partículas no es más del doble del CR con el recuento más bajo de partículas. Rechazar un filtro que no cumpla estos criterios y preparar otro si se emplea un procedimiento de recuento parcial, o analizar esta membrana por el método de recuento total.

El número normal de CR contados para un recuento parcial es 20. Si se desea un intervalo de confianza más pequeño con respecto al resultado, puede contarse un número de campos y partículas mayor. Contar todas las partículas que tengan un diámetro mayor o igual a 10 µm y mayor o igual a 25 µm dentro del CR y aquéllas que están en contacto con el lado derecho del círculo del CR. No contar las partículas fuera del CR. Ignorar aquéllas que tocan el lado izquierdo del círculo de CR. La línea divisoria entre el lado derecho y el izquierdo del círculo del CR es el filamento vertical. [NOTA: determinar el tamaño de la partícula sin cambiar el aumento o la iluminación del microscopio].

Para realizar un recuento parcial de partículas sobre una membrana, comenzar en el borde derecho del centro del área de filtración y empezar a contar los CR adyacentes. Cuando se llega al

borde izquierdo del área de filtración, mover a un CR hacia la parte superior del filtro y continuar contando los CR avanzando en la dirección opuesta. El movimiento de un CR al próximo puede ser realizado por dos métodos. Un método es definir un punto de referencia (partícula o irregularidad de la superficie del filtro) y mover un CR en relación al punto. Un segundo método es emplear el vernier de la platina del microscopio para mover 1 mm entre los CR. Para facilitar esto último, ajustar la posición de los controles x y y en la platina del microscopio a un número entero en la posición inicial en el centro del borde derecho del área de filtración; luego cada CR será una división entera de movimiento del control x de la posición de la platina. Si se llega a la parte superior del área de filtración antes de obtener el número deseado de CR se empieza nuevamente en el centro del borde derecho del área de filtración un CR por debajo del empleado la primera vez. Esta vez moverse hacia abajo en la membrana cuando se llega al final de una fila de los CR. Continuar como antes hasta completar el número de CR.

Para inyectables de gran volumen, si se emplea un procedimiento de recuento parcial para los intervalos de tamaño 10 y 25 µm, calcular las partículas por ml, por la fórmula siguiente:

$$\frac{PA_t}{A_p V}$$

en la cual P es el número de partículas contadas, A_t es el área de filtración de la membrana en mm^2 , A_p es el área parcial contada en mm^2 , en base al número de campos reticulares contados y V es el Volumen de solución filtrada, en ml. Para una solución combinada (para unidades de inyectables de pequeño volumen que contengan menos de 25 ml) o para una sola unidad de un inyectable de pequeño volumen, calcular el número de partículas por unidad, por la fórmula siguiente:

$$\frac{PA_t}{A_p n}$$

en la cual n es el número de unidades contadas y los otros términos son los definidos anteriormente. Para todos los tipos de productos, si el material ensayado ha sido diluido para que disminuya la viscosidad, el factor de dilución debe tomarse en cuenta al calcular el resultado final del ensayo.

Interpretación -

El inyectable cumple con los requisitos del ensayo si el número de partículas promedio presente en

las unidades ensayadas no excede los valores enumerados en la *Tabla 2*.

Tabla 2. Límite máximo de partículas por recuento microscópico.

	$\geq 10 \mu\text{m}$	$\geq 25 \mu\text{m}$
Inyectables de pequeño volumen	3.000 por unidad	300 por unidad
Inyectables de gran volumen	12 por ml	2 por ml

660. PARTÍCULAS METÁLICAS EN UNGÜENTOS OFTÁLMICOS

El siguiente ensayo está diseñado para establecer que el número y tamaño de partículas metálicas que pueden estar presentes en ungüentos oftálmicos no superen el límite aceptado.

Procedimiento - Dispersar el contenido de diez unidades en sendas placas de Petri de 60 mm de fondo plano. Cubrir las placas y calentarlas a 85 °C durante 2 horas o hasta fundir el producto. Dejar reposar cada una de las placas a temperatura ambiente hasta que las muestras solidifiquen.

Retirar las tapas e invertir cada placa de Petri en la platina de un microscopio ajustado a 30x y equipado con un ocular con micrómetro calibrado. Además de la fuente de luz usual, dirigir otra fuente de iluminación a la parte superior de la placa en un ángulo de 45°. Examinar las placas de Petri en su

totalidad para detectar la eventual presencia de partículas metálicas, que al variar la intensidad de la fuente de iluminación superior se reconocen por su brillo característico.

Contar el número de partículas metálicas mayores o iguales a 50 μm : el producto cumple con los requisitos si el número total de partículas en las diez unidades no es mayor de 50 y si no más de una unidad contiene más de 8 partículas metálicas. Si no se obtienen estos resultados, repetir el ensayo con veinte unidades adicionales: el producto cumple si el número total de partículas metálicas mayores o iguales a 50 μm no es mayor de 150 en las treinta unidades ensayadas y si no más de tres unidades contienen más de 8 partículas cada una.

670. PÉRDIDA POR CALCINACIÓN

Este procedimiento se emplea para determinar el porcentaje de material en ensayo que se volatiliza y elimina bajo las condiciones especificadas.

Llevar a cabo el ensayo sobre el material finamente pulverizado. Pesar la muestra sin tratamiento adicional, a menos que en la monografía correspondiente se especifique un secado preliminar a temperatura inferior u otro tratamiento previo. Calcinar en una mufla empleando un crisol apropiado con tapa, previamente sometido 1 hora a la temperatura especificada para el ensayo, enfriado en un desecador y pesado, a menos que se especifique otro equipo en la monografía correspondiente. Transferir al crisol, previamente pesado, una cantidad exactamente pesada de la muestra,

expresada en g, aproximadamente igual a la calculada por la fórmula siguiente:

$$10/L$$

en la cual L es el límite (o el valor medio de los límites), en porcentaje, para *Pérdida por calcinación* en la monografía correspondiente. Calcinar el crisol cargado, sin su tapa, y cubrirlo cuando se haya alcanzado la temperatura especificada (± 25 °C). Continuar la calcinación durante el período designado en la monografía correspondiente. Cuando se especifique calcinación hasta peso constante, calcinar durante períodos sucesivos de 1 hora. Al finalizar cada período, cubrir el crisol y dejarlo enfriar en un desecador a temperatura ambiente antes de pesar.

680. PERDIDA POR SECADO

El procedimiento establecido en este ensayo se emplea para determinar la cantidad de materia volátil de cualquier naturaleza que se elimina bajo las condiciones especificadas. Para las sustancias que únicamente contienen agua como constituyente volátil, proceder según se indica en <120>. *Determinación de agua.*

Homogeneizar y pesar exactamente la muestra y, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, llevar a cabo la determinación sobre 1 a 2 g de la misma. Pesar un pesafiltro previamente secado durante 30 minutos y colocar la muestra en el mismo. Distribuir la muestra lo más uniformemente posible, agitando suavemente el pesafiltro de modo que se forme una capa de 5 mm de espesor aproximadamente y no más de 10 mm en el caso de materiales voluminosos. Tapar y colocar el pesafiltro en la cámara de secado. Secar la muestra a la temperatura y durante el tiempo especificado en la monografía correspondiente. [NOTA: la temperatura especificada en la monografía se considerará dentro del intervalo de ± 2 °C del valor establecido]. Abrir la cámara, tapar el pesafiltro rápidamente y llevarlo a temperatura ambiente en un desecador antes de pesar.

Para muestras que fundan a una temperatura inferior a la especificada para la determinación de

Pérdida por secado, mantener el pesafiltro con su contenido durante 1 ó 2 horas a una temperatura 5 a 10 °C por debajo de la temperatura de fusión y luego secar a la temperatura especificada.

Para muestras contenidas en cápsulas, emplear el contenido de no menos de cuatro unidades. Si son comprimidos, emplear una muestra del polvo obtenido a partir de no menos de cuatro unidades finamente pulverizadas.

Si la monografía correspondiente establece:

a) pérdida por secado mediante análisis termogravimétrico, emplear una termobalanza.

b) secado al vacío sobre un desecante o secado en un desecador, emplear un desecador de vacío, una pistola de secado al vacío u otro aparato apropiado de secado al vacío, teniendo las precauciones necesarias para asegurar que el desecante se mantenga activo reemplazándolo frecuentemente.

c) secado en un pesafiltro con tapa provista de un capilar, emplear un pesafiltro o tubo equipado con una tapa provista de un capilar de un diámetro de 225 ± 25 μm y mantener la cámara de calentamiento a una presión de 5 mm Hg o menor. El pesafiltro debe permanecer tapado durante toda la determinación. Al finalizar el período de calentamiento, llenar la cámara de calentamiento con aire seco, retirar el pesafiltro y con la tapa colocada dejarlo enfriar en un desecador antes de pesar.

690. PESAS Y BALANZAS

Los ensayos y valoraciones farmacopeicas requieren balanzas (ya sean mecánicas o electrónicas) de diferente capacidad, sensibilidad y reproducibilidad. Estas balanzas se encuentran

comprendidas en dos grandes grupos: balanzas analíticas y balanzas de precisión, las cuales difieren en sensibilidad y alcance máximo de pesada, siendo este último flexible.

	Sensibilidad		Capacidad máxima
	Desde	Hasta	Hasta
Balanzas analíticas	1 µg	0,1 mg	500 g
Balanzas de precisión	1 mg	0,1 g	5.000 g

A menos que se especifique de otro modo, cuando las sustancias deban ser exactamente pesadas debe emplearse un instrumento cuyo grado de incertidumbre (error aleatorio más error sistemático) no sea mayor de 0,1 % de la lectura.

La incertidumbre en la medida es aceptable si tres veces el valor de la desviación estándar, de no menos de diez pesadas, dividido por la cantidad pesada, no es mayor de 0,001.

Para balanzas electrónicas exclusivamente, debe determinarse la mínima cantidad de sustancia a pesar por la fórmula siguiente:

$$m(mg) = 3\sigma_{n-1}(mg)1.000$$

El valor de σ_{n-1} debe obtenerse experimentalmente para cada balanza (realizando no menos de diez pesadas) y es independiente de la cantidad pesada, pero sí depende de la instalación, del manipuleo, de la variación de las condiciones ambientales y también del material del recipiente de pesada.

Para la calibración de balanzas analíticas deben emplearse pesas Clase E₂ y para balanzas de precisión pesas Clase E₂ o Clase F₁.

Las pesas deben estar acompañadas de sus correspondientes certificados de calibración. Las tolerancias para ambas Clases han sido establecidas por la Organización Internacional de Metrología Legal (OIML).

Valor nominal	Clase E ₂	Clase F ₁
	Tolerancia en ± mg	Tolerancia en ± mg
1 mg	0,006	0,020
2 mg	0,006	0,020
5 mg	0,006	0,020
10 mg	0,008	0,025
20 mg	0,010	0,030
50 mg	0,012	0,040
100 mg	0,015	0,050
200 mg	0,020	0,060
500 mg	0,025	0,080
1 g	0,030	0,10
2 g	0,040	0,12
5 g	0,050	0,15
10 g	0,060	0,20
20 g	0,080	0,25
50 g	0,10	0,30
100 g	0,15	0,5
200 g	0,30	1,0
500 g	0,75	2,5
1 kg	1,5	5
2 kg	3,0	10

Tabla – continuación.

Valor nominal	Calse E ₂ Tolerancia en ± mg	Clase F ₂ Tolerancia en ± mg
5 kg	7,5	25

Estas pesas deben recalibrarse periódicamente por comparación con pesas patrones trazables al kilogramo Patrón del Bureau International des Poids et Mesures (BIPM) de Sévres, París. Este Patrón consiste en un cilindro de platino/iridio (90/10) de 39 mm de diámetro y 39 mm de altura, con una densidad de 21,5 g/cm³. La recalibración se debe realizar con una periodicidad de 2 a 7 años dependiendo del manipuleo, las condiciones de conservación y la frecuencia de uso.

La calibración de las balanzas mediante pesas patrones externas debe realizarse por lo menos una vez al año, incluyendo ensayos de excentricidad (no aplicable a balanzas de platillo suspendido) y repetitividad, esta última con no menos de diez valores.

Las pesas patrones a emplear dependerán de la sensibilidad de la balanza y la cantidad no será menor de siete, debiendo abarcar necesariamente los valores de pesada que se realicen en dicha balanza.

Sensibilidad de la balanza	Intervalo de pesas a emplear para la calibración
0,001mg	1 a 500 mg
0,01 mg	0,01 a 200 g
0,1 mg	0,05 a 400 g
1 mg	0,5 a 500 g
0,01 g	5 a 2.000 g
0,1 g	20 a 4.000 g

[NOTA: Las balanzas deber ser instaladas de manera tal de evitar las vibraciones y/o oscilaciones].

700. POLAROGRAFIA

La polarografía es un método electroquímico que proporciona información cualitativa y cuantitativa de sustancias electro-reducibles y electro-oxidables, basado en la medición del flujo de corriente resultante de la electrólisis de una solución en un microelectrodo polarizable, en función del voltaje aplicado. El intervalo de concentraciones para las sustancias que se analizan es de 10^{-2} a 10^{-5} M.

Esta medición puede realizarse por polarografía de corriente directa o de pulsos. A menos que se especifique de otro modo, emplear la técnica de corriente directa:

POLAROGRAFIA DE CORRIENTE DIRECTA

En la polarografía de corriente directa convencional, la corriente se mide continuamente mientras se aplica un potencial variable en forma lineal. Esta corriente se compone de dos elementos: el primero es la corriente de difusión, producida por la sustancia que experimenta la reducción u oxidación en el electrodo de trabajo y que es directamente proporcional a la concentración de esta sustancia; y el segundo es la corriente capacitiva, relacionada con la carga de la doble capa electroquímica.

Un polarógrafo emplea un electrodo de goteo de mercurio (EGM) capaz de proporcionar un flujo constante de pequeñas gotas de mercurio, de tamaño reproducible, que fluyen del orificio de un tubo capilar conectado a un reservorio de mercurio, y un electrodo de referencia, generalmente de calomel saturado (ECS), el cual debe ser de superficie grande.

Al aplicar el voltaje inicial, se observa el flujo de una muy pequeña corriente residual; a medida que el voltaje aplicado varía; dicho flujo presenta mínimas variaciones, hasta que la sustancia bajo valoración experimenta la reducción u oxidación. Al principio la corriente aumenta gradualmente y luego lo hace de manera casi lineal con el voltaje hasta alcanzar un valor limitante. En la porción ascendente inicial de la onda polarográfica, el aumento del flujo de corriente se corresponde con una disminución de la concentración de las especies electroactivas en la superficie del electrodo. A medida que el voltaje y la corriente crecen, la concentración de las especies reactivas disminuye aún más hasta alcanzar un valor mínimo en la superficie del electrodo. La corriente está limitada por la velocidad a la cual las especies reaccionantes pueden difundir desde el seno de la solución hasta

la superficie del microelectrodo, para que esto ocurra es necesaria la presencia de una elevada concentración de electrolito soporte, inerte dentro del intervalo de potencial empleado para el ensayo. La reacción del electrolito soporte por aumento del potencial causa el incremento final de la corriente, observada en los polarogramas.

En el caso del EGM, la superficie del electrodo se renueva constantemente en forma cíclica, por lo que la corriente aumenta de un valor pequeño cuando la gota comienza a formarse hasta alcanzar un valor máximo cuando la gota cae. Mediante el empleo de un registrador apropiado para medir la corriente, se obtiene el registro polarográfico característico con perfil de diente de sierra. La corriente limitante es la suma de la corriente residual y de difusión. La corriente residual se resta a la corriente limitante para obtener la altura de la onda. Los cambios en las corrientes de difusión y capacitiva, según la variación del tamaño de la gota, producen las oscilaciones en los polarogramas típicos.

La relación lineal entre la corriente de difusión, i_d , y la concentración de especies electro-activas está dada por la ecuación de Ilkovic:

$$i_d = 708nD^{1/2}m^{2/3}t^{1/6}c$$

en la cual i_d es la corriente máxima en microamperios, n es el número de electrones requeridos por molécula de sustancia electroactiva, D es el coeficiente de difusión en cm^2 por segundo, m es la velocidad de flujo de mercurio del EGM en mg por segundo, t es el tiempo de caída de la gota en segundos y c es la concentración del analito en milimoles por litro.

Los polarógrafos modernos, capaces de efectuar polarografía por muestreo, están equipados con registradores para determinar la corriente durante la última porción de la vida de la gota, registrando sólo las corrientes máximas y evitando las oscilaciones debidas al crecimiento de la gota.

Para aparatos en los que la corriente se mide con galvanómetros, las ondas con perfil de diente de sierra corresponden a oscilaciones cercanas a la corriente promedio, mientras que si se emplean registradores que operan en modo amortiguado, la medida de la corriente es el promedio de las oscilaciones. Para los polarogramas obtenidos de esta manera, la i_d , dada por la ecuación de Ilkovic es la corriente promedio en microamperios observada durante la vida de la gota, cuando el coeficiente 708 es reemplazado por 607.

Potencial de media-onda - El potencial de media-onda ($E_{1/2}$) corresponde, en el polarograma, al punto medio de la distancia entre la corriente residual y la meseta de la corriente limitante. Este potencial es por lo general independiente de la concentración del analito o del capilar empleado para obtener la onda, siendo característico de las especies electroactivas, por lo que sirve como criterio de identificación de una sustancia. El $E_{1/2}$ depende de la composición de la solución y puede cambiar con variaciones en el pH o en el sistema de solventes, o con el agregado de agentes complejantes.

A menos que se especifique de otro modo, el potencial del EGM es igual al voltaje aplicado frente al ECS, luego de realizar la corrección por la caída óhmica, iR (el potencial necesario para pasar la corriente, i , a través de una solución con una resistencia R). Es especialmente importante hacer esta corrección para soluciones no acuosas que poseen alta resistencia.

Medición de la altura de la onda (ver *Figura*)

- Para fines cuantitativos, es necesario determinar la altura de la onda polarográfica. Ya que ésta es un índice de la magnitud de la corriente de difusión i_d , se mide verticalmente, compensado la corriente residual, por extrapolación del segmento de la curva que precede a la onda hasta más allá del ascenso en la misma. Para una onda bien formada donde esta extrapolación es paralela a la meseta de la corriente limitante, la medición no es ambigua. Para ondas no muy bien definidas, puede emplearse el siguiente procedimiento a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente. Tanto la corriente residual como la corriente limitante se extrapolan con líneas rectas. La altura de la onda se toma como la distancia vertical entre estas líneas medidas a nivel del potencial de media-onda.

Precaución - El mercurio metálico tiene una presión de vapor importante a temperatura ambiente; por lo tanto, el área de trabajo debe construirse de modo que cualquier salpicadura o gota derramada puedan recuperarse completamente con relativa facilidad. Limpiar el mercurio después de cada empleo del aparato.

Procedimiento - Transferir una porción de la dilución final de la muestra a una celda polarográfica apropiada, inmersa en un baño de agua regulado a $25,0 \pm 0,5$ °C. Pasar una corriente de nitrógeno a través de la solución durante 10 a 15 minutos para eliminar el oxígeno disuelto.

Comenzar el goteo de mercurio desde el capilar, insertar el capilar en la solución muestra y ajustar la altura del reservorio de mercurio. Modificar el flujo de nitrógeno de modo que pase sobre la superficie de la solución, a fin de que la misma esté libre de vibraciones durante el tiempo en que se registra la onda. Registrar el polarograma en el intervalo de potencial indicado en la monografía correspondiente, empleando un registrador o un galvanómetro de sensibilidad apropiada para obtener una onda apropiada. Medir la altura de la onda y, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, comparar ésta con la altura de la onda obtenida con la *Sustancia de referencia* correspondiente, medida bajo las mismas condiciones.

POLAROGRAFÍA DE PULSOS

En la polarografía de pulso normal, se aplica un pulso de potencial al electrodo de mercurio cerca del final de la vida de la gota. A cada gota siguiente se le aplica un pulso ligeramente mayor, con una velocidad de incremento-determinada por la velocidad de barrido seleccionada. La corriente se mide al término del pulso, representando principalmente la corriente de difusión, ya que en esas condiciones la corriente capacitiva es casi nula. La aplicación de pulsos cortos permite una sensibilidad aproximadamente diez veces mayor que la polarografía de corriente directa y la corriente limitante se mide con mayor facilidad, ya que las ondas están exentas de oscilaciones.

La polarografía de pulso diferencial es una técnica mediante la cual un pulso de altura fija aplicado al final de la vida de cada gota se superpone a una rampa de incremento lineal de corriente directa. El flujo de corriente se mide justo antes de la aplicación del pulso. La diferencia entre estas dos corrientes se mide y se representa en el registrador; dicha señal diferencial proporciona una curva que se aproxima a la derivada de la onda polarográfica, con pico cuyo potencial máximo es equivalente a:

$$E_{1/2} - \Delta E/2$$

donde ΔE es la altura del pulso. La altura del pico es directamente proporcional a la concentración a velocidades de barrido y alturas de pulso constante. Esta técnica es muy sensible (pueden determinarse concentraciones del orden de 10^{-7} M) y proporciona mejor resolución entre ondas poco espaciadas.

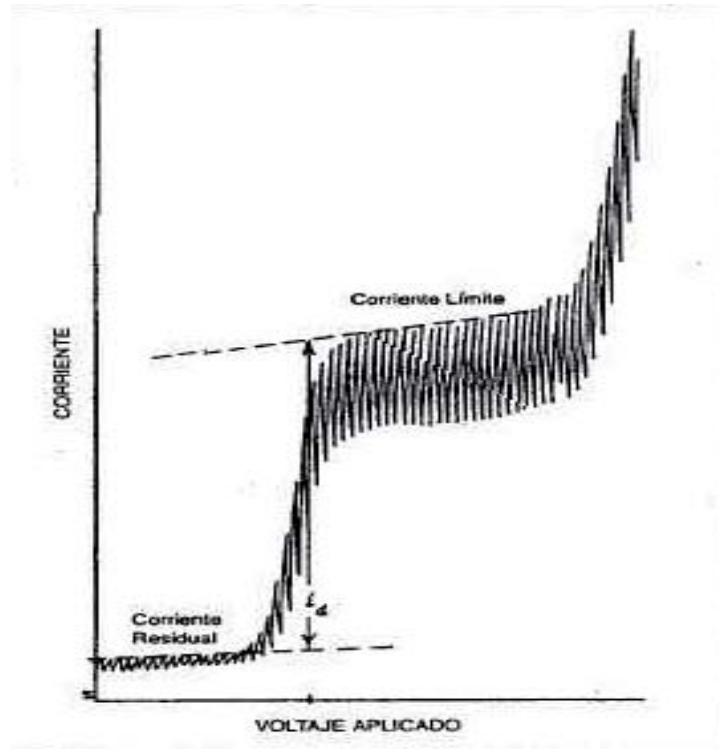


Figura. Medición de la altura de la onda.

710. SALES DE BASES ORGÁNICAS NITROGENADAS

Solución estándar - A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, preparar una solución en ácido sulfúrico diluido (1 en 70) que contenga en cada ml, aproximadamente 500 µg de la *Sustancia de referencia* especificada, calculada sobre la sustancia anhidra y exactamente pesada.

Solución muestra - Si la forma farmacéutica es un comprimido, pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte unidades. Pesar exactamente una porción del polvo, equivalente a 25 mg del principio activo, y transferirla a una ampolla de decantación de 125 ml. Si la forma farmacéutica es líquida, transferir un volumen de la misma exactamente medido, equivalente a 25 mg del principio activo, a una ampolla de decantación de 125 ml.

Agregar 20 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 350) a la ampolla de decantación y agitar durante 5 minutos. Agregar 20 ml de éter, agitar cuidadosamente, filtrar la fase ácida y transferirla a una segunda ampolla de decantación de 125 ml. Agitar la fase etérea con dos porciones de 10 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 350), filtrar cada porción de ácido en la segunda ampolla de decantación que contiene la fase ácida y descartar el éter. Agregar al extracto ácido 10 ml de hidróxido de sodio (SR) y 50 ml de éter, agitar cuidadosamente y separar ambas fases. La fase etérea se identifica como E1. Transferir la fase acuosa a una tercera ampolla de decantación de 125 ml que contenga 50 ml de éter. Agitar la

tercera ampolla de decantación cuidadosamente y descartar la fase acuosa. La fase etérea se identifica como E2. Lavar la fase etérea E1 con 20 ml de agua, separar la fase acuosa y emplear esta última para lavar la fase etérea E2. Separar y descartar el agua. Extraer cada una de las dos fases etéreas, E1 y E2, con porciones de 20; 20 y 5 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 70) en ese orden, pero extrayendo cada vez primero la fase etérea E2 de la tercera ampolla de decantación y después la fase etérea E1 de la segunda ampolla de decantación. Combinar los extractos ácidos en un matraz aforado de 50 ml, diluir a volumen con ácido y mezclar. Esta fracción constituye la *Solución muestra*. [NOTA: el éter puede sustituirse por hexano o heptano si esto mejora la extracción].

Procedimiento - A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, transferir 5,0 ml de la *Solución estándar* y 5,0 ml de la *Solución muestra* a sendos matraces aforados de 100 ml y completar a volumen con ácido sulfúrico diluido (1 en 70). Determinar la absorbancia de cada solución en celdas de 1 cm, a la longitud de onda especificada con un espectrofotómetro apropiado, empleando ácido sulfúrico diluido (1 en 70) como blanco. Designar la absorbancia de la solución obtenida a partir de la *Solución estándar* como A_E y la obtenida a partir de la *Solución muestra* como A_M . Calcular el resultado de la valoración según se especifica en la monografía correspondiente.

720. TERMOMETROS

Para seleccionar un termómetro, deben considerarse las condiciones bajo las cuales habrá de emplearse. En la *Tabla 1*, *Tabla 2* y *Tabla 3* se especifican las características de algunos termómetros útiles para los ensayos farmacopeicos.

Los límites inferior y superior del intervalo de temperatura especificado en las *Tablas* deben considerarse incluidos en el intervalo.

Tabla 1. Termómetros de uso general incluyendo determinaciones de intervalos de fusión.

Designación	Intervalo de temperatura (°C)	Graduaciones (°C)
TLG/1/-30/60	-30 a 60	1
TLG/1/0/100	0 a 100	1
TLG/1/0/300	-5 a 400	1
TLG/1/0/360	0 a 360	1

Tabla 2. Termómetros para la determinación de intervalos de ebullición o destilación y determinaciones de temperatura

Designación	Intervalo de temperaturas (°C)	Graduaciones (°C)
STL/0,2/-15/45	-15 a 45	0,2
STL/0,2/35/85	35 a 85	0,2
STL/0,2/75/125	75 a 125	0,2
STL/0,2/115/165	115 a 165	0,2
STL/0,2/155/205	155 a 205	0,2

Tabla 3. Termómetros para la determinación de intervalos de solidificación.

Designación	Intervalo de temperaturas (°C)	Graduaciones (°C)
STL/0,1/-25/5	-25 a 5	0,1
STL/0,1/-5/25	-5 a 25	0,1
STL/0,1/20/45	20 a 45	0,1
STL/0,1/40/65	40 a 65	0,1
STL/0,1/60/85	60 a 85	0,1
STL/0,1/80/105	80 a 105	0,1
STL/0,1/75/125	75 a 125	0,2
STL/0,1/125/165	125 a 165	0,2

730. TITULACIÓN CON NITRITO

Este método se emplea para la valoración de compuestos que posean amino primario aromático y sus formas farmacéuticas.

Sustancia de referencia - Sulfanilamida SR-FA.

Procedimiento - Transferir a un recipiente abierto aproximadamente 500 mg de muestra o la cantidad especificada en la monografía correspondiente, exactamente pesados. Agregar 20 ml de ácido clorhídrico y 50 ml de agua. Agitar hasta disolución, enfriar hasta aproximadamente 15 °C y titular lentamente con nitrito de sodio 0,1 M (SV) previamente estandarizado con la *Sustancia de referencia*.

Determinar el punto final empleando electrodos apropiados (platino-calomel o platino-platino). Colocar la punta de la bureta debajo de la superficie de la solución para evitar la oxidación del nitrito de sodio por el aire y agitar la solución suavemente empleando un agitador magnético. Mantener la temperatura a aproximadamente 15 °C. La titulación puede llevarse a cabo manualmente o a través de un titulador automático. En la valoración manual, agregar el titulante hasta 1 ml antes del punto final y luego agregar porciones de 0,1 ml,

esperando no menos de 1 minuto o entre cada agregado.

El peso de la muestra, en mg, equivalente a cada ml de nitrito de sodio 0,1 M (SV), es especificado en la monografía correspondiente.

Para la valoración de comprimidos de sulfonamidas u otros principios activos, reducir a polvo fino no menos de veinte comprimidos. Transferir una porción del polvo, equivalente a 500 mg de muestra o la cantidad de principio activo especificado en la monografía correspondiente, exactamente pesados, a un recipiente abierto y proceder según se indica anteriormente comenzando donde dice "*Agregar 20 ml de ácido clorhídrico...*".

Para la valoración de soluciones inyectables y otras formas líquidas para las cuales se especifica la titulación con nitrito, transferir un volumen, equivalente a 500 mg de muestra o la cantidad de principio activo especificada en la monografía correspondiente, exactamente medido, a un recipiente abierto y proceder según se indica anteriormente comenzando donde dice "*Agregar 20 ml de ácido clorhídrico...*".

740. UNIFORMIDAD DE UNIDADES DE DOSIFICACIÓN

La uniformidad de las unidades de dosificación puede realizarse mediante dos ensayos: *Uniformidad de peso* y *Uniformidad de contenido*.

Los requisitos para la *Uniformidad de peso* deben aplicarse cuando el producto a ensayar contiene 50 mg o más de un principio activo el cual corresponde al 50 % o más del peso de la unidad de la forma farmacéutica. La uniformidad en otras unidades de dosificación que contienen principio activo en una proporción menor a la mencionada anteriormente debe demostrarse mediante *Uniformidad de contenido*. Pero este último ensayo se exige en todos los casos para: Comprimidos recubiertos (excepto los de cubierta filmica), Sistemas transdérmicos, Suspensiones en envases unitarios o contenidas en cápsulas blandas, Aerosoles dosificadores y Supositorios.

Uniformidad de peso

Para determinar la uniformidad de unidades de dosificación mediante uniformidad de peso, seleccionar no menos de treinta unidades y proceder según se indica para cada forma farmacéutica:

Comprimidos y Comprimidos con cubierta filmica - Pesar exactamente y en forma individual diez comprimidos. A partir del resultado de la *Valoración* obtenido según se indica en la monografía correspondiente calcular el contenido de principio activo en cada uno de los diez comprimidos, asumiendo que dicho principio activo está uniformemente distribuido.

Cápsulas rígidas - Pesar exactamente y en forma individual diez cápsulas rígidas intactas, teniendo cuidado de conservar la identidad de cada unidad. Vaciar el contenido de cada cápsula. Pesar exactamente las cápsulas vacías individualmente y calcular para cada cápsula el peso de su contenido, restando al peso original de la misma el peso de la cápsula vacía. Calcular el contenido de principio activo en cada una de las diez cápsulas, empleando el resultado de la *Valoración* obtenido según se indica en la monografía correspondiente, asumiendo que dicho principio activo está uniformemente distribuido.

Cápsulas blandas - Pesar exactamente y en forma individual diez cápsulas intactas para obtener el peso original de cada una, teniendo cuidado de conservar la identidad de cada cápsula. Cortar las cápsulas y extraer el contenido mediante el lavado con un solvente apropiado. Dejar que el solvente ocluido en las cápsulas se evapore a temperatura ambiente durante aproximadamente 30 minutos; evitando absorción o pérdida de humedad. Pesar exactamente y en forma individual las cápsulas

vacías. Calcular el contenido neto de cada cápsula, restando al peso original el peso de cada unidad vacía. Calcular el contenido de principio activo en cada una de las diez cápsulas, empleando el resultado de la *Valoración* obtenido según se indica en la monografía correspondiente, asumiendo que dicho principio activo está uniformemente distribuido.

Sólidos (incluyendo sólidos estériles) - Proceder según se indica en *Cápsulas rígidas*.

Soluciones para inhalaciones - Proceder según se indica en *Cápsulas rígidas*.

Soluciones orales y jarabes - Pesar exactamente y en forma individual la cantidad de líquido que drena en no más de 5 segundos de diez unidades. Si fuera necesario tener en cuenta el volumen equivalente después de determinar la densidad aparente. Calcular el contenido de principio activo en cada una de las diez unidades, empleando el resultado de la *Valoración* obtenido según se indica en la monografía correspondiente.

Uniformidad de contenido

Para la determinación de uniformidad de unidades de dosificación mediante la valoración de unidades individuales, seleccionar no menos de treinta unidades y proceder según se indica:

Valorar diez unidades individualmente según se indica en la *Valoración*, a menos que se indique de otro modo en el *Procedimiento para uniformidad de contenido* en la monografía correspondiente. Cuando la cantidad de principio activo en una unidad de dosificación es menor que la requerida en la *Valoración*, ajustar el grado de dilución de las soluciones y/o el volumen de las alícuotas para que la concentración de los principios activos en la solución final sea del mismo orden que la obtenida en la valoración; o, para el caso de una titulación, si fuera necesario, emplear un titulante más diluido, procurando emplear un volumen apropiado del mismo (ver 780. *Volumetría*). Si se empleara cualquiera de estas modificaciones en la *Valoración* que establece la monografía correspondiente, realizar los cambios apropiados en la fórmula y en el factor de titulación.

Cuando se especifique un *Procedimiento especial para uniformidad de contenido* en la monografía correspondiente, se deben hacer las correcciones necesarias de los resultados obtenidos según se indica a continuación:

(1) Preparar una muestra con un número suficiente de unidades para proporcionar la cantidad de muestra requerida en la *Valoración*, más la cantidad requerida para el *Procedimiento para*

Uniformidad de contenido especificado en la monografía correspondiente. Reducir a polvo fino los comprimidos o mezclar el contenido de las cápsulas, suspensiones o sólidos en envases monodosis para obtener una mezcla homogénea. Si de esta manera no puede obtenerse una mezcla homogénea, emplear solventes apropiados u otros procedimientos para preparar una solución que contenga todo el principio activo y emplear alícuotas apropiadas de esta solución.

(2) Valorar separadamente porciones exactamente medidas de la muestra: (a) según se indica en la *Valoración* y (b) empleando el *Procedimiento especial para uniformidad de contenido* especificado en la monografía correspondiente.

(3) Calcular el peso de principio activo equivalente a una unidad de dosificación promedio, empleando: (a) el resultado obtenido en la *Valoración* y (b) el resultado obtenido por el *Procedimiento especial para uniformidad de contenido especificado* en la monografía correspondiente.

(4) Calcular el factor de corrección, F , por la fórmula siguiente:

$$F = A/P$$

en la cual A es el peso de principio activo equivalente a una unidad de dosificación promedio, obtenido en la valoración y P es el peso de principio activo equivalente a una unidad de dosificación promedio, obtenido por el *Procedimiento especial para uniformidad de contenido especificado* en la monografía correspondiente.

$$\text{Si, } \frac{(100 | A - P |)}{A} > 10$$

el empleo de un factor de corrección no es válido.

(5) Una corrección válida puede aplicarse sólo si F no es menor de 1,030 ni mayor de 1,100 o no menor de 0,900 ni mayor de 0,970. Si F está comprendido entre 0,970 y 1,030 no se requiere ninguna corrección.

(6) Si F se encuentra entre 1,030 y 1,100 o entre 0,900 y 0,970; calcular el peso de principio activo en cada unidad de dosificación, multiplicando cada uno de los pesos hallados empleando el *Procedimiento especial para uniformidad de contenido* especificado en la monografía correspondiente por el factor F .

Criterios

Aplicar los siguientes criterios, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente.

(A) Si el promedio de los límites especificados en la definición de concentración o potencia de cada producto en la monografía correspondiente es 100,0 % o menos.

COMPRIMIDOS, COMPRIMIDOS RECUBIERTOS, COMPRIMIDOS CON CUBIERTA FÍLMICA, SUPOSITORIOS, SUSPENSIONES, SOLUCIONES ORALES y JARABES, SÓLIDOS (INCLUYENDO SÓLIDOS ESTÉRILES) y SÓLIDOS ESTÉRILES PARA USO PARENTERAL - A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, los requisitos para la uniformidad se cumplen si la cantidad de principio activo en cada una de las diez unidades de dosificación determinada empleando el método de *Uniformidad de peso* o *Uniformidad de contenido* se encuentra dentro del intervalo de 85,0 a 115,0 % del valor declarado y la desviación estándar relativa menor o igual a 6,0 %.

Si una unidad está fuera de dicho intervalo y ninguna unidad está fuera del intervalo de 75,0 a 125,0 % del valor declarado, si la desviación estándar relativa es mayor a 6,0 % o si ambas condiciones prevalecen, ensayar veinte unidades adicionales. Los requisitos se cumplen si no más de una unidad de las treinta unidades de dosificación está fuera del intervalo de 85,0 a 115,0 % del valor declarado, ninguna unidad está fuera del intervalo de 75,0 a 125,0 % del valor declarado y la desviación estándar relativa de no es mayor a 7,8 %.

CÁPSULAS, SISTEMAS TRANSDÉRMICOS y SOLUCIONES PARA INHALACIÓN - A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, los requisitos para la uniformidad se cumplen si la cantidad de principio activo en no menos de nueve de las diez unidades de dosificación determinada empleando el método de *Uniformidad de peso* o *Uniformidad de contenido* se encuentra dentro del intervalo de 85,0 a 115,0 % del valor declarado, ninguna unidad está fuera del intervalo de 75,0 a 125,0 % del valor declarado y la desviación estándar relativa es menor o igual a 6,0 %.

Si dos o tres unidades de dosificación están fuera del intervalo de 85,0 a 115,0 % del valor declarado, pero no fuera del intervalo de 75,0 a 125,0 % del valor declarado, si la desviación estándar relativa es mayor a 6,0 % o si ambas condiciones prevalecen, ensayar veinte unidades adicionales. Los requisitos se cumplen si no más de tres unidades de las treinta unidades de dosificación están fuera del intervalo de, 85,0 a 115,0 % del valor declarado, ninguna unidad está fuera del intervalo de 75,0 a 125,0 % del valor declarado y la desviación estándar relativa no es mayor a 7,8 %.

AEROSOL DOSIFICADORES - [NOTA: una unidad de dosificación se define como el líquido

obtenido accionando la válvula, tantas veces como se indique en el rótulo, para obtener la dosis recomendada. Seguir las indicaciones de uso indicadas en el rótulo. Para la obtención de la unidad de dosificación del inhalador, proceder según se indica en el ensayo para *Uniformidad de contenido de la dosis* en 390. *Ensayos farmacéuticos para aerosoles.*] A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, los requisitos para la uniformidad se cumplen si la cantidad de principio activo liberado en no más de una de las diez unidades de dosificación, determinada según el método de *Uniformidad de contenido* cae fuera del intervalo de 75,0 a 125,0 % del valor declarado y ninguna unidad está fuera del intervalo de 65,0 a 135,0 % del valor declarado. Si dos o tres unidades de dosificación se encuentran fuera del intervalo de 75,0 a 125,0 % del valor declarado, pero no fuera del intervalo de 65,0 a 135,0 % del valor declarado, ensayar veinte unidades adicionales. Los requisitos se cumplen si no más de tres unidades de las treinta unidades de dosificación están fuera del intervalo de 75,0 a 125,0 % del valor declarado y ninguna unidad está fuera del intervalo de 65,0 a 135,0 % del valor declarado.

(B) Si el promedio de los límites especificados en la definición de concentración o potencia de cada producto en la monografía correspondiente es mayor de 100,0 %.

(1) Si el valor del promedio de las unidades de dosificación ensayadas es mayor o igual al promedio de los límites especificados en la definición de potencia en la monografía correspondiente, los requisitos son los descritos en (A), excepto que las palabras *valor declarado* se reemplazan por las palabras "valor declarado multiplicado por el promedio de los límites especificados en la definición de potencia en la monografía correspondiente dividido 100".

(2) Si el valor promedio de las unidades de dosificación ensayadas está entre 100 % y el promedio de los límites especificados en la definición de potencia en la monografía correspondiente, los requisitos son los descritos en (A), excepto que las palabras *valor declarado* se reemplazan por las palabras "valor declarado multiplicador por el valor promedio de las unidades de dosificación ensayadas (expresado como porcentaje del valor declarado) dividido 100".

750. VALORACIÓN DE ESTEROIDES

Los siguientes procedimientos se aplican a la determinación de esteroides codificados en la Farmacopea que poseen grupos funcionales reductores, como por ejemplo α -cetoles. A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, emplear el método de *Valoración directa*.

VALORACIÓN DIRECTA

Solución estándar - Disolver en alcohol una cantidad apropiada de la *Sustancia de referencia* especificada en la monografía correspondiente, previamente secada bajo las condiciones especificadas y exactamente pesada. Diluir cuantitativamente y en etapas con alcohol hasta obtener una solución con una concentración conocida de aproximadamente 10 μg por ml. Transferir 20 ml de esta solución a un erlenmeyer de 50 ml con tapón de vidrio.

Solución muestra - Proceder según se especifique en la monografía correspondiente.

Procedimiento - Agregar a cada uno de los dos erlenmeyer que contienen la *Solución muestra* y la *Solución estándar* y a un erlenmeyer similar que contiene 20,0 ml de alcohol que se empleará como blanco, 2,0 ml de una solución preparada disolviendo 50 mg de azul de tetrazolio en 10 ml de metanol, y mezclar. Agregar 2,0 ml de una mezcla de alcohol e hidróxido de tetrametilamonio (SR) (9:1) a cada erlenmeyer, mezclar y dejar reposar en la oscuridad durante exactamente 90 minutos. Determinar las absorbancias de las soluciones obtenidas partir de la *Solución muestra* y la *Solución estándar* en celdas de 1 cm, a 525 nm, con un espectrofotómetro apropiado, contra el blanco.

Calcular la cantidad de sustancia valorada empleando la fórmula indicada en la monografía correspondiente, en la cual C es la concentración; en μg por ml, de la *Solución estándar* y A_M y A_E son las absorbancias de las soluciones obtenidas a partir de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, respectivamente.

VALORACIÓN DE UN ESTEROIDE AISLADO PREVIAMENTE

En el siguiente procedimiento, el esteroide a valorar es separado de los esteroides relacionados y excipientes por cromatografía en capa delgada y valorado luego empleando el método descrito anteriormente. Emplear este método cuando se especifique en la monografía correspondiente.

Preparación de la placa - Preparar una mezcla de 30 g de gel de sílice para cromatografía y una

sustancia fluorescente apropiada con 65 ml de una mezcla de agua y alcohol (5:2). Extender la mezcla a una placa, de 20 cm \times 20 cm hasta obtener una capa uniforme de 0,25 mm de espesor y dejar secar a temperatura ambiente durante 15 minutos. Activar la placa a 105 °C durante 1 hora y almacenar en un desecador.

Fase móvil A - Cloruro de metileno y metanol (45:4).

Fase móvil B - Cloroformo y acetona (4:1).

Solución estándar - Disolver una cantidad apropiada de la *Sustancia de referencia* especificada en la monografía correspondiente, previamente secada y exactamente pesada, en una mezcla de cloroformo y alcohol (50:50), hasta obtener una solución con una concentración conocida de aproximadamente 2 mg por ml.

Solución muestra - Proceder según se especifique en la monografía correspondiente.

Procedimiento - Dividir la placa cromatográfica en tres secciones iguales; las secciones laterales se emplearán para aplicar la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, respectivamente. En la sección central se aplicará el blanco. Aplicar 200 μl de la *Solución muestra* y 200 μl de *Solución estándar* en bandas, a una distancia de 2,5 cm del borde de la placa, en la sección correspondiente. Secar con la ayuda de una corriente de aire, sin calentar. Empleando la *Fase móvil* especificada en la monografía correspondiente, desarrollar la placa hasta que el frente del solvente haya corrido aproximadamente 15 cm por encima de la zona de siembra. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar evaporar. Examinar la placa bajo luz ultravioleta y marcar la banda principal en la sección de la placa correspondiente a la *Solución estándar*. Marcar también las bandas correspondientes en las secciones de la *Solución muestra* y del blanco de la placa. Retirar el gel de sílice de cada banda por separado y transferirlo a sendos tubos de centrifuga de 50 ml con tapa de vidrio. A cada tubo agregar 25,0 ml de alcohol y agitar durante 2 minutos. Centrifugar durante 5 minutos, transferir 20 ml de la solución sobrenadante de cada tubo a un erlenmeyer de 50 ml con tapa de vidrio, agregar 2,0 ml de una solución preparada disolviendo 50 mg de azul de tetrazolio en 10 ml de metanol y mezclar. Proceder según se indica en el *Procedimiento* en *Valoración directa*, comenzando donde dice: "Agregar 2,0 ml de una mezcla...".

760. VALORACIÓN IODOMÉTRICA DE ANTIBIÓTICOS BETALACTÁMICOS

Solución estándar - Disolver una cantidad de la *Sustancia de referencia* especificada en la monografía correspondiente, previamente secada y exactamente pesada, en el solvente especificado en la *Tabla*. Diluir cuantitativamente y en etapas con el mismo solvente hasta obtener una solución con una concentración conocida aproximada a la especificada en la *Tabla*. Transferir 2,0 ml de esta solución a cada uno de dos erlenmeyers con tapón de vidrio de 125 ml.

Solución muestra - A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, disolver una cantidad de muestra, exactamente pesada, en el solvente especificado en la *Tabla*. Diluir cuantitativamente con el mismo solvente hasta obtener una solución con una concentración final conocida aproximada a la especificada en la *Tabla*. Transferir 2,0 ml de esta solución a cada uno de dos erlenmeyers con tapón de vidrio de 125 ml.

Procedimiento -

Inactivación y titulación - Agregar a 2,0 ml de la *Solución estándar* y a 2,0 ml de la *Solución muestra*, 2,0 ml de hidróxido de sodio 1,0 N, mezclar por rotación y dejar en reposo durante 15 minutos. Agregar a cada erlenmeyer 2,0 ml de ácido clorhídrico 1,2 N y 10,0 ml de yodo 0,01 N (SV). Tapar de inmediato y dejar reposar durante 15 minutos. Titular con tiosulfato de sodio

0,01 N (SV). Agregar antes del punto final 1 gota de yoduro-almidón (SR) y continuar la titulación hasta que el color azul desaparezca.

Titulación del blanco - Agregar 10,0 ml de yodo 0,01 N (SV) a un erlenmeyer que contenga 2,0 ml de la *Solución estándar*. Si la *Solución estándar* contiene amoxicilina o ampicilina, agregar de inmediato 0,1 ml de ácido clorhídrico 1,2 N. Seguidamente, titular con tiosulfato de sodio 0,01 N (SV). Agregar antes del punto final 1 gota de yoduro-almidón (SR) y continuar la titulación hasta que el color azul desaparezca. Proceder de forma similar con 2,0 ml de la *Solución muestra*.

Cálculos - Determinar los μg o unidades, F , equivalentes a cada ml de tiosulfato de sodio 0,01 N empleados para titular la *Solución estándar*, por la fórmula siguiente:

$$(2CM)/(B-1)$$

en la cual C es la concentración, en mg por ml, de *Sustancia de referencia* en la *Solución estándar*, M es la potencia, en μg por mg o unidades, de la *Sustancia de referencia*, B es el volumen, en ml, de tiosulfato de sodio 0,01 N empleado en la *Titulación del blanco* e I es el volumen, en ml, de tiosulfato de sodio 0,01 N empleado en la *Inactivación y titulación*. Calcular la potencia de la muestra por la fórmula dada en la monografía correspondiente.

Tabla. Solventes y concentraciones finales.

Antibiótico	Solvente ¹	Concentración final
Amoxicilina	Agua	1,0 mg por ml
Ampicilina	Agua	1,25 mg por ml
Ampicilina sódica	<i>Solución reguladora N° 1</i>	1,25 mg por ml
Bencilpenicilina potásica	<i>Solución reguladora N° 1</i>	2.000 unidades por ml
Bencilpenicilina sódica	<i>Solución reguladora N° 1</i>	2.000 unidades por ml
Cloxacilina sódica	Agua	1,25 mg por ml
Ciclacilina	Agua	1,0 mg por ml
Dicloxacilina sódica	<i>Solución reguladora N° 1</i>	1,25 mg por ml
Feneticilina potásica	<i>Solución reguladora N° 1</i>	2.000 unidades por ml
Fenoximetilpenicilina potásica	<i>Solución reguladora N° 1</i>	2.000 unidades por ml
Meticilina sódica	<i>Solución reguladora N° 1</i>	1,25 mg por ml
Nafcilina sódica	<i>Solución reguladora N° 1</i>	1,25 mg por ml
Oxacilina sódica	<i>Solución reguladora N° 1</i>	1,25 mg por ml

¹ A menos que se especifique de otro modo, las *Soluciones reguladoras* son las soluciones de fosfato de potasio definidas en *Diluyentes y medios* en 770. *Valoración microbiológica de antibióticos*. No se requiere su esterilización antes de usar.

770. VALORACIÓN MICROBIOLÓGICA DE ANTIBIÓTICOS

La valoración microbiológica de antibióticos se realiza comparando, en idénticas condiciones de ensayo, la inhibición de la multiplicación de microorganismos sensibles producida por concentraciones conocidas de una *Sustancia de referencia* frente a la inhibición producida por diluciones del antibiótico que se está valorando. Estos ensayos ponen de manifiesto la verdadera actividad antimicrobiana del producto. En este capítulo se presentan los procedimientos para la valoración de los antibióticos de esta Farmacopea, para los cuales la valoración microbiológica es el método de referencia.

Las *Sustancias de referencia* empleadas en los ensayos microbiológicos son sustancias cuya potencia (actividad) ha sido determinada con precisión frente a una *Sustancia de referencia* trazable al patrón internacional o a la preparación de referencia internacional correspondiente.

El ensayo debe ser diseñado de forma tal que permita verificar la validez del modelo matemático sobre el que se basa la ecuación del cálculo de potencia. Si se escoge un modelo de líneas paralelas, las dos rectas formadas por logaritmo de dosis y respuestas (o respuesta transformada) correspondientes a la preparación muestra y a la preparación de referencia deben ser paralelas. Asimismo, deben ser lineales en el intervalo de dosis empleado para el cálculo. También ambas rectas deben tener una regresión significativa. Estas condiciones deben verificarse mediante pruebas de validez para una determinada probabilidad, generalmente $p=0,05$.

Para determinar si un antibiótico cumple con los requisitos de potencia especificados en la monografía correspondiente; debe repetirse la valoración y combinarse los resultados estadísticamente hasta lograr la precisión requerida. Esta debe ser tal que los límites de confianza ($P=0,95$), expresados porcentualmente, se encuentren dentro del intervalo de potencia especificado en la monografía correspondiente.

Se emplean dos métodos generales: método de difusión en agar o en placa y método turbidimétrico o en tubo. El primero se basa en la difusión del antibiótico desde un punto de aplicación, a través de una capa de agar inoculado con el microorganismo de ensayo. La difusión origina zonas o halos de inhibición del microorganismo, cuyo tamaño (diámetro) está en relación con la concentración de antibiótico. El método turbidimétrico se efectúa en un medio de cultivo líquido inoculado con un microorganismo de ensayo, al que se le agregan

concentraciones crecientes del antibiótico. Luego del período de incubación se determina la turbidez producida por el desarrollo microbiano, la cual está en función de la concentración del antibiótico.

Para obtener el intervalo de concentraciones de trabajo, debe realizarse previamente una curva dosis-respuesta y aplicar los métodos estadísticos apropiados (ver *Cálculos*).

Sustancias de referencia y unidades

La potencia de los antibióticos se expresa en Unidades o μg de actividad. En cada caso, la Unidad o μg de actividad antibiótica se establece y define internacionalmente. [NOTA: no se debe asumir que la Unidad debe necesariamente corresponder a los μg (peso) del antibiótico].

DILUYENTES Y MEDIOS

Soluciones reguladoras de fosfato y otras soluciones

Las soluciones reguladoras se deben esterilizar luego de ser preparadas y el pH recomendado en cada caso corresponde al determinado luego de su esterilización.

Solución reguladora N° 1 (1 %; pH 6,0) - Disolver 2,0 g de fosfato dibásico de potasio y 8,0 g de fosfato monobásico de potasio en 1 litro de agua. Ajustar a $\text{pH } 6,00 \pm 0,05$ con ácido fosfórico 18 N o hidróxido de potasio 10 N.

Solución reguladora N° 3 (0,1 M; pH 8,0) - Disolver 16,73 g de fosfato dibásico de potasio y 0,523 g de fosfato monobásico de potasio en 1 litro de agua. Ajustar a $\text{pH } 8,0 \pm 0,1$ con ácido fosfórico 18 N o hidróxido de potasio 10 N.

Solución reguladora N° 4 (0,1 M; pH 4,5) - Disolver 13,61 g de fosfato monobásico de potasio en 1 litro de agua. Ajustar a $\text{pH } 4,50 \pm 0,05$ con ácido fosfórico 18 N o hidróxido de potasio 10 N.

Solución reguladora N° 6 (10 %; pH 6,0) - Disolver 20,0 g de fosfato dibásico de potasio y 80,0 g de fosfato monobásico de potasio en 1 litro de agua. Ajustar a $\text{pH } 6,00 \pm 0,05$ con ácido fosfórico 18 N o hidróxido de potasio 10 N.

Solución reguladora N° 10 (0,2 M; pH 10,5) - Disolver 35,0 g de fosfato dibásico de potasio en 1 litro de agua y agregar 2 ml de hidróxido de potasio 10 N. Ajustar a $\text{pH } 10,5 \pm 0,1$ con ácido fosfórico 18 N o hidróxido de potasio 10 N.

Solución reguladora N° 16 (0,1 M; pH 7,0) - Disolver 13,6 g de fosfato dibásico de potasio y 4,0 g de fosfato monobásico de potasio en 1 litro de agua. Ajustar a $\text{pH } 7,0 \pm 0,2$ con ácido fosfórico 18 N o hidróxido de potasio 10 N.

Otras soluciones - Emplear las sustancias especificadas en *Reactivos y Soluciones*. Cuando se indique agua, emplear *Agua purificada*; cuando se indique solución fisiológica, emplear *Solución Inyectable de cloruro de sodio*; cuando se indique formaldehído diluido, emplear *Solución de formaldehído* diluida 1:3 con agua.

Medios

Los medios empleados para la preparación del inóculo microbiano y para la realización del ensayo están constituidos por los componentes que se indican a continuación. Se admiten modificaciones menores de los componentes individuales o el empleo de medios deshidratados reconstituidos, siempre que los medios resultantes posean iguales o mejores propiedades para estimular el desarrollo microbiano y proporcionen una curva dosis-respuesta, similar.

Se deben disolver los componentes y agregar agua hasta obtener un litro. Se requiere que las soluciones se ajusten con hidróxido de sodio 1 N o con ácido clorhídrico 1 N de manera que luego de la esterilización por vapor se obtenga el pH especificado.

Medio 1

Peptona	6,0 g
Digerido pancreático de caseína	4,0 g
Extracto de levadura	3,0 g
Extracto de carne vacuna	1,5 g
Dextrosa	1,0 g
Agar	5,0 g
Agua c.s.p	1.000 ml
pH después de la esterilización: 6,6 ± 0,1.	

Medio 2

Peptona	6,0 g
Extracto de levadura	3,0 g
Extracto de carne vacuna	1,5 g
Agar	15,0 g
Agua c.s.p	1.000 ml
pH después de la esterilización: 6,6 ± 0,1.	

Medio 3.

Peptona	5,0 g
Extracto de levadura	1,5 g
Extracto de carne vacuna	1,5 g
Cloruro de sodio	3,5 g
Dextrosa	1,0 g
Fosfato dibásico de potasio	3,68 g
Fosfato monobásico de potasio	1,32 g
Agua c.s.p	1.000 ml
pH después de la esterilización: 7,00 ± 0,05	

Medio 5

Proceder del mismo modo que para el *Medio 2*, excepto que el pH final después de la esterilización debe ser: 7,9 ± 0,1.

Medio 8

Proceder del mismo modo que para el *Medio 2*, excepto que el pH final después de la esterilización debe ser: 5,9 ± 0,1.

Medio 9

Digerido pancreático de caseína	7,0 g
Digerido papaínico de soja	3,0 g
Cloruro de sodio	5,0 g
Fosfato dibásico de potasio	2,5 g
Dextrosa	2,5 g
Agar	20,0 g
Agua c.p.s	1.000 ml
pH después de la esterilización: 7,2 ± 0,1.	

Medio 10

Proceder del mismo modo que para el *Medio 9*, excepto que se deben emplear 12,0 g de agar en lugar de 20,0 g y agregar 10 ml de Polisorbato 80 después de calentar a ebullición el medio para disolver el agar. El pH después de la esterilización debe ser: 7,2 ± 0,1.

Medio 11

Proceder del mismo modo que para el *Medio 1*, excepto que el pH final después de la esterilización debe ser: 8,3 ± 0,1.

Medio 13

Dextrosa	20,0 g
Peptona	10,0 g
Agua c.p.s	1.000 ml
pH después de la esterilización: 5,6 ± 0,1.	

Medio 19

Peptona	9,4 g
Extracto de levadura	4,7 g
Extracto de carne vacuna	2,4 g
Cloruro de sodio	10,0 g
Dextrosa	10,0 g
Agar	23,5 g
Agua c.s.p	1.000 ml
pH después de la esterilización: 6,1 ± 0,1.	

Medio 32

Proceder del mismo modo que para el *Medio 1*, excepto que se deben agregar 0,3 g de sulfato de manganeso.

Medio 34

Glicerina	10,0 g
Peptona	10,0 g
Extracto de carne vacuna	10,0 g
Cloruro de sodio	3,0 g
Agua c.p.s	1.000 ml
pH después de la esterilización: 7,0 ± 0,1.	

Medio 35

Proceder del mismo modo que para el *Medio 34*, excepto que se deben agregar 17,0 g de agar.

Medio 36

Digerido pancreático de caseína	15,0 g
---------------------------------	--------

Digerido papaínico de soja	5,0 g
Cloruro de sodio	5,0 g
Agar	15,0 g
Agua c.s.p	1.000 ml
pH después de la esterilización: $7,3 \pm 0,1$.	

Medio 39

Proceder del mismo modo que para que el Medio 3, excepto que el pH final después de la esterilización debe ser: $7,9 \pm 0,1$.

Medio 40

Extracto de levadura	20,0 g
Polipeptona	5,0 g
Dextrosa	10,0 g
Fosfato monobásico de potasio	2,0 g
Polisorbato 80	0,1 g
Agar	10,0 g
Agua c.s.p	1.000 ml
pH después de la esterilización: $6,7 \pm 0,2$.	

Medio 41

Digerido pancreático de caseína	9,0 g
Dextrosa	20,0 g
Extracto de levadura	5,0 g
Citrato de sodio	10,0 g
Fosfato monobásico de sodio	1,0 g
Fosfato dibásico de potasio	1,0 g
Agua c.s.p	1.000 g
pH después de la esterilización: $6,8 \pm 0,1$.	

CONDICIONES GENERALES DE ENSAYO

Los términos potencia declarada, potencia supuesta, relación de potencia y potencia estimada se emplean para indicar los siguientes conceptos:

Potencia declarada o en etiqueta - En el caso de un producto formulado, es un valor nominal asignado a partir del conocimiento de la potencia del material a granel; en el caso de material a granel, es la potencia estimada por el elaborador.

Potencia supuesta o asumida - Es la potencia provisoriamente asignada de una preparación muestra que forma la base del cálculo de las dosis que podrían ser equipotentes con las dosis a emplear de la preparación patrón.

Potencia asignada - Es la potencia de la preparación estándar.

Relación de Potencias - Es la razón de dosis equipotentes de la preparación patrón y la preparación muestra, bajo las condiciones del ensayo.

Potencia estimada - Es la potencia a partir de los datos del ensayo.

Preparación del estándar -

Preparar una solución madre del estándar disolviendo una cantidad previamente secada, si fuera necesario, y exactamente pesada de la

Sustancia de referencia correspondiente. Diluir con el solvente especificado en la *Tabla 1* hasta obtener la concentración indicada. Almacenar la solución en un refrigerador y emplearla dentro del período de uso indicado. En el día del ensayo preparar, a partir de la solución madre del estándar, tres o más diluciones en progresión geométrica empleando el diluyente especificado.

Preparación de la muestra -

Se debe asumir una potencia por unidad de peso o volumen de acuerdo con la información disponible de la preparación muestra. Bajo esta hipótesis se debe preparar en el día del ensayo una solución madre de la muestra y tres o más diluciones en progresión geométrica equipotentes con las preparadas de estándar como se especifica para cada antibiótico. Emplear los mismos diluyentes que se indican para la *Sustancia de referencia*.

Preparación del microorganismo de ensayo-

Se recomienda emplear preferentemente cepas de colección, las que se repicarán periódicamente en medios apropiados para el mantenimiento de los microorganismos según se indica en la *Tabla 3*. De ser posible, las cepas deben ser liofilizadas para su mejor conservación. El microorganismo a emplear con cada antibiótico se especifica en la *Tabla 2*.

Preparación de la suspensión y estandarización

- El microorganismo a emplearse se repica en tubos de ensayo que contengan el medio apropiado solidificado en forma inclinada y se incuba a tiempo y temperatura apropiados. Una vez desarrollados los microorganismos:

a- Para el caso de ensayo en placa: suspenderlos con el agregado de Solución fisiológica (SR) estéril y la ayuda de perlas de vidrio estériles obteniendo así la suspensión original.

b- Para el caso de ensayo en tubo: tomar una ansada del cultivo, inocular 100 ml de medio líquido e incubar durante 16 a 24 horas a temperatura apropiada obteniendo así la suspensión original.

La suspensión original (a) se estandariza espectrofotométricamente efectuando la dilución indicada en la *Tabla 3* en solución fisiológica (SR) estéril, a 580 nm, llevándola a una transmitancia de 25 %, pudiendo ser necesario ajustar la suspensión original y empleando solución fisiológica (SR) como blanco. Si se prepara la suspensión original (b), se emplea como blanco una porción del mismo medio líquido sin inocular.

Preparación de la suspensión de esporas y estandarización - Repicar los microorganismos en tubos de ensayo que contengan el medio apropiado solidificado en forma inclinada. Incubar de 16 a

24 horas a una temperatura de 32 a 35 °C. Suspender el desarrollo del microorganismo así en solución fisiológica (SR) estéril con la ayuda de perlas de vidrio estériles. Transferir la suspensión proveniente de los tubos de repique a una botella de Roux que contenga 250 ml del *Medio 32* y dispersar sobre toda la superficie con ayuda de las perlas de vidrio estériles. Incubar de 5 a 7 días a una temperatura de 32 a 35 °C.

El cultivo así obtenido se suspende en 50 ml de agua estéril y se calienta a 65 °C durante 30 minutos en un baño termostatzado para eliminar las formas vegetativas. Centrifugar a 3.000 rpm. durante 20 minutos y descartar el sobrenadante. Repetir este procedimiento no menos de tres veces, a partir del agregado de *Agua purificada estéril*. Luego de la última centrifugación, descartar el sobrenadante, resuspender y llevar nuevamente a 65 °C durante 30 minutos. Las esporas así preparadas y almacenadas a una temperatura de 2 a 8 °C tienen una vida útil aproximada de 6 meses. Verificar el rendimiento del proceso con coloración para esporas y Gram (aproximadamente 80 % de formación de esporas).

Debe realizarse un ensayo en placa para asegurar la viabilidad de las esporas y determinar el volumen de suspensión de esporas a agregar por cada 100 ml de medio de cultivo.

Para ambos métodos de valoración, determinar por medio de ensayos preliminares el volumen de suspensión original a emplear como inóculo cada 100 ml de medio de cultivo, comenzando con el volumen sugerido en la *Tabla 3*, de modo tal que se obtengan como respuesta las zonas de inhibición claramente definidas y de diámetro conveniente o una turbidez apropiada a las diferentes dosis de *Sustancia de referencia*.

MÉTODOS GENERALES DE VALORACIÓN MICROBIOLÓGICA

Método de difusión en agar

Procedimiento - De acuerdo con el antibiótico a valorar, fundir una cantidad suficiente de medio de cultivo estéril según se indica en la *Tabla 3*, enfriar a temperatura apropiada (por ej., entre 45 y 50 °C para las formas vegetativas), inocular el medio y agitar por rotación hasta lograr una suspensión homogénea.

Emplear placas de Petri o bandejas rectangulares de fondo plano y, trabajando sobre una superficie plana y horizontal, verter en las placas un volumen determinado de medio inoculado para formar una capa uniforme de 2 a 5 mm de espesor. Alternativamente, el medio puede estar formado por dos capas, aunque sólo se inocule la superior.

Para algunos microorganismos de ensayo, el procedimiento puede mejorarse si las placas inoculadas se dejan secar durante 30 minutos antes de ser empleadas o si se refrigeran a 4 °C durante varias horas.

Los reservorios empleados generalmente son cilindros estériles de porcelana, de acero inoxidable o de cualquier otro material apropiado, discos estériles de papel o pocillos excavados en el agar. El volumen que se carga en los reservorios debe ser uniforme y con una tolerancia máxima de 5 %.

Emplear los solventes y las soluciones reguladoras indicadas en la *Tabla 1* para preparar las soluciones de la *Sustancia de referencia* y las del antibiótico a ensayar. Para asegurar la validez de la valoración, emplear por lo menos tres concentraciones diferentes de la *Sustancia de referencia* y tres concentraciones del antibiótico a ensayar que presumiblemente tengan la misma actividad que las soluciones de la *Sustancia de referencia*. Se deben emplear series de concentraciones en progresión geométrica para aplicar el método estadístico (ver *Cálculos*).

Distribuir las diluciones en cada placa de Petri o en cada placa rectangular, según un plan estadísticamente apropiado. En el caso de placas pequeñas que no pueden contener más de seis diluciones, alternar las diluciones del antibiótico y las diluciones de la *Sustancia de referencia*, con el fin de evitar cualquier interacción entre las diluciones de mayor concentración.

Las placas de Petri deben incubarse sin invertirla temperatura indicada $\pm 0,5$ °C durante 18 horas aproximadamente. Es aconsejable un período de predifusión antes de la incubación, que puede oscilar de 30 minutos a 4 horas, a temperatura ambiente o próxima a 4°C, según el caso, esto tiene por finalidad reducir los efectos de desfase de tiempo entre la aplicación de las diferentes soluciones sobre las placas y así mejorar la recta de regresión o bien obtener halos mayores y más nítidos.

Empleando un instrumento de medición apropiado, medir el diámetro de cada halo con una precisión de hasta la décima de mm. Calcular la actividad empleando métodos estadísticos apropiados (ver *Cálculos*). Emplear el suficiente número de réplicas por concentración de antibiótico en cada ensayo (no menos de cuatro placas) para asegurar la precisión estadística.

Método turbidimétrico

Procedimiento - Inocular un volumen de medio de cultivo preferentemente conservado a una temperatura de 2 a 8 °C, con un volumen determinado de suspensión original estandarizada

del microorganismo apropiado y emplearlo inmediatamente.

Para preparar las soluciones de la *Sustancia de referencia* y las soluciones del antibiótico a ensayar en concentraciones que se consideren iguales, emplear los solventes y las soluciones reguladoras indicadas en la *Tabla 1*.

En tubos de ensayo estériles e idénticos, transferir volúmenes iguales de cada solución y agregar el mismo volumen de medio de cultivo inoculado a cada uno de ellos (como por ej., 1 ml de solución y 9 ml de medio).

Preparar simultáneamente dos tubos control que contengan cada uno 9 ml de medio de cultivo inoculado y 1 ml de solvente empleado (sin antibiótico). Agregar inmediatamente a uno de ellos 0,5 ml de formaldehído diluido. Este tubo será empleado como blanco y sirve para calibrar el espectrofotómetro. El tubo restante, constituye el testigo de crecimiento que se emplea para determinar la finalización de la incubación.

Para asegurar la validez de la valoración, emplear por lo menos tres concentraciones diferentes de la *Sustancia de referencia* y tres concentraciones del antibiótico a ensayar que presumiblemente tengan la misma actividad que las soluciones de la *Sustancia de referencia*. Se deben emplear series de concentraciones en progresión geométrica para aplicar el método estadístico (ver *Cálculos*).

Ubicar todos los tubos, distribuidos al azar, en cuadrado latino o en bloques aleatorios, en un baño de agua a 37 °C (28 °C para *Candidina*). Tomar precauciones para asegurar una distribución homogénea del calor e idéntico tiempo de incubación, generalmente de 2 a 4 horas.

Luego de la incubación, detener la multiplicación de los microorganismos por adición al azar de 0,5 ml de formaldehído diluido a cada tubo, excepto a los tubos rotulados como blanco. Medir la turbidez del contenido de cada tubo con un espectrofotómetro apropiado, a 530 nm. Calcular la actividad empleando los métodos estadísticos apropiados (ver *Cálculos*).

En cada ensayo, emplear el número de réplicas por concentración de antibiótico (no menor de cuatro tubos) para asegurar la precisión estadística.

[NOTA: el procedimiento para ambos métodos, debe realizarse en condiciones asépticas].

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Curva Dosis-Respuesta - Para comprobar si cualquier ensayo en particular se está realizando por el modelo de rectas paralelas, es necesario examinar, previo a la realización de ensayos de rutina, la relación dosis respuesta del componente

activo. Cuando la diferencia entre la relación del logaritmo de la dosis y la respuesta de la preparación patrón, se desvía notablemente del efecto teórico, el modelo de rectas paralelas no es válido para este ensayo en particular. Debe verificarse que en el intervalo de dosis empleado en los ensayos, la relación entre el logaritmo de dosis y la respuesta; es representada por una recta de adecuada regresión y linealidad, con una probabilidad de 0,05.

Diseños de ensayo - La asignación de las unidades experimentales a los diferentes tratamientos pueden realizarse de distintas formas.

Diseño completamente aleatorio - Si la totalidad de las unidades experimentales parece ser razonablemente homogénea, sin indicación alguna de que la variabilidad de la respuesta sea distinta dentro de ciertos subgrupos reconocibles la asignación de las unidades a los diferentes tratamientos debe hacerse aleatoriamente.

Diseño en bloque aleatorio - En este diseño, es posible segregar una fuente identificable de variación, tal como la variación entre placas de Petri en un ensayo microbiológico por difusión. El diseño requiere que todos los tratamientos se apliquen el mismo número de veces en cada bloque (placa de Petri) y es apropiado solamente cuando el bloque es lo suficientemente grande como para acomodar todos los tratamientos.

Diseño de cuadrado latino - Este diseño es apropiado cuando la respuesta puede verse afectada por dos fuentes diferentes de variación, cada una de las cuales puede asumir k niveles o posiciones diferentes. En un ensayo en placa de un antibiótico, los tratamientos pueden disponerse en una serie de $k \times k$ sobre una placa grande, realizándose cada tratamiento una vez en cada fila y en cada columna. El diseño es apropiado cuando el número de filas, el número de columnas y el número de tratamientos son iguales.

Pruebas de validez

El ensayo es estadísticamente válido si el resultado del análisis de la varianza cumple como mínimo con los siguientes requisitos:

1- Regresión: debe ser significativa para un valor de $p \leq 0,05$. El estadístico F calculado debe ser mayor que el F que figura en la tabla de Fischer para un valor de $\alpha \leq 0,05$ para los grados de libertad correspondientes al numerador y denominador del estadístico F calculado.

2- Desvío del paralelismo: debe ser no significativo para un valor de $p \geq 0,05$. El estadístico F calculado debe ser menor que el F que figura en la tabla de Fischer para un valor de $\alpha \geq 0,05$ para los grados de libertad correspondientes al

numerador y denominador del estadístico F calculado.

3- Desvío de la linealidad: debe ser no significativa para un valor de $p \geq 0,05$. El estadístico F calculado debe ser menor que el F que figura en la tabla de Fischer para un valor de $\alpha \geq 0,05$ para los grados de libertad correspondientes al numerador y denominador del estadístico F calculado.

Sólo una vez que se ha demostrado la validez estadística del ensayo puede calcularse la potencia de la preparación desconocida y sus intervalos de confianza aplicando los cálculos que se describen en *Cálculos*.

[NOTA: para ambos métodos de valoración, si la potencia calculada es menor de 80 % o mayor de 125 % que la supuesta para el producto o antibiótico analizado, ajustar las concentraciones de las soluciones muestra hasta alcanzar igual actividad supuesta que las soluciones de referencia y repetir la valoración].

Cálculos

Tabla para el registro de respuestas.

	P_1	P_2	P_3	\dots	P_d	M_1	M_2	M_3	\dots	M_d	R
A											R_A
B											R_B
·											·
·											·
·											·
n											R_n
N	S_1	S_2	S_3	\dots	S_n	T_1	T_2	T_3	\dots	T_n	

Donde $P_1 < P_2 < P_3$ y $M_1 < M_2 < M_3$

Fórmulas para efectuar el ANOVA para el modelo de rectas paralelas con d dosis de cada preparación.

	Estándar (S)	Muestra 1 (T)	Muestra 2 (U)
Respuesta media de la menor dosis	S_1	T_1	U_1
Respuesta media de la segunda dosis	S_2	T_2	U_2
.....	\dots	\dots	\dots
Respuesta media de la mayor dosis	S_d	T_d	U_d
Total de las preparaciones	$P_s = S_1 + S_2 + \dots + S_d$	$P_T = T_1 + T_2 + \dots + T_d$	$P_U = U_1 + U_2 + \dots + U_d$
Contraste lineal	$L_s = 1S_1 + 2S_2 + \dots + dS_d - \frac{1}{2}(d+1)P_s$	$L_T = 1T_1 + 2T_2 + \dots + dT_d - \frac{1}{2}(d+1)P_T$	$L_U = 1U_1 + 2U_2 + \dots + dU_d - \frac{1}{2}(d+1)P_U$

d: Número de dosis por tratamiento.

h: Número de preparaciones.

n: Número de réplicas.

hd: Número de tratamientos.

Fórmulas adicionales para el análisis de varianza:

$$H_p = \frac{n}{d}$$

$$H_L = \frac{12n}{d^3 - d}$$

$$K = \frac{n(P_s + P_T + \dots)^2}{hd}$$

Fórmulas para cálculo de Suma de Cuadrados y grados de libertad.

Fuentes de variación	Grados de libertad (g)	Suma de cuadrados (SC)
Preparaciones	$h-1$	$SC_{prep} = H_p (P_s^2 + P_T^2 + \dots) - K$
Regresión lineal	1	$SC_{reg} = 1/h H_L (L_s + L_T + \dots)^2$
Desviación del paralelismo	$h-1$	$SC_{desv.par} = H_L (L_s^2 + L_T^2 + \dots) - SC_{reg}$
Desviación de linealidad	$h(d-2)$	$SC_{desv.lin} = SC_{trat.} - SC_{prep} - SC_{reg} - SC_{desv.par}$
Tratamientos	$hd-1$	$SC_{trat.} = n(S_1^2 + S_2^2 + \dots + S_d^2 + T_1^2 + T_2^2 + \dots + T_d^2) - K$

Estimación del Error Residual.

Fuentes de variación	Grados de libertad (g)	Suma de Cuadrados (SC)
Bloques (Filas) (*)	$n - 1$	$SC_{bloques} = hd(R_A^2 + \dots + R_n^2) - K$
Columnas (**)	$n - 1$	$SC_{col.} = hd(C_1^2 + \dots + C_d^2) - K$
Error Residual	Comp. Aleatorizado	$hd(n - 1)$ $SC_{residual} = SC_{tot} - SC_{trat}$
	Aleat. En Bloques	$(hd - 1)(n - 1)$ $SC_{residual} = SC_{tot} - SC_{trat} - SC_{bloques}$
	Cuadrado latino	$(hd - 2)(n - 1)$ $SC_{residual} = SC_{tot} - SC_{trat} - SC_{filas} - SC_{column}$
TOTAL	$h(d - 2)$	$SC_{tot.} = \sum (y - y)^2$

(*) No se calcula para el diseño completamente aleatorizado. R es la media de respuestas para cada bloque o fila.

(**) Solo se calcula para el diseño cuadrado latino.

El cuadrado medio de cada una de las fuentes de variación se calcula como el cociente entre la Suma de Cuadrados (SC) y sus correspondientes grados de libertad.

$$CM_{fte.de\ variaci3n} = \frac{SC_{fte.de\ variaci3n}}{gl_{fte.de\ variaci3n}}$$

El F calculado es el cociente entre el Cuadrado Medio (CM) de la fuente de variación y el Cuadrado Medio del Error ($CM_{error} = s^2$).

$$F_{calculado} = \frac{CM_{fte.de\ variaci3n}}{CM_{error}}$$

Estimación de potencia e Intervalos de Confianza:

$$I = \text{Log} \left(\frac{P_2}{P_1} \right) = \text{Log} P_2 - \text{Log} P_1$$

$$V = \frac{SC_{reg}}{b^2 dn}$$

$$b = \frac{H_L(L_S + L_T + \dots)}{Inh}$$

$$C = \frac{SC_{reg.}}{SC_{reg.} - s^2 \times t^2}$$

$$M'_T = \frac{P_T - P_S}{db}$$

$$M'_{Sup} = C \times M'_T + \sqrt{(C-1)(C \times M'_T + 2 \times V)}$$

$$M'_{Inf} = C \times M'_T - \sqrt{(C-1)(C \times M'_T + 2 \times V)}$$

$$R = \text{anti log } M'_T$$

$$R_{inf} = \text{anti log } M'_{inf}$$

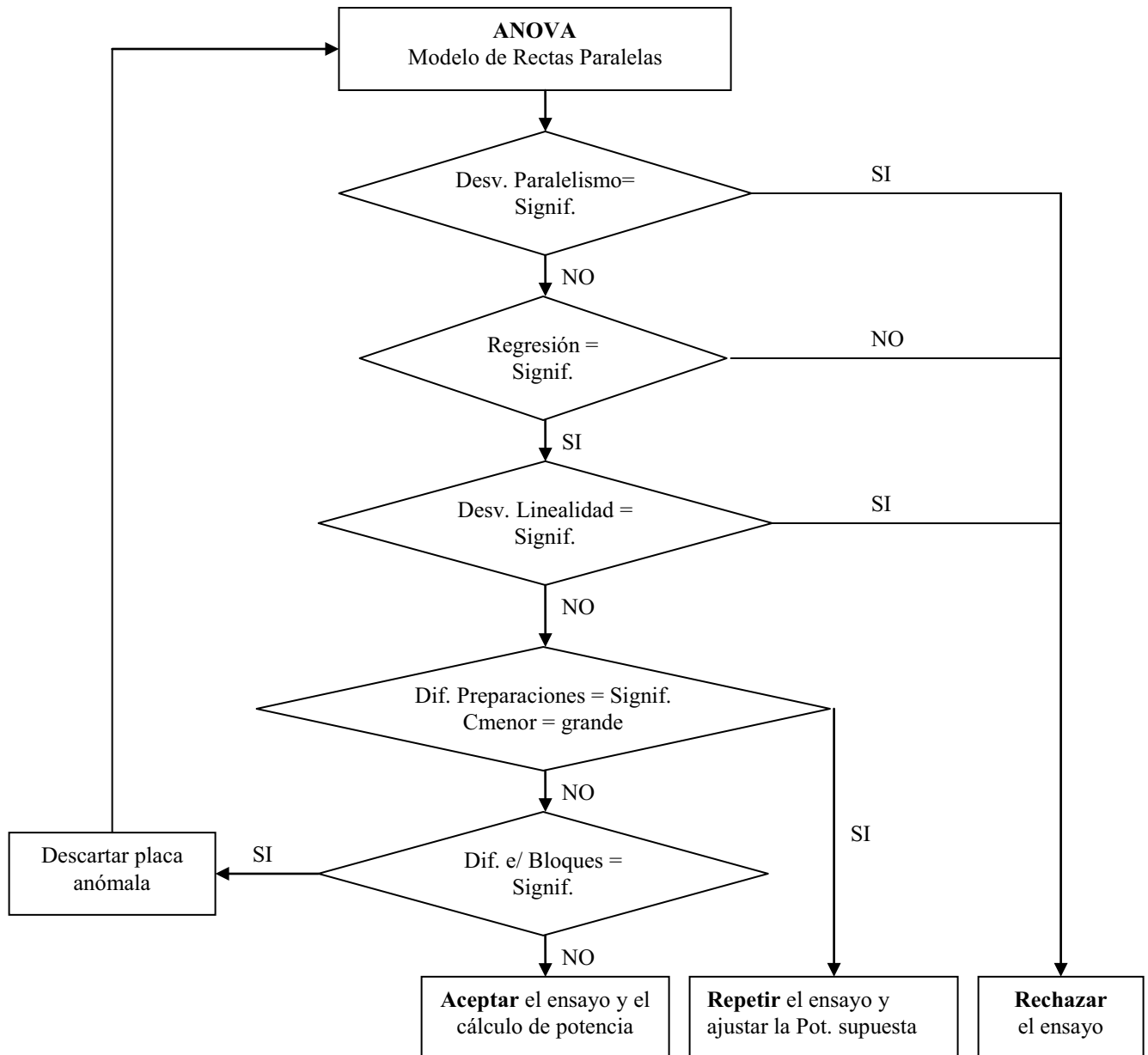
$$R_{sup} = \text{anti log } M'_{sup}$$

$$Potencia_{estimada} = R \times Potencia_{supuesta}$$

$$\text{Límite de Confianza}_{\text{superior}} = R_{\text{sup}} \times \text{Potencia}_{\text{Supuesta}}$$

$$\text{Límite de Confianza}_{\text{inferior}} = R_{\text{Inf}} \times \text{Potencia}_{\text{Supuesta}}$$

Diagrama de flujo de las pruebas de validez para el modelo de rectas paralelas



Curva Dosis-Respuesta:

Tabla para el registro de respuestas.

	P₁	P₂	P₃	...	P_d	R
A						R_A
B						R_B
·						·
·						·
·						·
n						R_n
N	S₁	S₂	S₃	...	S_d	

Donde $P_1 < P_2 < P_d$

Fórmulas para cálculo de Suma de Cuadrados y grados de libertad

Fuentes de variación	Grados de libertad (g)	Suma de cuadrados (SC)
Regresión lineal	1	$SC_{reg} = (Sxy)^2 / (Sxx)$
Desviación de Linealidad	$d - 2$	$SC_{desv. Lin.} = SC_{trat} - SC_{reg.}$
Tratamientos	$d - 1$	$SC_{trat.} = \sum (Ti^2 / ni) - G^2 / N$
Error	<u>$(dn - 2)$</u>	$SC_{error} = SC_{total} - SC_{trat.} - SC_{bloques}$
Total	<u>$dn - 1$</u>	$SC_{total} = \sum Y^2 - G^2 / N$

$$S_{xy} = \frac{\sum X_i T_i - (\sum n_i x_i \sum T_i)}{N}$$

$$S_{xx} = \frac{\sum n_i x_i^2 - (\sum n_i x_i)^2}{N}$$

Glosario

A-B-...-N: Réplicas o bloques según corresponda al diseño estadístico.

b : Pendiente de la regresión lineal en los logaritmos de las dosis.

C: Estadístico empleado para el cálculo de los Intervalos de Confianza

CM: Cuadrado medio: cociente entre la Suma de Cuadrados de la fuente de variación y sus grados de libertad.

d: Número de niveles de dosis para cada preparación.

dh: Número total de tratamientos en la valoración.

F: Estadístico a comparar con el valor tabulado en tablas de distribución *F* de Ficher para los grados de libertad correspondientes al numerador y denominador del estadístico *F* calculado.

$$F_{calculado} = \frac{CM_{fie.de\ variación}}{CM_{error}}$$

$$G^2/N: (\sum y_i)^2/N$$

h: Número de preparaciones en la valoración que incluyen a la del estándar.

H_p, H_T: Multiplicadores empleados en el análisis de Varianza para Rectas Paralelas.

I: Logaritmo de la relación entre dosis adyacentes.

K: Factor de corrección en los cálculos de Suma de Cuadrados en el Análisis de la Varianza.

L: Longitud de intervalos de Confianza en logaritmo.

L_S, L_T: contraste lineal para el Estándar y Muestra respectivamente.

M': Logaritmo de la relación de Potencias.

n: número de réplicas para cada tratamiento.

N: número total de respuestas.

P₁-P₂-...-P_n-M₁-M₂-...-M_n: Dosis de estándar y muestra respectivamente.

P_S, P_T: respuestas medias.

R: Potencia estimada de la preparación a ensayar.

R': Relación de potencias.

R₁,...,R_n: Respuesta media en cada fila para el diseño de Cuadrado Latino o de cada Bloque para el diseño de bloques aleatorios.

s: Estimador del desvío estándar.

$$s = \sqrt{s^2}$$

S₁,...,S_n: Respuesta media para cada preparación de Estándar.

s²: Estimador de la varianza por el Cuadrado Medio del Error en el ANOVA.

t: Estadístico de Student.

T₁,...,T_n: Respuesta media para cada preparación muestra.

T_i: Sumatoria de respuestas para la dosis i en curva dosis-respuesta.

V: Coeficiente de la Varianza para el cálculo de los límites de confianza.

x: Logaritmo de la dosis.

y: Respuesta individual o su transformación.

Tabla 1. Preparación de soluciones madre y diluciones de ensayo de *Sustancias de referencia*

Solución madre		Solución muestra			
Antibiótico y tipo de valoración [Difusión en placa (DP) o Turbidimétrico (T)]	Solvente inicial (y concentración inicial en donde se especifique); diluyente adicional, si es diferente	Concentración final por ml	Período de uso	Diluyente final	Dosis intermedia (μg de actividad o Unidades por ml)
Amikacina (T)	Agua	1 mg	14 días	Agua	10 μg
Anfotericina B (DP)	Dimetilsulfóxido	1 mg	Mismo día	B. 10	1,0 μg
Bacitracina cinc (DP)	Ácido clorhídrico 0,01 N	100 U	Mismo día	B. 1	1,0 U
Bleomicina (DP)	B. 16	2 U	14 días	B. 16	0,04 U
Candidina (T)	Dimetilsulfóxido	1 mg	Mismo día	Agua	0,06 μg
Capreomicina (T)	Agua	1 mg	7 días	Agua	100 μg
Carbenicilina (DP)	B. 1	1 mg	14 días	B. 1	20 μg
Cefalotina (DP)	B. 1	1 mg	5 días	B. 1	1,0 μg
Cicloserina (T)	Agua	1 mg	30 días	Agua	50 μg
Cloranfenicol (T)	Alcohol (10 mg/ml); [Agua]	1 mg	30 días	Agua	2,5 μg
Clortetraciclina (T)	Ácido clorhídrico 0,01 N	1 mg	4 días	Agua	0,06 μg
Cloxacilina (DP)	B. 1	1 mg	7 días	B. 1	5,0 μg
Colistimetato sódico (DP)	Agua (10 mg/ml); [B. 6]	1 mg	Mismo día	B. 6	1,0 μg
Colistina (DP)	Agua (10 mg/ml); [B. 6]	1 mg	14 días	B. 6	1,0 μg
Democlociclina (T)	Ácido clorhídrico 0,1 N	1 mg	4 días	Agua	0,1 μg
Dihidroestreptomicina (DP)	B. 3	1 mg	30 días	B. 3	1,0 μg
Dihidroestreptomicina (T)	Agua	1 mg	30 días	Agua	30 μg
Doxiciclina (T)	Ácido clorhídrico 0,1 N	1 mg	5 días	Agua	0,1 μg
Eritromicina (DP)	Metanol (10 mg/ml); [B. 3]	1 mg	14 días	B. 3	1,0 μg
Estreptomicina (T)	agua	1 mg	30 días	Agua	30 μg

Tabla 1. - continuación. Preparación de soluciones madre y diluciones de ensayo de *Sustancias de referencia*.

Solución madre		Solución muestra			
Antibiótico y tipo de valoración [Difusión en placa (DP) o Turbidimétrico (T)]	Solvente inicial (y concentración inicial en donde se especifique); diluyente adicional, si es diferente	Concentración final por ml	Período de uso	Diluyente final	Dosis intermedia (μg de actividad o Unidades por ml)
Gentamicina (DP)	B. 3	1 mg	30 día	B. 3	0,1 μg
Gramicidina (T)	Alcohol al 95 %	1 mg	30 días	Alcohol al 95 %	0,04 μg
Kanamicina (T)	Agua	1 mg	30 días	Agua	10,0 μg
Metaciclina (T)	Agua	1 mg	7 días	Agua	0,06 μg
Nafcilina(DP)	B. 1	1 mg	2 días	B. 1	2,0 μg
Natamicina (DP)	Dimetilsulfóxido	1 mg	Mismo día	B. 10	5,00 μg
Neomicina (DP)	B. 3	1 mg	14 días	B. 3	1,0 μg
Neomicina (T)	B. 3	100 μg	14 días	B. 3	1,0 μg
Netilmicina (DP)	B. 3	1 mg	7 días	B. 3	0,1 μg
Nistatina (DP)	Dimetilformamida	1.000 U	Mismo día	B. 6	20 U
Novobiocina (DP)	Alcohol (10 mg/ml); [B. 3]	1 mg	5 días	B. 6	0,5 μg
Oxitetraciclina (T)	Ácido clorhídrico 0,1 N	1 mg	4 días	Agua	0,24 μg
Paromomicina (DP)	B. 3	1 mg	21 días	B. 3	1,0 μg
Penicilina G (DP)	[B. 1]	1.000 U	4 días	B. 1	1,0 Ug
Polimixina B (DP)	Agua; B. 6	10.000 U	14 días	B. 6	10 Ug
Rolitetraciclina (T)	Agua	1 mg	1 día	Agua	0,24 μg
Sisomicina (DP)	B. 3	1 mg	14 días	B. 3	0,1 μg
Tetraciclina (T)	Ácido clorhídrico 0,1 N	1 mg	1 día	Agua	0,24 μg
Ticarcilina (DP)	B. 1	1 mg	1 día	B. 1	5,0 μg
Tobramicina (T)	Agua	1 mg	14 días	Agua	2,5 μg

Antibiótico y tipo de valoración [Difusión en placa (DP) o Turbidimétrico (T)]	Solución madre		Período de uso	Solución muestra	
	Solvente inicial (y concentración inicial en donde se especifique); diluyente adicional, si es diferente	Concentración final por ml		Diluyente final	Dosis intermedia (µg de actividad o Unidades por ml)
Troleandomicina (T)	Alcohol isopropílico-agua (4:1)	1 mg	Mismo día	Agua	25 µg
Vancomicina (DP)	Agua	1 mg	7 días	B. 4	10 µg

NOTAS -

“B” indica “solución reguladora” y el número siguiente se refiere a las soluciones reguladoras de fosfato de potasio definidas en este capítulo.

Para anfotericina B, colistimetato sódico y nistatina, preparar las soluciones de la *Sustancia de referencia* y la *Solución muestra* simultáneamente.

Para anfotericina B, diluir adicionalmente la *Solución madre* con dimetilsulfóxido hasta obtener una serie de soluciones cuya concentración intermedia sea de 20 µg por ml antes de hacer las soluciones muestra. La *Solución muestra* debe contener la misma cantidad de dimetilsulfóxido que las soluciones de la *Sustancia de referencia*.

Para bacitracina cinc, cada una de las diluciones del estándar debe contener la misma cantidad de ácido clorhídrico que la *Solución muestra*.

Para la valoración turbidimétrica de neomicina, diluir la *Solución madre* de 100 µg por ml cuantitativamente con *Solución reguladora N° 3* hasta obtener una solución que tenga una concentración equivalente a 25,0 µg de neomicina por ml. Para cada *Solución muestra* agregar 5,0 ml de ácido clorhídrico 0,01 N a cada matraz aforado, diluir a volumen con *Solución reguladora N°3* y mezclar para obtener una serie de soluciones cuya concentración intermedia sea de 1,0 µg de neomicina por ml.

Para nistatina, diluir adicionalmente la *Solución madre* con dimetilformamida hasta obtener una concentración intermedia de 400 Unidades por ml antes de hacer las *Soluciones muestra*. Las *Soluciones muestra* deben contener la misma cantidad de dimetilformamida que las *Soluciones estándar*. Emplear material inactivo de vidrio.

Para Polimixina B, preparar la *Solución madre* mediante el agregado de 2 ml de agua por cada 5 mg de *Sustancia de referencia*.

Tabla 2. Organismos de ensayo para antibióticos valorados según el procedimiento indicado en la *Tabla 1*.

Antibiótico	Organismo de Ensayo	Número ATCC *
Amikacina	<i>Staphylococcus auerus</i>	29.737
Anfotericina B	<i>Saccaromyces cerevisiae</i>	9.763
Bacitracina	<i>Micrococcus luteus</i>	10.240
Bleomicina	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	607
Candididina	<i>Saccaromyces cerevisiae</i>	9.763
Capreomicina	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10.031
Carbenicilina	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25.619
Cefalotina	<i>Staphylococcus auerus</i>	29.737
Cicloserina	<i>Staphylococcus auerus</i>	29.737
Cloranfenicol	<i>Escherichia coli</i>	10.536
Clortetraciclina	<i>Staphylococcus auerus</i>	29.737
Cloxacilina	<i>Staphylococcus auerus</i>	29.737
Colistimetato sódico	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	4.617
Colistina	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	4.617
Democlociclina	<i>Staphylococcus auerus</i>	29.737
Dihidroestreptomicina (DP)	<i>Bacillus subtilis</i>	6.633
Dihidroestreptomicina (T)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10.031
Doxiciclina	<i>Staphylococcus auerus</i>	29.737
Eritromicina	<i>Micrococcus luteus</i>	9.341
Espectinomicina	<i>Escherichia coli</i>	10.536
Estreptomicina (T)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10.031
Gentamicina	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12.228
Gramicidina	<i>Streptococcus faecium</i>	10.541
Kanamicina	<i>Staphylococcus auerus</i>	29.737
Metaciclina	<i>Staphylococcus auerus</i>	29.737
Nafcilina	<i>Staphylococcus auerus</i>	29.737
Neomicina (DP)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12.228
Neomicina (T)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10.031
Netilmicina	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12.228
Nistatina	<i>Saccaromyces cerevisiae</i>	2.601

Tabla 2 - continuación. Organismos de ensayo para antibióticos valorados según el procedimiento indicado en la *Tabla 1*.

Antibiótico	Organismo de Ensayo	Número ATCC *
Novobiocina	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12.228
Oxitetraciclina	<i>Staphylococcus auerus</i>	29.737
Paromomocina	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12.228
Penicilina G	<i>Staphylococcus auerus</i>	29.737
Polimixina B	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	4.617
Rolitetraciclina	<i>Staphylococcus auerus</i>	29.737
Sisomicina	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12.228
Tetraciclina	<i>Staphylococcus auerus</i>	29.737
Tobramicina	<i>Staphylococcus auerus</i>	29.737
Troleandomicina	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10.031
Vancomicina	<i>Bacillus subtilis</i>	6.631

American Type Culture Collection, 12.301 Parklawn drive, Rockville, MD 20852, EEUU.

Pueden emplearse también otras cepas de colección de características equivalentes, como ser:

NCTC (National Collection of Type Cultures), Central Publish Health Laboratory, Colindone Av, London NW 95HT, Inglaterra.

NCYC (National Collection of Yeast Cultures), Brewing Industry Research Fundation, Nutfield, Redhill RH 14 HY, Surrey, Inglaterra.

NCIB (National Collection of Industry Bacteria), Torry Research Station, PO Box 31, 135 AbbeyRoad, Aberdeen AB) 8 DG, Escocia.

Tabla 3. Preparación del inóculo.

Condiciones de incubación					Condiciones para inocular el medio de cultivo		
Organismo de ensayo y N° ATCC	Medio	Temp.	Tiempo (horas)	Dilución de la susp. original (25 % T)	Medio	Cantidad (ml por 100 ml)	Antibióticos analizados
<i>Bacillus subtilis</i> (6.633)	32	32 a 35	5 días	(esporas)	5	Según sea necesario	Dihidroestreptomicina
					8	Según sea necesario	Vancomicina
<i>Bordetella bronchiseptica</i> (4.617)	1	32 a 35	24 días	1:20	10	0,1	Colistimetato sódico, Colistina, Polimixina B
<i>Escherichia coli</i> (10.536)	1	32 a 35	24 días	1:20	3	0,7	Cloranfenicol
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (10.031)	1	36 a 37,5	16 a 24	1:25	3	0,05	Capreomicina
						0,1	Estreptomicina, Dihidroestreptomicina, Troleandomicina
					39	2	Neomicina
<i>Micrococcus luteus</i> (9.341)	1	32 a 35	24	1:40	11	1,5	Eritromicina
<i>Micrococcus luteus</i> (10.240)	1	32 a 35	24		1	0,3	Bacitracina
<i>Mycobacterium smegmatis</i> (607)	36	36 a 37,5	48		35	1	Bleomicina
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (25.619)	1	36 a 37,5	24	1:25	10	0,5	Carbencilina
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (9.763)	19	29 a 31	48	1:30	13	0,2	Candidicina
					19	1	Anfotericina B

Tabla 3 - continuación – Preparación del inóculo.

Condiciones de incubación				Condiciones para inocular el medio de cultivo			
Organismo de ensayo y N° ATCC	Medio	Temp.	Tiempo (horas)	Dilución de la susp. Original (25 % T)	Medio	Cantidad (ml por 100 ml)	Antibióticos analizados
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (2.601)	19	29 a 31	48		19	1	Nistatina
<i>Staphylococcus aureus</i> (29.737)	1	32 a 35	24	1:20	1	0,1	Cefalotina, Cloxacilina
					1	0,3	Nafcilina
					1	1	Penicilina G
					3	0,1	Amikacina, Clortetraciclina, Democlociclina, Doxiciclina, Metaciclina, Oxitetraciclina, Rolitetraciclina, Tetraciclina
					3	0,2	Kanamicina
					3	0,4	Cicloserina
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (12.228)	1	32 a 35	24	1:14	3	0,15	Tobramicina
					11	0,25	Netilmicina
					1	4	Novobiocina
					11	0,03	Gentamicina, Sisomicina
					11	0,4	Neomicina
<i>Streptococcus faecium</i> (10.541)	3	36 a 37,5	16 a 18		11	2	Paromomicina
					3	1	Gramicidina

780. VOLUMETRIA

Titulación directa - Se emplea para la determinación de sustancias en solución, con un titulante apropiado. El punto final se determina instrumentalmente o visualmente con un indicador apropiado.

El titulante se agrega desde una bureta de capacidad apropiada elegida de acuerdo a la concentración del titulante (normalidad), de modo tal que el volumen consumido sea entre 30 y 100 % de su capacidad nominal. La aproximación al punto final se hace en forma directa agregando gota a gota el titulante con la precaución de que la última gota agregada no sobrepase el punto final.

La cantidad de muestra titulada se calcula a partir del volumen consumido, la normalidad o factor de molaridad del titulante y el factor de equivalencia especificado en la monografía correspondiente.

Titulación residual o Titulación por retorno - En algunas titulaciones se agrega un volumen medido de un titulante, mayor al necesario para reaccionar con la muestra. El exceso de esta solución es titulado posteriormente con un segundo titulante. La cantidad de muestra titulada se calcula a partir de la diferencia entre el volumen de titulante originalmente agregado y el volumen consumido por el segundo titulante en la titulación por retorno, las normalidades o los factores de molaridad y el factor de equivalencia especificado en la monografía correspondiente.

Titulación complejométrica - Algunos cationes polivalentes se pueden titular directamente mediante el empleo de reactivos con los cuales forman complejos o quelatos. La obtención de un resultado satisfactorio en una complejometría depende del indicador elegido.

Titulación por óxido-reducción - Estas titulaciones se realizan cuando entre la sustancia activa del titulante y la muestra se produce una reacción por intermedio de un intercambio electrónico, en la que una de ellas actúa como reductora (cede electrones) mientras que la otra se comporta como oxidante (adquiere electrones). Estas titulaciones se clasifican en: métodos por oxidación, cuando la sustancia activa del titulante tiene tendencia a dar formas reducidas, adquiriendo electrones (oxidantes), y métodos por reducción, cuando la sustancia activa del titulante puede dar formas oxidadas cediendo electrones (reductor).

Titulación en medio no acuoso - Muchas sustancias adquieren mejores propiedades ácidas o

básicas cuando se disuelven en solventes orgánicos. Por lo tanto, la elección del solvente apropiado permite la titulación de gran variedad de sustancias mediante esta técnica.

En el caso de una sustancia básica, se emplea como titulante ácido perclórico en ácido acético glacial, aunque en casos especiales se emplea ácido perclórico en dioxano. El sistema de electrodos de vidrio-calomel resulta útil en estas determinaciones.

En el caso de una sustancia ácida, se emplean como titulantes alcóxidos de metales alcalinos o hidróxidos de tetralquilamonio. Con frecuencia se emplea metóxido de sodio en una mezcla de metanol y tolueno, aunque el metóxido de litio en metanol benceno es empleado para titular sustancias que producen un precipitado gelatinoso en las titulaciones con metóxido de sodio.

El error alcalino limita el empleo del electrodo de vidrio como electrodo indicador cuando se emplean alcohóxidos de metales alcalinos como titulantes, en particular en solventes básicos. Por lo tanto, el electrodo indicador de antimonio, aunque algo errático, resulta útil en dichos casos. El empleo de hidróxidos de amonio cuaternario, por ej., el hidróxido de tetra *n*-butilamonio y el hidróxido de trimetilhexadecilamonio (en benceno-metanol o alcohol isopropílico), presenta dos ventajas sobre los otros titulantes: (a) la sal de tetralquilamonio del ácido titulado es soluble en el medio de reacción y (b) se puede emplear un electrodo de vidrio calomel.

Los solventes empleados en la titulación de sustancias ácidas se deben proteger de la exposición excesiva al aire atmosférico debido a la interferencia producida por el dióxido de carbono. Para ello se emplea una atmósfera inerte durante la titulación. La absorción de dióxido de carbono se puede determinar mediante la titulación con un blanco. El blanco no debe consumir más de 0,01 ml de metóxido de sodio 0,1 N (SV) por ml de solvente.

El punto final se puede determinar visualmente observando el cambio de color de un indicador o potenciométricamente, según se especifique en la monografía correspondiente. Si se emplea un electrodo de calomel como electrodo de referencia, se recomienda reemplazar la solución acuosa de cloruro de potasio del puente salino por perclorato de litio 0,1 N en ácido acético glacial para titulaciones en solventes ácidos o cloruro de potasio en metanol para titulaciones en solventes básicos. Cuando en la monografía correspondiente se recomienda la modificación del electrodo de

calomel con éstas o con otras mezclas no acuosas es necesario retirar previamente la solución de cloruro de potasio y lavar con agua para eliminar el cloruro de potasio residual. Luego se elimina el agua residual con el solvente no acuoso indicado y finalmente se llena el electrodo con la mezcla no acuosa indicada.

Los sistemas más útiles para titulación en solventes no acuosos se indican en la *Tabla 1*.

Detección del punto final - El método más sencillo para determinar el punto de equivalencia es mediante el empleo de indicadores.

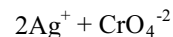
Los indicadores son sustancias químicas, generalmente coloreadas, que responden a cambios en la solución antes y después del punto de equivalencia presentando cambios de color que pueden ser detectados visualmente como el punto final de la reacción, lo que constituye una estimación confiable del punto de equivalencia.

Otro método útil es mediante mediciones electroquímicas. Si un electrodo indicador, sensible a la concentración de las especies que experimentan la reacción volumétrica, y un electrodo de referencias cuyo potencial es insensible a cualquier especie disuelta, se sumergen en la solución a titular para formar una celda galvánica, la diferencia de potencial entre los electrodos puede ser medida con un medidor de pH que permite seguir el curso de la reacción.

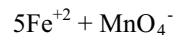
En la *Tabla 2* se indican varios sistemas de electrodos apropiados para titulaciones potenciométricas.

Realizar las curvas de titulación correspondientes (para una titulación ácido-base, pH en función de los ml de titulante agregado; y para titulaciones por precipitación, complejométricas o de óxido-reducción, los mV en función de los ml de titulante agregado), para obtener una curva sigmoidea con una porción que asciende rápidamente cerca del punto de equivalencia. El punto medio de esta porción vertical lineal o punto de inflexión puede considerarse como punto final. El punto de equivalencia también puede determinarse

matemáticamente sin trazar una curva de titulación; sin embargo, se debe tener en cuenta que en reacciones asimétricas el punto final definido por la inflexión de la curva de titulación no ocurre exactamente en el punto de equivalencia estequiométrico. Por lo tanto, la detección potenciométrica del punto final no es apropiada para reacciones asimétricas; como por ej., la reacción de precipitación,



y la reacción de óxido-reducción,



[NOTA: existen dos tipos de tituladores electrométricos automáticos. El primero agrega el titulante automáticamente y registra las diferencias de potencial del electrodo durante el curso de la titulación dando la curva sigmoidea esperada. En el segundo, el agregado de titulante se realiza automáticamente hasta que se alcanza un potencial o pH preseleccionado, que representa el punto final y en ese momento cesa el agregado de titulante].

Correcciones con el blanco - El punto final determinado en una titulación es una estimación del punto de equivalencia de la reacción. La validez de esta estimación depende, entre otros factores, de la naturaleza de las sustancias a titular y de la concentración del titulante. De modo que para aumentar la confiabilidad de la determinación del punto final, resulta necesario realizar una corrección con un blanco apropiado. Tal corrección se realiza generalmente mediante la titulación del blanco, en la cual el procedimiento indicado se repite en cada detalle excepto que la muestra se omite. En estos casos, el volumen real de titulante, equivalente a la sustancia analizada, es la diferencia entre el volumen consumido en la titulación del blanco y el consumido en la titulación de la muestra. El volumen corregido así obtenido se emplea para calcular la cantidad de muestra titulada. Cuando se determina el punto final potenciométricamente, la corrección del blanco es generalmente insignificante.

Tabla 1. Sistemas para titulaciones en medio no acuoso.

Tipo de solvente	De carácter ácido (para titulación de bases y sus sales)	Relativamente neutro (para titulación diferencial de bases)	De carácter básico (para titulación de ácidos)	Relativamente neutro (para titulación diferencial de ácidos)
<i>Solvente</i> ¹	Ácido acético glacial Anhídrido acético Ácido fórmico Ácido propiónico Cloruro de sulfurilo	Acetonitrilo Alcoholes Cloroformo Benceno Tolueno Clorobenceno Acetato de etilo Dioxano	Dimetilformamida <i>n</i> -butilamina Piridina Etilendiamina Morfolina	Acetona Acetonitrilo Metil etil cetona Metil isobutil cetona Alcohol <i>ter</i> -butílico
<i>Indicador</i>	Cristal violeta Rojo de quinaldina <i>p</i> -Naftolbenceína Alfazorina 2-G Verde de malaquita	Rojo de metilo Naranja de metilo <i>p</i> -Naftolbenceína	Azul de timol Timolftaleína Azo violeta <i>o</i> -Nitroanilina <i>p</i> -Hidroxiazobenceno	Azo violeta Azul de bromotimol <i>p</i> -Hidroxiazobenceno Azul de timol
<i>Electrodos</i>	Vidrio/Calomel Vidrio/Plata/Cloruro de plata Mercurio/Acetato mercúrico	Vidrio/Calomel Calomel/Plata/Cloruro de plata	Antimonio/Calomel Antimonio/Vidrio Antimonio/Antimonio ² Platino/Calomel Vidrio/Calomel	Antimonio/Calomel Vidrio/Calomel Vidrio/Platino

¹Los solventes relativamente neutros de baja constante dieléctrica como benceno, tolueno, cloroformo o dioxano pueden emplearse con cualquier solvente ácido o básico para aumentar la sensibilidad del punto final.

² En la solución titulante.

Tabla 2. Sistemas de electrodos para titulaciones potenciométricas.

Titulación	Electrodo indicador	Ecuación ¹	Electrodo de referencia	Aplicaciones ²
Ácido-base	Vidrio	$E = k + 0,0591 pH$	Calomel Plata/cloruro de plata	Titulación de ácidos y bases
Precipitimetría (plata)	Plata	$E = E^\circ + 0,0591 \log[Ag^+]$	Calomel (con puente salino de nitrato de potasio)	Titulación con/de plata incluyendo haluros o tiocianatos
Complejometría	Mercurio-mercurio (II)	$E = E^\circ + 0,0296 (\log k' - pM)$	Calomel	Titulación de diversos metales con EDTA, Mg^{+2} , Ca^{+2} , Al^{+3} , Bi^{+3}
Óxido-reducción	Platino	$E = E + (0,0591/n) \log[ox]/[red]$	Calomel o Plata/Cloruro de plata	Titulaciones con arsenito, bromo, cerato, dicromato, hexacianoferrato (III), iodato, nitrito, permanganato y tiosulfato

¹ Forma apropiada de la ecuación de Nernst que describe el sistema de electrodos indicado: k = constante del electrodo de vidrio; k' = constante derivada del equilibrio Hg-Hg (II)-EDTA; M = cualquier metal tituable con EDTA; [ox] y [red] de la ecuación, $ox + ne^- \leftrightarrow red$.

² La lista es representativa pero no es completa.

TEXTOS DE INFORMACIÓN GENERAL

TEXTOS DE INFORMACIÓN GENERAL

<1020> - Buenas prácticas de fabricación y control

<1040> - Estudios de estabilidad

<1050> - Formas farmacéuticas

<1060> - Friabilidad y dureza de comprimidos

<1070> - Impurezas en productos oficiales

<1090> - Limpieza de materiales de vidrio

<1110> - Preparaciones radiofarmacéuticas

<1120> - Productos biotecnológicos

<1130> - Validación de métodos analítico

1020. BUENAS PRÁCTICAS DE FABRICACIÓN Y CONTROL

CONTENIDO

Consideraciones generales

Glosario

PRIMERA PARTE - ADMINISTRACION DE LA CALIDAD EN LA INDUSTRIA FARMACEUTICA: FILOSOFIA Y ELEMENTOS ESENCIALES

1- Garantía de la calidad

2- Buenas prácticas de fabricación y control (BPFC) para productos farmacéuticos

3- Control de calidad

4- Saneamiento e higiene

5- Validación

Validación de procesos

6- Reclamos

7- Retiro de un producto

8- Producción y análisis por contrato

Generalidades

El contratante

El contratista

El contrato

9- Autoinspección y auditorías de calidad

Puntos de la autoinspección

Equipo para la autoinspección

Frecuencia de la autoinspección

Informe de la autoinspección

Seguimiento

Auditoría de la calidad

Auditoría de los proveedores

10- Personal

Generalidades

Personal principal

Capacitación.

Higiene personal.

11- Instalaciones

Generalidades

Áreas accesorias

Áreas de almacenamiento

Áreas de pesado

Área de producción

Área de control de calidad

12- Equipos

13- Materiales

Generalidades

Materias primas

Materiales de envasado

Productos semielaborados y a granel

Productos terminados

Materiales rechazados y recuperados

Productos retirados

Productos devueltos

Reactivos y medios de cultivo

Sustancias de referencia

Materiales desechados

Miscelánea

14- Documentación

Generalidades

Documentos exigidos

SEGUNDA PARTE - BUENAS PRACTICAS DE FABRICACION Y CONTROL DE CALIDAD

15- Buenas prácticas de fabricación

Generalidades

Prevención de la contaminación cruzada y de la contaminación bacteriana en la producción

Operaciones de procesado: productos semielaborados y a granel

Operaciones de envasado

16- Buenas prácticas de control de calidad

Control de materias primas y de productos semielaborados, a granel y terminados

Requisitos exigidos en las pruebas

Examen de los registros de producción

Estudios de estabilidad

TERCERA PARTE – NORMAS COMPLEMENTARIAS Y DE APOYO

17- Productos farmacéuticos estériles

Explicación

Generalidades

Fabricación de preparaciones estériles

Personal

Instalaciones

Equipos

Saneamiento

Proceso
Esterilización
Filtración de productos
farmacéuticos que no pueden ser
esterilizados en su envase final
Acabado de productos estériles
Control de calidad

18- Buenas prácticas de fabricación para farmoquímicos

Explicación
Generalidades
Personal
Instalaciones
Equipos
Saneamiento
Documentación
Archivo de registros y muestras de referencia
Producción

CONSIDERACIONES GENERALES

Los productos farmacéuticos autorizados deben ser producidos solamente por establecimientos habilitados por la autoridad sanitaria competente y cuyas actividades serán inspeccionadas regularmente por la autoridad nacional. Este capítulo de información general deberá usarse como norma indispensable en el cumplimiento de las condiciones exigidas por las BPFC, lo cual constituye una herramienta válida que permite establecer criterios que abarcan diversos aspectos técnico-administrativos, de producción, de control, higiene y seguridad y protección del medio ambiente.

Esta norma se aplica a la producción en gran escala de medicamentos incluyendo los procesos en gran escala empleados en los hospitales y a la preparación de productos para ensayos clínicos.

La *Primera y Segunda parte* de esta norma no cubren los aspectos referentes a la producción de farmoquímicos, para éstos, en la Sección 18 se describen los requisitos específicos. La norma tampoco cubre aspectos de seguridad para el personal involucrado en la fabricación. No obstante, el fabricante es responsable de garantizar la seguridad de los trabajadores.

Las buenas prácticas de fabricación y control no son un elemento estático, todo lo contrario, son metodologías de trabajo susceptibles de una actualización continua.

GLOSARIO

Las definiciones dadas a continuación se aplican a los términos empleados en esta norma. Es posible que tengan significados diferentes en otros contextos.

Área limpia - Un área que cuente con un control definido del medio ambiente con respecto a la contaminación con partículas o microbios. El área contará con instalaciones construidas y usadas de tal manera que se reduzca la introducción, generación y retención de contaminantes dentro de la misma.

Autorización para comercializar (certificado de registro) - Documento legal emitido por la autoridad sanitaria, que establece la composición cualitativa y cuantitativa del producto y que incluye detalles sobre envasado, rotulado y período de vida útil.

Calibración - El conjunto de operaciones que establece, bajo condiciones específicas, la relación entre los valores indicados por un instrumento o sistema de medición (especialmente de pesada), registro y control, o los valores representados por una medida material y los correspondientes valores conocidos de un patrón de referencia. Es preciso establecer los límites de aceptación de los resultados de las mediciones.

Contaminación cruzada - Contaminación de materia prima, producto semielaborado, o producto terminado, con otro material de otra partida o producto durante la producción.

Control de calidad - Ver Primera parte.

Controles durante el proceso - Controles efectuados durante la producción con el fin de vigilar y, si fuera necesario, ajustar el proceso para asegurar que el producto cumpla con las especificaciones. El control del medio ambiente o del equipo puede también considerarse como parte del control durante el proceso.

Cuarentena - Estado de las materias primas o del material de envase o empaque, o productos semielaborados, o

productos a granel o terminados, aislados por medios físicos o por otros medios eficaces, mientras se espera una decisión acerca de su autorización, rechazo o reprocesamiento.

Envasado - Todas las operaciones, incluyendo las de llenado y rotulado, a las que tiene que ser sometido un producto a granel para que se convierta en un producto terminado. [NOTA: el llenado estéril no sería considerado como parte del envasado, ya que se entiende por producto a granel el envase primario lleno, pero que aún no ha sido sometido al envasado final].

Esclusa de aire - Un lugar cerrado, con dos o más puertas, que se interponen entre dos o más ambientes que sean, por ejemplo, de diferentes grados de limpieza, y que tiene por objeto controlar el flujo de aire entre dichos ambientes cuando se precisa ingresar a ellos. Una esclusa de aire está destinada a ser utilizada por personas o para cosas.

Especificaciones - Documento que describe detalladamente las condiciones que deben reunir los productos o materiales usados u obtenidos durante la fabricación. Las especificaciones sirven de base para la evaluación de la calidad.

Fabricación - Todas las operaciones que incluyan la adquisición de materiales y productos, producción, control de calidad, autorización de circulación, almacenamiento y transporte de productos terminados y los controles relacionados con estas operaciones.

Fabricante - Laboratorio autorizado que lleva a cabo al menos una de las etapas de la fabricación.

Fórmula maestra - Documento (o conjunto de documentos) que especifica las materias primas con sus cantidades y materiales de envase y que incluye una descripción de los procedimientos y precauciones que deben tomarse para producir una cantidad específica de un producto terminado, como también las instrucciones para y durante el proceso.

Garantía de la calidad - Ver Primera parte.

Instrucciones de procesado - Ver *Fórmula maestra*.

Lote - Una cantidad definida de materia prima, material de envase, o producto terminado en un solo proceso o

en una serie de procesos, de tal manera que puede esperarse que sea homogéneo. En el caso de un proceso continuo de fabricación, el lote debe corresponder a una fracción definida de la producción, que se caracterice por la homogeneidad que se busca en el producto. *Materia prima* - Toda sustancia de calidad definida empleada en la fabricación de un producto farmacéutico, excluyendo los materiales de envase.

Material de envase - Cualquier material, incluyendo el material impreso, empleado en el envasado de un producto farmacéutico, excluyendo todo envase exterior utilizado para el transporte. Los materiales de envase se consideran primarios cuando están destinados a estar en contacto directo con el producto y secundarios cuando no lo están.

Número de lote - Una combinación bien definida de números y/o letras que identifique específicamente un lote en los rótulos, registros de lotes, certificados de análisis, etc.

Parenterales de gran volumen - Soluciones estériles destinadas a la administración por vía parenteral, que tengan un volumen de 100 ml o superior, en un solo envase de la forma farmacéutica terminada.

Persona autorizada - La persona responsable de autorizar la liberación de los lotes del producto terminado para su venta o distribución, es el Director Técnico farmacéutico o quien éste designe.

Principio activo - Una sustancia o compuesto a utilizarse en la fabricación de un producto farmacéutico como compuesto farmacológicamente activo.

Procedimiento operativo normalizado - Procedimiento escrito y autorizado, que contiene instrucciones para realizar operaciones que no necesariamente son específicas para un producto o material determinado, sino de naturaleza más general (por ejemplo: manejo, mantenimiento y limpieza de equipos; comprobación; limpieza de instalaciones y control ambiental; muestreo e inspección). Algunos procedimientos de esta naturaleza pueden utilizarse como complemento de la documentación específica de un producto, sea ésta una

documentación maestra o referente a la producción de un lote en particular.

Proceso crítico - Proceso que puede causar variación en la calidad del producto farmacéutico.

Producción - Todas las operaciones involucradas en la preparación de un producto farmacéutico, desde la recepción de los materiales, a través del procesado y el envasado, hasta llegar al producto terminado.

Producto a granel - Todo producto que ha completado todas las etapas del procesamiento, hasta el envasado final, pero sin incluir este último.

Producto terminado - Producto que ha sido sometido a todas las etapas de producción, incluyendo el envasado en el envase final y el rotulado.

Producto devuelto - Producto terminado enviado de vuelta al fabricante.

Producto farmacéutico - Todo medicamento destinado al uso humano, presentado en su forma farmacéutica definitiva o como materia prima destinada a usarse en dicha forma farmacéutica, cuando está legalmente sujeto a inspección.

Producto semielaborado - Material parcialmente procesado que debe someterse a otras etapas de la fabricación antes de que se convierta en producto a granel.

Recuperación (o mezcla) - Introducción, en forma total o parcial, de lotes anteriores (o de solventes redistilados y productos similares), que tengan la calidad exigida, en otro lote en una etapa definida del proceso de fabricación.

Registro maestro - Documento o conjunto de documentos que sirven como base para la documentación del lote (registro de lote en blanco).

Registros de lotes - Todos los documentos relacionados con la fabricación de un lote de producto a granel o producto terminado. Estos documentos contienen una historia de cada lote del producto y las circunstancias pertinentes a la calidad del producto final.

Rendimiento - Comparación, con un margen de tolerancia por las variaciones normales, entre la cantidad del producto o materiales teóricamente producidos o

empleados y la cantidad realmente producida o empleada.

Reprocesado - Reelaboración de todo o parte de un lote de producto de calidad inaceptable en una etapa definida de la producción, de tal forma que su calidad se eleve hasta ser aceptable, por medio de una o más operaciones adicionales.

Sistema de numeración de lotes - Procedimiento operativo normalizado que describe los detalles de la numeración de lotes.

Validación - Acción documentada que demuestra que un procedimiento, proceso, equipo, material, actividad, o sistema conduce a los resultados previstos.

PRIMERA PARTE - Administración de la calidad en la industria farmacéutica: filosofía y elementos esenciales.

En la industria farmacéutica en general, la administración de la calidad se define como el aspecto de la función administrativa que determina y pone en práctica la política de la calidad, es decir la orientación y las intenciones generales de una compañía en lo que respecta a la calidad, en la forma como lo expresan y lo autorizan las autoridades superiores de dicha compañía.

Los elementos básicos de la administración de la calidad son:

- Infraestructura apropiada o sistema de calidad que abarque la estructura, procedimientos, procesos y recursos.
- Acciones sistemáticas necesarias para asegurar la confianza suficiente en que el producto (o servicio) satisface determinadas condiciones de calidad. El conjunto de esas acciones se denomina garantía de la calidad.

Dentro de una organización, la garantía de la calidad sirve como una herramienta administrativa. En situaciones contractuales, la garantía de la calidad también sirve para generar confianza en el proveedor.

En la fabricación y provisión de productos farmacéuticos, la terminología puede variar. En particular, rara vez se emplea la expresión sistema de calidad, siendo garantía de la calidad la que generalmente abarca elementos tales

como estructura organizativa, procedimientos y procesos.

Los conceptos de garantía de la calidad, BPFC y control de calidad, constituyen aspectos de la administración de la calidad que se relacionan entre sí. Se los describe en esta norma con el fin de hacer resaltar su fundamental importancia y su relación con la fabricación y el control de los productos farmacéuticos.

1 - Garantía de la calidad

1.1 PRINCIPIO - Garantía de la calidad es un concepto muy amplio que abarca todos los aspectos que individual o colectivamente influyen en la calidad del producto. Es el conjunto de medidas adoptadas con el fin de asegurar que los productos farmacéuticos sean de calidad necesaria para el uso al que están destinados. Por lo tanto, la garantía de la calidad incorpora las BPFC y otros factores, incluyendo aquellos que van más allá del alcance de esta norma, tales como el diseño y la elaboración del producto.

1.2 El sistema de garantía de calidad apropiado para la fabricación de productos farmacéuticos debe asegurar:

a) Que los productos farmacéuticos estén diseñados y elaborados de tal forma que se tengan en cuenta los requisitos de las BPFC y otros códigos relacionados, tales como las buenas prácticas de laboratorio (BPL) y las buenas prácticas clínicas (BPC);

b) Que las operaciones de producción y control estén claramente especificadas por escrito y que se adopten los requisitos de las BPFC;

c) Que las responsabilidades gerenciales estén claramente especificadas en las descripciones de tareas;

d) Que se tomen las medidas necesarias para la fabricación, provisión y uso de materias primas y envases adecuados;

e) Que se efectúen todos los controles necesarios a las materias primas, productos semielaborados, productos a granel y otros controles, calibraciones y validaciones durante el proceso;

f) Que el producto terminado sea procesado y controlado correctamente y

de acuerdo con los procedimientos definidos;

g) Que los productos farmacéuticos no sean vendidos ni suministrados antes de que el director técnico (ver también la Sección 10.6) haya certificado que cada lote de producción ha sido fabricado y controlado en concordancia con los requisitos establecidos por el certificado de registro y por otras reglamentaciones pertinentes a la producción, control y expedición de los productos farmacéuticos;

h) Que se hayan tomado medidas adecuadas para asegurar; en todo lo posible, que los productos farmacéuticos sean almacenados por el fabricante, distribuidos y subsiguientemente manejados de tal forma que la calidad se mantenga durante todo el período de vida útil de dichos productos;

i) Que se establezca un procedimiento de autoinspección y/o de auditoría de la calidad, mediante el cual se evalúe regularmente la eficacia y aplicabilidad del sistema de garantía de la calidad.

1.3 El fabricante y el director técnico deben asumir la responsabilidad de la calidad de los productos farmacéuticos para asegurar que sean apropiados para el uso previsto, que reúnan los requisitos establecidos en el certificado de registro y que no sean riesgosos para el paciente, debido a una seguridad, calidad o eficacia inadecuadas. Las principales autoridades administrativas son responsables del cumplimiento de este objetivo de calidad, con la participación activa y el compromiso de todos los departamentos a todos los niveles dentro de la compañía, de los proveedores y de los distribuidores. Para que sea posible alcanzar el mencionado objetivo de calidad, se debe contar con un sistema de garantía de la calidad de amplio alcance y correctamente aplicado, que incorpore las buenas prácticas de fabricación y de control de calidad. Es preciso que sea plenamente documentado y que su eficacia sea controlada. Todas las partes del sistema de garantía de calidad deben ser atendidas por personal competente, y es necesario que se disponga de áreas, equipos e instalaciones adecuados.

2 - Buenas prácticas de fabricación y control (BPFC) para productos farmacéuticos

2.1 Dentro del concepto de garantía de calidad, las buenas prácticas de fabricación y control constituyen el factor que asegura que los productos se fabriquen en forma uniforme y controlada, de acuerdo con las normas de calidad adecuadas al uso que se pretende dar a los productos, y conforme a las condiciones exigidas para su comercialización. Las reglamentaciones que rigen las BPFC, tienen por objeto principal disminuir los riesgos inherentes a toda producción farmacéutica que no pueden prevenirse completamente mediante el control final de los productos. Esencialmente, tales riesgos son de dos tipos: contaminación cruzada (en particular, por contaminantes imprevistos) y confusión (causada por la colocación de rótulos equivocadas en los envases). El texto de las BPFC, exige:

a) Que todos los procesos de fabricación definan claramente, se revisen sistemáticamente a la luz de la experiencia, y se compruebe que son el medio de fabricar productos farmacéuticos que tengan la calidad adecuada para cumplir con las especificaciones;

b) Que se comprueben las etapas críticas de los procesos de fabricación y todo cambio significativo que se haya introducido en dichos procesos;

c) Que se disponga de todos los medios necesarios, incluyendo los siguientes:

I. personal adecuadamente calificado y capacitado;

II. infraestructura y espacio apropiados;

III. equipos y servicios adecuados;

IV. materiales, envases y rótulos correctos;

V. procedimientos e instrucciones aprobados;

VI. almacenamiento y transporte apropiados; y

VII. personal, laboratorios y equipos adecuados para efectuar los controles durante el proceso de producción, bajo la responsabilidad de la gerencia de producción.

d) Que las instrucciones y procedimientos se redacten en un lenguaje claro e inequívoco, que sea específicamente aplicable a los medios de producción disponibles;

e) Que los operadores estén capacitados para efectuar correctamente los procedimientos;

f) Que se mantengan registros (en forma manual o por medio de aparatos de registro) durante la fabricación, para demostrar que todas las operaciones exigidas por los procedimientos e instrucciones definidos han sido en realidad efectuados y que la cantidad y calidad del producto son las previstas; cualquier desviación significativa debe registrarse e investigarse exhaustivamente;

g) Que los registros referentes a la fabricación y distribución, los cuales permiten conocer la historia completa de un lote, se mantengan de tal forma que sean completos y accesibles;

h) Que el almacenamiento y distribución de los productos sean adecuados para reducir al mínimo cualquier riesgo de disminución de la calidad;

i) Que se establezca un sistema que haga posible el retiro de cualquier producto, sea en la etapa de distribución o de venta;

j) Que se estudie todo reclamo contra un producto ya comercializado, como también que se investiguen las causas de los defectos de calidad, y se adopten medidas apropiadas con respecto a los productos defectuosos para prevenir que los defectos se repitan.

3 - Control de calidad

3.1 El control de calidad es la parte de las BPFC, que se refiere al muestreo, especificaciones y ensayo, como también a los procedimientos de organización, documentación y autorización que aseguren que los ensayos necesarios y pertinentes realmente se efectúen y que no se permita la circulación de los materiales, ni se autorice la venta o suministro de los productos, hasta que su calidad haya sido determinada como satisfactoria. El control de calidad no se limita a las operaciones de laboratorio, sino que debe estar presente en todas las

decisiones concernientes a la calidad del producto.

3.2 Todo poseedor de una autorización de fabricación debe contar con un departamento de control de calidad. Se considera de importancia fundamental que el control de calidad sea independiente de la producción. El departamento de control de calidad debe ser también independiente de otros departamentos, y estar bajo la autoridad de una persona calificada y experimentada, que tenga a su disposición uno o más laboratorios de control. Debe contar con recursos suficientes para asegurar que los procedimientos de control de calidad puedan efectuarse con eficacia y confiabilidad. Los requisitos básicos del control de calidad son los siguientes:

a) Se debe contar con instalaciones adecuadas, personal capacitado y procedimientos aprobados, a fin llevar a cabo el muestreo, la inspección y el ensayo de materias primas, materiales de envasado y productos semielaborados, a granel y terminados y, en caso que sea apropiado, para efectuar el control de las condiciones ambientales en relación con las BPF;

b) Deben obtenerse muestras de materias primas, materiales de envasado y productos semielaborados, valiéndose de métodos aprobados y de personal autorizado por el departamento de control de calidad;

c) Los métodos de ensayo deben ser validados;

d) Deben mantenerse registros (manualmente o mediante instrumentos registradores) que sirvan para demostrar que se han llevado a cabo todos los procedimientos de muestreo, inspección y ensayo y que cualquier desviación ha sido plenamente registrada e investigada;

e) Los productos terminados deben contener ingredientes que se adecuen a la composición cualitativa y cuantitativa del producto, conforme a su descripción en la autorización de comercialización; los envases apropiados y los rótulos correspondientes;

f) Deben registrarse los resultados de la inspección y ensayo de materias primas y de productos semielaborados, para

verificar si cumplen con las especificaciones; el examen de un producto debe incluir la revisión y evaluación de la documentación de producción pertinente y un estudio de las desviaciones de los procedimientos especificados;

g) No se debe autorizar la venta o suministro de ningún lote de producto antes de su certificación por la(s) persona(s) autorizada(s) en el sentido de que el lote cumple con los requisitos establecidos por la autoridad sanitaria al emitir la autorización de comercialización;

h) Debe retenerse un número suficiente de materia prima y producto terminado para posibilitar un examen del producto en el futuro, si fuere necesario. Los productos retenidos deben guardarse en el envase final, a menos que dicho paquete sea excepcionalmente voluminoso.

3.3 El departamento de control de calidad tendrá también otras atribuciones, tales como establecer, validar y poner en práctica todos los procedimientos de control de calidad, evaluar, mantener y almacenar las sustancias de referencia; asegurar el correcto rotulado de los envases de materiales y productos, asegurar que se controle la estabilidad de los ingredientes farmacéuticos activos y de los productos, participar en la investigación de los reclamos relacionados con la calidad del producto y participar en la vigilancia del medio ambiente. Todas estas operaciones deben efectuarse conforme a los procedimientos escritos y, en los casos en que sea necesario, deben registrarse.

3.4 La evaluación del producto terminado debe abarcar todos los factores pertinentes, incluyendo las condiciones de producción, los resultados de los ensayos realizados durante el proceso de producción (incluyendo el envasado), la documentación, el cumplimiento de las especificaciones del producto terminado y el examen del envase final.

3.5 El personal encargado del control de calidad debe tener acceso a las áreas de producción para llevar a cabo, como sea apropiado, los trabajos de muestreo e investigación.

4 - Saneamiento e higiene

4.1 Cada uno de los aspectos de la fabricación de productos farmacéuticos debe ir acompañado de un elevado nivel de saneamiento e higiene, el cual debe abarcar al personal, instalaciones, equipos y aparatos, materiales y recipientes para la producción, productos de limpieza y desinfección y todo aquello que puede ser fuente de contaminación del producto. Todas las posibles fuentes de contaminación deben ser eliminadas mediante un programa amplio de saneamiento e higiene. (Con respecto a la higiene, ver la *Sección 10, Personal* y al saneamiento, la *Sección 11, Instalaciones*.)

5 - Validación

5.1 Los estudios de validación constituyen una parte esencial de las BPFC, y deben efectuarse conforme a protocolos definidos de antemano. Debe prepararse y archivarse un informe escrito que resuma los resultados y las conclusiones registrados. Los procesos y procedimientos deben establecerse sobre la base de un estudio de validación y someterse periódicamente a una revalidación para asegurar que con ellos se siguen obteniendo los resultados deseados. Se debe prestar especial atención a la validación del proceso de producción en todas sus etapas, los métodos analíticos empleados en el análisis y los procedimientos de limpieza.

VALIDACION DEL PROCESO

5.2 Los procesos de importancia crítica deben validarse prospectiva y retrospectivamente.

5.3 Debe demostrarse que el proceso definido, utilizando los materiales y equipos especificados, da como resultado un producto que uniformemente posee la calidad, exigida.

5.4 Se debe validar toda modificación importante del proceso de fabricación, incluyendo cualquier cambio en equipos o materiales que puedan influir en la calidad del producto y/o la reproducibilidad del proceso.

6 - Reclamos

6.1 PRINCIPIO - Todos los reclamos y otras informaciones relacionadas con productos potencialmente defectuosos

deben examinarse cuidadosamente de conformidad con procedimientos establecidos por escrito.

6.2 Debe ser designada una persona que se responsabilice de atender todos los reclamos y de decidir qué medidas deben adoptarse, juntamente con personal suficiente para asistirle en esa tarea. Si la designación recae en una persona que no sea la *Persona autorizada*, entonces ésta debe ser informada acerca de todo reclamo, investigación, o retiro de productos.

6.3 Se debe contar con procedimientos escritos que describan las medidas que deban adoptarse, incluyendo la necesidad de que un producto sea retirado, en caso de reclamo referente a posibles defectos del mismo.

6.4 Todo reclamo acerca de un defecto en un producto debe ser registrado, incluyendo todos los detalles originales, e investigado cuidadosamente. El responsable del control de calidad debe participar permanentemente en el estudio de estos problemas.

6.5 Si se descubre un defecto en un lote o si se sospecha la existencia de un defecto, se debe tener en cuenta si otros lotes deben también controlarse para determinar si han sido afectados por dicho defecto. En particular, deben someterse a control otros lotes que podrían contener sustancias reprocesadas provenientes del lote defectuoso.

6.6 Cuando sea necesario, debe efectuarse un seguimiento, que podría incluir el retiro del producto, luego de la investigación y evaluación del reclamo.

6.7 Se deben registrar todas las decisiones y medidas adoptadas como resultado de un reclamo y referirlas a los registros correspondientes al lote en cuestión.

6.8 Los registros de reclamos deben ser revisados periódicamente para determinar si existe algún indicio de que se repite algún problema específico que deba recibir atención especial y que tal vez justifique que el producto sea retirado del mercado.

7 - Retiro de un producto

7.1 PRINCIPIO - Debe existir un sistema para retirar del mercado en forma rápida y efectiva un producto cuando éste

tenga un defecto o exista sospecha de ello.

7.2 Debe designarse una persona como responsable de la ejecución y coordinación de las órdenes de retiro de un producto, que tenga a su disposición el personal suficiente para manejar todos los aspectos del retiro con la debida celeridad. Dicha persona debe ser independiente de los departamentos de ventas y comercialización. Si esta persona es otra que la *Persona autorizada*, ésta debe ser informada acerca de toda operación de retiro.

7.3 Se debe determinar por escrito el procedimiento de la operación de retiro, el cual debe ser revisado y actualizado periódicamente. La operación de retiro de un producto debe iniciarse con rapidez, al menos al nivel de hospitales y farmacias.

7.4 Se debe notificar inmediatamente a las autoridades competentes de todos los países en los que pudo haber sido distribuido un producto que ha sido retirado del mercado por tener un defecto real o sospechado.

7.5 Para que el retiro del producto sea efectivo, la persona responsable del retiro debe tener a su disposición los registros de distribución, los cuales deben contener información suficiente sobre los clientes mayoristas y los destinatarios de la distribución directa (incluyendo, en el caso de los productos exportados, los destinatarios que han recibido muestras para ensayos clínicos y muestras médicas).

7.6 Debe registrarse el desarrollo del proceso de retiro y redactarse un informe sobre el mismo, como también el balance entre la cantidad de producto distribuido y retirado.

7.7 Periódicamente debe efectuarse una revisión y evaluación de la eficiencia del sistema de retiro.

7.8 Deben darse instrucciones en el sentido de que los productos sujetos a retiro se almacenen en un lugar seguro y separado, hasta que se decida su destino final.

8 - Producción y análisis por contrato

8.1 PRINCIPIO - La producción y el análisis por contrato deben ser definidos, mutuamente acordados y controlados, con

el fin de evitar malentendidos que puedan dar como resultado que un producto, trabajo, o análisis sean de calidad insuficiente. Debe existir un contrato escrito entre el contratante y el contratista, el cual estipule claramente las obligaciones de cada una de las partes. En el contrato debe establecerse claramente la forma en que la(s) persona(s) autorizada(s) para liberar cada lote, cumpla plenamente con sus responsabilidades.

GENERALIDADES

8.2 Todas las gestiones relacionadas con la fabricación y análisis por contrato deben estar de acuerdo con la autorización de comercialización referente al producto en cuestión.

8.3 Se debe contar con un contrato escrito que abarque la fabricación y/o análisis de productos, como también toda gestión técnica relacionada con éstos.

8.4 El contrato debe permitir que el contratante someta a auditoría las instalaciones del contratista.

8.5 En el caso del análisis por contrato, la empresa contratada, su Director Técnico y su representante legal son solidariamente responsables ante la Autoridad Sanitaria, junto con el titular del certificado, por los aspectos técnicos inherentes a la actividad objeto del contrato.

EL CONTRATANTE

8.6 El contratante es responsable de evaluar si el contratista es suficientemente competente para efectuar debidamente el trabajo o las pruebas requeridas y de asegurar, por medio del contrato, que se cumplan las BPFC, descritas en esta norma.

8.7 El contratante habrá de facilitar al contratista toda la información necesaria para llevar a cabo correctamente todas las operaciones previstas en el contrato, conforme a la autorización de comercialización y a cualquier otro requisito legal. El contratante debe asegurarse de que el contratista tiene pleno conocimiento de todos los problemas relacionados con el producto, el trabajo y las pruebas, que pudieren poner en peligro las instalaciones, equipos, personal, otros materiales u otros productos.

8.8 El contratante debe asegurarse de que todos los productos procesados y los materiales entregados por el contratista se adecuen a todas las especificaciones correspondientes o bien que la comercialización del producto haya sido aprobada por la persona autorizada.

EL CONTRATISTA

8.9 El contratista debe contar con instalaciones, equipos, conocimientos y experiencia suficientes para llevar a cabo satisfactoriamente el trabajo que le asigne el contratante. Para que un fabricante pueda llevar a cabo la fabricación de productos por contrato, debe contar con la autorización respectiva.

8.10 El contratista no podrá ceder a un tercero en todo o en parte el trabajo que se le ha asignado por contrato.

8.11 El contratista debe abstenerse de llevar a cabo cualquier actividad que pueda disminuir la calidad del producto fabricado y/o analizado para el contratante.

EL CONTRATO

8.12 Debe prepararse un contrato que especifique las responsabilidades del contratante y del contratista con relación a la fabricación y control del producto. Las partes del contrato que se refieran a aspectos técnicos del mismo deben ser redactadas por personas competentes, que tengan conocimientos suficientes en tecnología y análisis farmacéuticos y en las BPFC. Las partes contratantes deben manifestar su mutua conformidad con todas las disposiciones relacionadas con la producción y el análisis, las cuales deben conformarse con la autorización de comercialización.

8.13 En el contrato se debe estipular la forma en que la persona responsable de autorizar la circulación del producto asegurará que el lote ha sido fabricado conforme a las exigencias de la autorización de comercialización y que ello ha sido comprobado.

8.14 En el contrato se debe estipular claramente quiénes son la(s) persona(s) responsable(s) de la adquisición, ensayo y liberación de los materiales; de la producción y control de calidad, incluyendo el control durante el proceso, el muestreo y el análisis. En lo que respecta al análisis por contrato, debe

establecerse en el contrato qué parte será la responsable del muestreo.

8.15 Todo registro que guarde relación con la evaluación de la calidad del producto, así como los relacionados con la fabricación y las muestras de referencia, deben permanecer en manos del contratante o bien estar a su disposición. En caso que se reciban quejas o se alberguen sospechas de que existen defectos en el producto, debe estar disponible toda la información necesaria para iniciar la correspondiente investigación.

8.16 En el contrato se debe describir el manejo de las materias primas y productos a granel, semielaborados y terminados, en caso de que sean rechazados. Se debe describir asimismo el procesamiento de la información, si por el análisis efectuado según contrato se demuestra que el producto analizado debe ser rechazado.

9 - Autoinspección y auditorías de calidad

9.1 PRINCIPIO - La autoinspección tiene por objeto evaluar el cumplimiento de las BPFC por parte del fabricante, en todos los aspectos de la producción y del control de calidad. El programa de autoinspección debe diseñarse de tal forma que sirva para detectar cualquier deficiencia en el cumplimiento de las BPFC y recomendar las medidas correctivas necesarias. La autoinspección debe efectuarse en forma regular, pudiendo realizarse también en ocasiones especiales, como por ejemplo en caso de que un producto sea retirado del mercado o sea rechazado repetidas veces, o bien cuando la autoridad sanitaria haya anunciado una inspección. En el grupo encargado de la autoinspección deben incluirse personas que puedan evaluar el cumplimiento de las BPFC en forma objetiva. Todas las recomendaciones referentes a medidas correctivas deben ponerse en práctica. El procedimiento de autoinspección debe documentarse y debe establecerse un programa efectivo de seguimiento.

PUNTOS DE LA AUTOINSPECCION

9.2 Deben prepararse instrucciones escritas referentes a la autoinspección, a fin de establecer un mínimo de normas y

requisitos uniformes que abarquen al menos los siguientes puntos:

- a) Personal.
- b) Instalaciones, inclusive las destinadas al personal.
- c) Mantenimiento de edificios y equipos
- d) Almacenamiento de materias primas y productos terminados.
- e) Equipos.
- f) Producción y controles durante el proceso
- g) Control de calidad.
- h) Documentación.
- i) Saneamiento e higiene.
- j) Programas de validación y revalidación.
- k) Calibración de instrumentos o sistemas de medición.
- l) Procedimientos de retiro de productos del mercado.
- m) Manejo de reclamos.
- n) Control de rótulos.
- o) Resultados de las autoinspecciones anteriores y medidas correctivas adoptadas.

EQUIPOS PARA LA AUTOINSPECCION

9.3 La dirección de la empresa debe designar un equipo de autoinspección formado por personas expertas en sus respectivos campos y conocedoras de las BPFC. Pueden integrar dichos equipos, personas de la compañía o ajenas a ellas.

FRECUENCIA DE LA INSPECCION

9.4 La frecuencia de la autoinspección dependerá de las necesidades de cada compañía.

INFORMES DE LA AUTOINSPECCION

9.5 Una vez terminada la autoinspección debe prepararse un informe sobre la misma, el cual incluirá:

- a) Resultados de la autoinspección.
- b) Evaluación y conclusiones.
- c) Medidas correctivas recomendadas.

SEGUIMIENTO

9.6 La administración de la compañía debe evaluar tanto la autoinspección como las medidas correctivas necesarias.

AUDITORIA DE LA CALIDAD

9.7 Podría ser conveniente complementar la autoinspección con una auditoría de calidad, que consiste en un

examen y evaluación de todo o parte del sistema de calidad, con el propósito específico de mejorarlo. Por lo general, la auditoría de la calidad se encarga a especialistas independientes ajenos a la compañía o bien a un equipo designado por la administración específicamente con ese fin. Dicha auditoría puede extenderse también a los proveedores y contratistas (ver la *Sección 8, Producción y análisis por contrato*)

AUDITORIA DE LOS PROVEEDORES

9.8 El departamento de control de calidad y/o garantía de calidad por sí solo, o conjuntamente con otros departamentos pertinentes tendrán la responsabilidad de la aprobación de los proveedores a quienes se pueda confiar la responsabilidad de proveer materias primas y materiales de envasado que reúnan las especificaciones establecidas.

9.9 Antes de que un proveedor sea aprobado, debe ser evaluado. En esta evaluación se deben tener en cuenta los antecedentes del proveedor y la naturaleza de los materiales requeridos. Si es necesaria una auditoría, en ella debe determinarse la capacidad del proveedor de cumplir con las BPFC (ver *Sección 18*).

10 - Personal

10.1 PRINCIPIO - El establecimiento y mantenimiento de un sistema de garantía de calidad adecuado, como también la apropiada fabricación y control de los medicamentos dependen de los recursos humanos. De ahí que se debe contar con suficiente personal calificado para que el fabricante pueda realizar las tareas de las cuales es responsable. Todas las personas involucradas deben comprender claramente sus responsabilidades, las cuales deben determinarse por escrito. Además deben conocer los principios de las BPFC, que les incumben.

GENERALIDADES

10.2 El fabricante debe contar con un número suficiente de empleados que posean la experiencia y las calificaciones adecuadas. Las responsabilidades encargadas a cada persona no deben ser tan numerosas como para constituir un riesgo para la calidad.

10.3 El fabricante debe preparar un organigrama y las tareas específicas de cada individuo deben definirse por escrito. Además, cada uno debe poseer la suficiente autoridad para cumplir con sus responsabilidades. Las respectivas tareas pueden ser delegadas, siempre que lo sean a personas idóneas. No debe haber vacíos ni superposiciones en las responsabilidades del personal en lo que respecta al cumplimiento de las BPFC

10.4 Todo el personal debe conocer los principios que rigen las BPFC, con relación a su trabajo, y debe recibir adiestramiento inicial y continuado para satisfacer sus necesidades laborales, incluyendo capacitación en cuestiones relacionadas con la higiene. Se debe motivar al personal para que se esfuerce en establecer y mantener normas de calidad adecuadas.

10.5 Deben adoptarse las medidas necesarias para impedir el ingreso de personas no autorizadas a las áreas de producción, almacenamiento y control de calidad. El personal que no trabaja en dichas áreas no debe utilizarlas como pasillos para ir a otras áreas.

PERSONAL PRINCIPAL

10.6 El personal principal incluye al director técnico, al jefe de producción, al jefe de control de calidad. Normalmente, los cargos más importantes deben llenarse con personal con dedicación exclusiva. El jefe de control de calidad debe ser independiente del de producción. En compañías muy grandes, tal vez sea necesario delegar algunas de las funciones, pero la responsabilidad no puede ser delegada.

10.7 El personal principal encargado de supervisar la fabricación y el control de calidad de los productos farmacéuticos, debe poseer una educación científica y experiencia práctica adecuadas y acordes con las exigencias de la legislación nacional. Su educación debería incluir el estudio de una, o una combinación adecuada, de las siguientes ciencias:

- a) química (analítica u orgánica) o bioquímica
- b) ingeniería química
- c) microbiología
- d) ciencias y tecnología farmacéuticas

- e) farmacología y toxicología
- j) fisiología, o
- g) otras ciencias afines.

Debe poseer también experiencia práctica en la fabricación y garantía de calidad de los productos farmacéuticos. A fin de obtener esa experiencia, puede ser necesario un período preparatorio, durante el cual ejerzan sus responsabilidades bajo la orientación de un profesional. Un experto debe poseer educación científica y experiencia práctica que le permitan tener criterio profesional independiente, basado en la aplicación de principios científicos a los problemas prácticos que se planteen en la fabricación y control de calidad de los productos farmacéuticos.

10.8 Los jefes de los departamentos de producción y control de calidad generalmente comparten algunas responsabilidades relacionadas con la calidad. Estas pueden incluir:

- a) Autorización de procedimientos escritos u otros documentos, incluyendo modificaciones;
- b) Vigilancia y control del lugar de fabricación;
- c) Higiene de la planta;
- d) Validación del proceso y calibración de los instrumentos de análisis;
- e) Capacitación, abarcando los principios de la garantía de calidad y su aplicación;
- f) Aprobación y vigilancia de proveedores de materiales;
- g) Aprobación y vigilancia de los fabricantes por contrato;
- h) Establecimiento y vigilancia de las condiciones de almacenamiento de materiales y productos;
- i) Archivo de registros;
- j) Vigilancia del cumplimiento de las exigencias de las BPFC.

10.9 El jefe del departamento de producción tiene generalmente las siguientes responsabilidades:

- a) Asegurar que los productos se fabriquen y almacenen en concordancia con la documentación apropiada, a fin de obtener la calidad exigida;
- b) Aprobar las instrucciones relacionadas con las operaciones de

fabricación, incluyendo los controles durante el proceso, y asegurar su estricto cumplimiento;

c) Asegurar que los registros de producción sean evaluados y firmados por la persona designada, antes de que se pongan a disposición del departamento de control de calidad;

d) Vigilar el mantenimiento del departamento, la higiene, las instalaciones y los equipos;

e) Asegurar que se lleven a cabo las debidas validaciones de los procesos y las calibraciones de los equipos de control, como también que esas validaciones se registren y que los informes estén disponibles;

f) Asegurar que se lleve a cabo la capacitación inicial y continua del personal de producción, y que dicha capacitación se adapte a las necesidades.

10.10 El jefe del departamento de control de calidad por lo general tiene las siguientes responsabilidades:

a) Aprobar o rechazar las materias primas, los materiales de envasado, los productos semielaborados, graneles y productos terminados;

b) Evaluar los registros de los lotes;

c) Asegurar que se lleven a cabo todas las pruebas necesarias;

d) Aprobar las especificaciones, las instrucciones de muestreo, los métodos de pruebas y otros procedimientos de control de calidad;

e) Aprobar y controlar los análisis llevados a cabo por contrato;

f) Vigilar el mantenimiento del departamento, la higiene, las instalaciones y los equipos;

g) Asegurar que se efectúen las validaciones apropiadas, incluyendo las correspondientes a los procedimientos analíticos y las calibraciones de los equipos de control;

h) Asegurar que se realice la capacitación inicial y continua del personal, y que dicha capacitación se adapte a las necesidades;

Otras funciones del departamento de control de calidad se describen en la *Sección 3.2*.

CAPACITACION

10.11 El fabricante debe llevar a cabo la capacitación del personal sobre la base de un programa escrito preparado para todos los empleados cuyas responsabilidades incluyen el ingreso a las áreas de producción o los laboratorios de control (incluyendo el personal técnico, de mantenimiento y de limpieza), y también para todos aquellos cuyas actividades puedan influir en la calidad del producto.

10.12 Además de la capacitación básica acerca de la teoría y práctica de las BPF, el personal nuevo debe recibir capacitación adecuada a las responsabilidades que se le asignan. La capacitación debe ser continua y periódicamente debe evaluarse su efectividad. Los programas de capacitación deben estar al alcance de todo el personal y deben ser aprobados por el jefe de producción o el de control de calidad, según corresponda. Asimismo, se debe llevar un registro de dichos programas.

10.13 Deben ofrecerse programas especiales de capacitación para el personal que trabaja en áreas donde existe peligro de contaminación como, por ejemplo, las áreas que deben permanecer limpias y aquellas donde se manipulan materiales altamente activos, tóxicos y sensibles.

10.14 Durante las sesiones de capacitación deben discutirse cuidadosamente el concepto de garantía de calidad y todas aquellas medidas que puedan elevar la comprensión y aplicación de dicho concepto.

10.15 Es preferible que a los visitantes y al personal no específicamente capacitado no se les permita el ingreso a las áreas de producción y de control de calidad. Si ello es inevitable, esas personas deben ser bien informadas de antemano, especialmente acerca de las exigencias de higiene y de uso de ropas adecuadas. Además, dicho ingreso debe supervisarse cuidadosamente.

HIGIENE PERSONAL

10.16 Todo el personal, antes de ser contratado y durante el tiempo que dure de empleo, debe someterse a exámenes médicos. Además, el personal que realice

inspecciones visuales debe someterse a exámenes oculares.

10.17 Todo el personal debe recibir adiestramiento en las prácticas de la higiene personal. Todas las personas involucradas en el proceso de fabricación deben observar un alto nivel de higiene personal. En especial, se debe instruir al personal a que se laven las manos antes de ingresar a las áreas de producción. Se deben colocar carteles alusivos a esa obligación y se deben cumplir las instrucciones.

10.18 Si una persona muestra signos de enfermedad o sufre lesiones abiertas, de tal forma que pueda verse afectada la calidad de los productos, no debe permitírsele manipular materias primas, materiales de envasado, productos en proceso, o bien productos farmacéuticos, hasta que se considere que la condición haya desaparecido.

10.19 Se debe instruir a todo el personal para que informen a su supervisor inmediato acerca de condiciones (relativas a las instalaciones, equipos, o personal) que consideren que puedan influir negativamente en los productos.

10.20 Se debe evitar el contacto de las manos del operario con materias primas, envases primarios y productos semielaborados o a granel.

10.21 Para asegurar la protección del producto contra la contaminación, el personal debe vestir ropas adecuadas a las labores que realiza, incluyendo cofias. Una vez usadas, las ropas que volverán a usarse deben colocarse en sitios separados y cerrados hasta que sean lavadas y, si fuere necesario, desinfectadas o esterilizadas.

10.22 Debe prohibirse el fumar, comer o beber, como también el mantener plantas, alimentos o bebidas, o bien medicamentos personales, en las áreas de producción, laboratorio y almacenamiento, o en cualquier otra área donde esas actividades puedan influir negativamente en la calidad de los productos.

10.23 Los procedimientos relacionados con la higiene personal, incluyendo el uso de ropas protectoras, se aplican a todas las personas que ingresan a las áreas de producción, ya se trate de

empleados temporales o permanentes, o personas no pertenecientes a la compañía, como por ejemplo empleados de contratistas, visitantes o inspectores.

11 - Instalaciones

11.1 PRINCIPIO - Las instalaciones deben ser ubicadas, designadas, construidas, adaptadas y mantenidas de tal forma que sean apropiadas para las operaciones que se realizarán en ellas. Es necesario que en su planificación y diseño se trate de reducir al mínimo el riesgo de error, y se permita una adecuada limpieza y mantenimiento del orden, a fin de evitar la contaminación cruzada, el polvo y la suciedad y en general toda condición que pueda influir negativamente en la calidad de los productos.

GENERALIDADES

11.2 Las instalaciones deben estar ubicadas en un ambiente tal que, consideradas en conjunto con las medidas destinadas a proteger las operaciones de fabricación ofrezcan el mínimo riesgo de contaminar materiales o productos.

11.3. Las instalaciones usadas para la fabricación de productos farmacéuticos deben estar diseñadas y construidas para facilitar el saneamiento adecuado.

11.4 Las instalaciones deben mantenerse en buen estado de conservación y se debe asegurar que las operaciones de mantenimiento y reparación no pongan en peligro la calidad de los productos. Las instalaciones deben limpiarse adecuadamente y, en caso necesario, desinfectarse de acuerdo a procedimientos detallados por escrito.

11.5 La provisión de electricidad y las condiciones de iluminación, temperatura, humedad y ventilación deben ser tales que no influyan negativamente, ya sea directa o indirectamente, en los productos farmacéuticos durante su fabricación y almacenamiento, o en el funcionamiento apropiado de los equipos.

11.6 Las instalaciones deben ser diseñadas y equipadas de tal forma que ofrezcan la máxima protección contra el ingreso de insectos y animales.

AREAS ACCESORIAS

11.7 Las áreas destinadas a descanso y refrigerio deben estar separadas de las demás.

11.8 Las instalaciones, destinadas al cambio de ropa y su guardado, como también las de limpieza y arreglo personal, deben ser fácilmente accesibles y adecuadas al número de usuarios. Los baños no deben comunicarse directamente con las áreas de producción o almacenamiento.

11.9 Los talleres deben estar separados de las áreas de producción. Si las herramientas y repuestos se guardan en el área de producción deben guardarse en cuartos separados o en armarios destinados exclusivamente a tal efecto.

11.10 Los lugares destinados a los animales deben permanecer aislados de las demás áreas con entradas separadas (accesos para animales exclusivamente) y contar con aparatos de control del aire.

AREAS DE ALMACENAMIENTO

11.11 Las áreas de almacenamiento deben poseer la capacidad suficiente para el almacenamiento ordenado de materiales y productos de diversas categorías, es decir, materias primas, materiales de envasado, productos semielaborados y a granel; productos terminados, en cuarentena, autorizados para expedición, devueltos o retirados del mercado.

11.12 Las áreas de almacenamiento deben diseñarse o adaptarse para asegurar las buenas condiciones de almacenamiento. En particular, deben estar limpias, secas y mantenidas a temperaturas compatibles con los elementos almacenados. En los casos en que se requieren condiciones de almacenamiento especiales (determinada temperatura y humedad, por ejemplo), éstas deben establecerse y controlarse.

11.13 En los lugares de recepción y despacho, los productos y materiales deben estar protegidos de las condiciones del tiempo. Las áreas de recepción deben diseñarse y equiparse de tal forma que los envases de materiales puedan limpiarse si fuere necesario antes de su almacenamiento.

11.14 Las áreas separadas donde se almacenan los productos sometidos a cuarentena deben estar claramente

delimitadas y el acceso a las mismas debe limitarse al personal autorizado. Todo sistema destinado a sustituir a la cuarentena debe ofrecer condiciones equivalentes de seguridad.

11.15 Normalmente debe existir un área de muestreo para las materias primas, que esté separada de las demás aunque se admite el muestreo dentro del área de cuarentena. Si el muestreo se efectúa en el área de almacenamiento, debe hacerse de tal forma que se impida la contaminación y la contaminación cruzada.

11.16 El almacenamiento de materiales o productos rechazados, retirados del mercado, o devueltos debe efectuarse por separado.

11.17 Los materiales sumamente activos narcóticos, otros fármacos peligrosos, y las sustancias que presentan riesgos especiales ya sea por su uso indebido o inflamabilidad, deben almacenarse en lugares seguros y bien protegidos:

11.18 Los materiales de envasado impresos son considerados sumamente importantes con respecto a la concordancia de los medicamentos con sus respectivos rótulos, y debe prestarse especial atención al almacenamiento seguro y resguardado de dichos materiales.

ÁREA DE PESAJE (puede ser parte del área de almacenamiento o del área de producción)

11.19 El pesado de las materias primas y la estimación de su rendimiento mediante esa operación generalmente se realizan en áreas separadas destinadas al pesado, con las instalaciones necesarias para lavar los utensilios y dispositivos especiales para controlar el polvo.

ÁREA DE PRODUCCION

11.20 Con el objeto de reducir al mínimo el riesgo de contaminación cruzada, se debe contar con áreas independientes y autónomas para la fabricación de ciertos productos farmacéuticos, tales como materiales altamente sensibilizantes (por ejemplo, derivados penicilánicos), hormonas, citostáticos o preparaciones biológicas (por ejemplo, microorganismos vivos). Estas áreas pueden funcionar dentro de

las instalaciones generales de la fábrica o fuera de ella, pudiendo compartir aquellos servicios que no generen riesgos de contaminación cruzada. En casos excepcionales, puede permitirse el trabajo en campaña, es decir con intervalos de tiempo y limpieza adecuados entre una y otra producción, en las mismas instalaciones que se emplean para preparar medicamentos (con la excepción de los nombrados anteriormente) siempre que se tomen precauciones especiales y se efectúen las validaciones necesarias. Los suplementos dietarios y productos cosméticos, pueden prepararse las mismas instalaciones que se emplean para preparar medicamentos (con la excepción de los nombrados anteriormente) siempre que se cumplan todos los recaudos necesarios, incluyendo la validación de los procedimientos de limpieza y justificando, mediante la documentación pertinente, tal necesidad ante la Autoridad Sanitaria.

11.21 Es preferible que las instalaciones estén ubicadas de tal forma que la producción pueda llevarse a cabo en un orden lógico y concordante con la secuencia de las operaciones de producción. Asimismo, deben reunir las condiciones de limpieza exigidas.

11.22 Las áreas de trabajo y de almacenamiento durante el proceso deben permitir la lógica ubicación de los equipos y materiales, de tal forma que se reduzca al mínimo el riesgo de confusión entre los distintos productos y sus componentes, se evite la contaminación cruzada, y se reduzca el riesgo de omisión y aplicación errónea de cualquiera de las operaciones de fabricación o control.

11.23 Las áreas donde los materiales de envasado primario y los productos semielaborados están expuestos al ambiente, deben poseer superficies interiores (paredes, pisos y cielorrasos) lisas y libres de grietas, aberturas y no despedir partículas. Además, deben ser fáciles de limpiar adecuadamente y, si es necesario, de desinfectar.

11.24 Las cañerías, artefactos de iluminación, puntos de ventilación y otros servicios deben ser diseñados y ubicados de tal forma que no causen dificultades en la limpieza. Siempre que sea posible, por razones de mantenimiento, se debe tener

acceso a los mismos desde fuera de las áreas de producción.

11.25 Los drenajes deben ser de tamaño adecuado y no deben permitir la contracorriente. En lo posible se debe tratar de evitar la instalación de canales abiertos, pero si esto es inevitable deben ser de poca profundidad para facilitar la limpieza y la desinfección.

11.26 Las áreas de producción deben tener una ventilación efectiva, con instalaciones de control de aire (incluyendo el control de la temperatura y, donde sea necesario, de la humedad y de las filtraciones) adecuadas a los productos que en ella se manipulan, a las operaciones realizadas en su interior. Dichas áreas deben ser controladas regularmente durante el proceso de producción y fuera de él, con el fin de asegurar el cumplimiento de sus especificaciones de diseño.

11.27 Las instalaciones de envasada de productos farmacéuticos deben estar diseñadas y planificadas de tal forma que se eviten confusiones y contaminaciones cruzadas.

11.28 Las áreas de producción deben estar bien iluminadas, especialmente donde se efectúan los controles en línea de producción.

ÁREA DE CONTROL DE CALIDAD

11.29 Los laboratorios de control de calidad deben estar separados de las áreas de producción. A su vez, las áreas donde se realizan pruebas biológicas, microbiológicas o por radioisótopos, deben estar adecuadamente separadas entre sí.

11.30 Los laboratorios de control deben estar diseñados de conformidad con las operaciones que en ellos se habrán de efectuar. Se debe contar con espacio adecuado para el almacenamiento de muestras, sustancias de referencia (si fuere necesario, con refrigeración), y registros.

11.31 En el diseño del laboratorio debe contemplarse el empleo de materiales de construcción adecuados. Además, se debe prever una adecuada ventilación y prevenir la formación de vapores nocivos. Los laboratorios biológicos, microbiológicos y de radioisótopos deben contar con

instalaciones independientes, entre ellas las de control de aire.

11.32 Podría ser necesario contar con un cuarto separado para los instrumentos, a fin de protegerlos de las interferencias eléctricas, las vibraciones, la humedad excesiva y otros factores externos, o bien para el caso de que sea necesario aislarlos.

12. Equipos

12.1 PRINCIPIO - Los equipos se deben diseñar, construir, adaptar, ubicar y mantener de conformidad a las operaciones que se habrán de realizar. El diseño y ubicación de los equipos deben ser tales que se reduzca al mínimo el riesgo de que se cometan errores, y que se pueda efectuar eficientemente la limpieza y mantenimiento de los mismos, con el fin de evitar la contaminación cruzada, el polvo, la suciedad y en general todo aquello que pueda influir negativamente en la calidad de los productos.

12.2 La instalación de los equipos se debe hacer de tal manera que el riesgo de error y contaminación sea mínimo.

12.3 Las cañerías fijas deben tener identificado su contenido y, si es posible, la dirección del flujo.

12.4 Todas las cañerías y otros artefactos de servicios deben marcarse debidamente y, cuando se trata de gases y líquidos peligrosos, deben emplearse conexiones o adaptadores que no sean intercambiables entre sí.

12.5 Para llevar a cabo las operaciones de producción y control se debe contar con balanzas y otros equipos de medición, dotados del rango y precisión adecuados, los cuales deben ser calibrados conforme a un cronograma fijo.

12.6 Los equipos de producción deben ser diseñados, mantenidos y ubicados de tal forma que puedan usarse para los fines previstos.

12.7 El diseño de los equipos de producción debe ser tal que permita la limpieza fácil y completa sobre la base de un cronograma fijo.

12.8 Los equipos e instrumentos del laboratorio de control deben ser adecuados a los procedimientos de análisis previstos.

12.9 Deben seleccionarse instrumentos de limpieza y lavado que no constituyan fuente de contaminación.

12.10 Los equipos de producción no deben presentar riesgos para los productos. Las partes de los equipos de producción que entran en contacto con el producto no deben ser reactivas, ni adsorbentes, ni ceder ningún tipo de material, hasta tal punto que puedan influir en la calidad del producto.

12.11 Siempre que sea posible, los equipos defectuosos deben ser eliminados de las áreas de control de calidad y producción o al menos identificados claramente como tales.

13 - Materiales

13.1 PRINCIPIO - El principal objetivo de una fábrica de productos farmacéuticos es fabricar productos terminados para uso de los pacientes mediante una combinación de materiales (activos, auxiliares y de envasado). Se debe prestar especial atención a los materiales empleados.

GENERALIDADES

13.2 Todos los materiales que ingresan a la fábrica deben ser sometidos a cuarentena inmediatamente después de su recepción, hasta que sea autorizado su uso o distribución.

13.3 Todos los materiales y productos deben almacenarse en condiciones apropiadas establecidas por el fabricante, y en un orden tal que pueda efectuarse la segregación de los lotes y la rotación de las existencias, según la regla de que los primeros que llegan son los primeros que salen.

MATERIAS PRIMAS

13.4 La adquisición de las materias primas es una operación importante que debe involucrar a personal que posea conocimientos profundos acerca de los productos y sus proveedores.

13.5 Las materias primas deben adquirirse solamente de los proveedores que figuran en la especificación respectiva y, siempre que sea posible, directamente del productor. Se recomienda que las especificaciones establecidas por el fabricante para las materias primas sean discutidas con los proveedores. Es conveniente que el

fabricante y los proveedores deliberen acerca de todos los aspectos de la producción y del control de materias primas, incluyendo la manipulación, rotulado, requisitos de envasado, como también los procedimientos que deben observarse en caso de reclamo o rechazo.

13.6 En cada envío se deben revisar los envases para comprobar que el envase y el sello no hayan sido alterados, y que haya concordancia entre el pedido, la nota de envío y los rótulos del proveedor.

13.7 Se deben revisar todos los materiales recibidos, para asegurar que el envío corresponda al pedido. Los envases deben limpiarse si fuere necesario, y deben incluirse los datos correspondientes en las rótulos.

13.8 Cualquier daño en los envases u otro problema que pueda influir negativamente en la calidad de un producto debe registrarse y comunicarse al departamento de control de calidad para su debida investigación.

13.9 Si un envío de materiales está compuesto por diversos lotes, cada lote debe considerarse independientemente para el muestreo, ensayo y autorización.

13.10 Las materias primas del área de almacenamiento deben ser rotuladas adecuadamente. Los rótulos deben contener la siguiente información, como mínimo:

- a) El nombre con que ha sido designado el producto y, cuando corresponda, el código de referencia interno;
- b) El (los) número(s) de lote(s) asignado(s) por el proveedor y, si lo(s) hubiere, el (los) número(s) de lote(s) asignado(s) por el fabricante al recibirlo(s);
- c) El estado de los contenidos (en cuarentena, en prueba, autorizados, rechazados, devueltos, o los retirados, por ejemplo);
- d) Según corresponda, la fecha de vencimiento, o la fecha, después de la cual se hace necesaria una nueva prueba.

En caso de que los sistemas de almacenamiento hayan sido totalmente computarizados, no es necesario que toda la información mencionada figure en el rótulo en forma legible.

13.11. Deben, adoptarse procedimientos o medidas adecuados para asegurar la identidad del contenido de cada envase de materia prima. Asimismo, se deben identificar los envases de los cuales se han retirado muestras para su análisis.

13.12 Se deben utilizar exclusivamente materias primas autorizadas por el departamento de control de calidad, y que estén dentro de su período de vida útil.

13.13 Las materias primas deben ser expedidas solamente por las personas designadas, de conformidad con un procedimiento escrito, a fin de asegurar que los materiales respectivos sean correctamente pesados y medidos y colocados en envases limpios y adecuadamente rotulados.

13.14 El peso y volumen de cada material expedido deben ser controlados y esta operación debe registrarse.

13.15 Los materiales expedidos para cada lote del producto final deben mantenerse juntos y deben ser visiblemente rotulados como tales.

MATERIALES DE ENVASADO

13.16 La adquisición, manipulación y control de los envases primarios y de los materiales de envasado impresos debe efectuarse de la misma manera que en el caso de las materias primas.

13.17 Se debe prestar especial atención a los materiales de envasado impresos. Deben mantenerse almacenados en condiciones seguras, a fin de impedir que personas no autorizadas tengan acceso a ellos. Para evitar confusión, los rótulos y otros materiales sueltos deben almacenarse y transportarse en envases cerrados independientes. Los materiales de envasado deben expedirse solamente a las personas designadas, conforme a un procedimiento aprobado y documentado.

13.18 A cada envío o lote de material impreso o de material de envasado primario se le debe asignar un número especial de referencia o marca de identificación.

13.19 Todo material de envasado primario o material de envasado impreso desactualizado u obsoleto debe ser destruido y debe registrarse el destino que se le asigna.

13.20. Antes de ser utilizados, todos los productos y materiales de envasado deben ser examinados en ocasión de su envío al área de envasado, en lo que respecta a su cantidad, identidad y conformidad con las respectivas instrucciones de envasado.

PRODUCTOS SEMIELABORADOS Y A GRANEL

13.21 Los productos semielaborados y a granel deben ser mantenidos en condiciones apropiadas.

13.22 Al ser recibidos, los productos semielaborados y a granel adquiridos como tales deben ser manejados como si fueran materias primas.

PRODUCTOS TERMINADOS

13.23 Los productos terminados deben mantenerse en cuarentena hasta su aprobación final, después de lo cual deben almacenarse como existencia utilizable, en las condiciones establecidas por el fabricante.

13.24 La evaluación de los productos terminados y la documentación necesaria para que la venta de dichos productos sea autorizada se describen en la *Sección 16, Buenas prácticas de control de calidad*.

MATERIALES RECHAZADOS Y RECUPERADOS

13.25 Los materiales y productos rechazados deben ser identificados como tales y almacenados separadamente en áreas restringidas. Deben ser devueltos a los proveedores o, cuando sea apropiado, reprocesados o eliminados. Cualquiera sea la determinación adoptada; ésta debe ser aprobada por la persona autorizada y debidamente registrada.

13.26 Sólo en casos excepcionales se admite el reprocesamiento de los productos rechazados. El reprocesado será permitido solamente si no se ve afectada la calidad del producto, si se reúnen todas las especificaciones, y si se efectúa de conformidad con un proceso bien definido y autorizado, una vez hecha la evaluación de los riesgos existentes. Se debe registrar el reprocesado y asignarse un nuevo número al lote reprocesado.

13.27 Para poder introducir total o parcialmente lotes, que reúnan las condiciones de calidad exigidas, en otro lote del mismo producto, en una etapa

determinada de la fabricación, se necesita una autorización previa. Asimismo, para recuperar un lote por ese medio debe hacerse de conformidad con un procedimiento determinado, una vez que se hayan evaluados los riesgos, inclusive la posibilidad de que la operación influya en el tiempo de conservación del producto. La recuperación del lote debe registrarse.

13.28 El departamento de control de calidad debe tener presente la necesidad de llevar a cabo pruebas adicionales de cualquier producto que haya sido reprocesado, o bien de un producto en el cual se haya incorporado un producto reprocesado.

PRODUCTOS RETIRADOS

13.29 Los productos retirados deben ser identificados y almacenados separadamente en un área segura, hasta que se decida su destino. Esta decisión debe adoptarse lo más pronto posible.

PRODUCTOS DEVUELTOS

13.30 Los productos provenientes del mercado que hayan sido devueltos deben ser eliminados, a menos que se tenga la certeza de que su calidad es satisfactoria; en esos casos, podrá considerarse su reventa o su rotulado, una vez que haya sido evaluado por el departamento de control de calidad, de conformidad con un procedimiento escrito. En esa evaluación deberá tenerse en cuenta la naturaleza del producto, cualquier condición especial de almacenamiento que requiera, la condición en que se encuentra, su historia y el tiempo transcurrido desde su expedición. En caso de existir alguna duda con respecto a la calidad del producto, no podrá considerarse apto para un nuevo despacho o uso, aun cuando pueda ser posible un reprocesado químico básico para recuperar el principio activo. Todas las acciones efectuadas deben registrarse debidamente.

REACTIVOS Y MEDIOS DE CULTIVO

13.31 Todos los reactivos y medios de cultivo deben registrarse al recibirse o al prepararse.

13.32 Los reactivos hechos en el laboratorio deben prepararse de conformidad con procedimientos escritos y deben rotularse debidamente. En el

rótulo se debe indicar la concentración, el factor de normalización el tiempo de conservación, la fecha en que debe efectuarse la renormalización y las condiciones de almacenamiento. El rótulo debe estar firmado y fechado por la persona que haya preparado el reactivo.

13.33. Se deben aplicar tanto controles positivos como negativos, a fin de verificar si los medios de cultivos son apropiados. El tamaño del inóculo utilizado en los controles positivos debe ser apropiado para la sensibilidad requerida.

SUSTANCIAS DE REFERENCIA

13.34 Las sustancias de referencia pueden estar disponibles en forma de sustancias de referencia oficiales. Las preparadas por el fabricante deben ser analizadas, autorizadas, rotuladas y almacenadas como sustancias de referencia. Asimismo, deben mantenerse en un área segura bajo la responsabilidad de una persona designada al efecto.

13.35 Las sustancias de referencia oficiales deben utilizarse sólo para el propósito descrito en la monografía correspondiente.

13.36 Pueden establecerse patrones secundarios o de trabajo mediante el empleo de pruebas y controles adecuados a intervalos regulares, para garantizar la normalización. Toda sustancia de referencia preparada en la fábrica debe basarse en una sustancia de referencia oficial, cuando ésta esté disponible.

13.37 Toda sustancia de referencia debe almacenarse y emplearse de tal forma que no se vea afectada su calidad.

MATERIALES DESECHADOS

13.38 Deben adoptarse las medidas necesarias para el almacenamiento apropiado y seguro de los materiales desechados hasta ser eliminados. Las sustancias tóxicas y los materiales inflamables deben almacenarse en armarios de diseño adecuado, separados y cerrados, de conformidad a la legislación vigente a tal efecto.

13.39 No se debe permitir la acumulación de materiales desechados. Deben ser recolectados en recipientes adecuados para su traslado a los puntos de retiro fuera de los edificios, y deben ser

eliminados en forma inocua y sanitaria a intervalos regulares y frecuentes.

MISCELÁNEA

13.40 No se debe permitir que insecticidas, rodenticidas, agentes de fumigación y materiales de saneamiento contaminen equipos, materias primas, materiales de envasado, materiales en proceso, o productos terminados.

14 - Documentación

14.1 PRINCIPIO - La documentación es una parte esencial del sistema de garantía de la calidad y, por lo tanto, debe estar relacionada con todos los aspectos de las BPF. Tiene por objeto definir las especificaciones de todos los materiales y métodos de fabricación e inspección; asegurar que todo el personal involucrado en la fabricación sepa lo que tiene que hacer y cuando hacerlo; asegurar que todas las personas autorizadas posean toda la información necesaria para decidir acerca de la autorización de la venta de un lote de medicamentos; y proporcionar a la auditoría los medios necesarios para investigar la historia de un lote sospechoso de tener algún defecto. El diseño y la utilización de un documento depende del fabricante. En algunos casos todos o algunos de los documentos mencionados a continuación podrán integrar un conjunto de documentos, pero por lo general permanecerán separados.

GENERALIDADES

14.2 Todos los documentos deben ser diseñados, revisados y distribuidos cuidadosamente. Deben cumplir con las exigencias pertinentes enunciadas en las autorizaciones de fabricación y comercialización.

14.3 Los documentos deben ser aprobados, firmados y fechados por las personas designadas como responsables. Ningún documento debe modificarse sin autorización.

14.4 El contenido de los documentos debe estar libre de expresiones ambiguas: deben expresarse claramente el título, la naturaleza y el propósito. Deben redactarse en forma ordenada y deben ser fáciles de verificar. Las copias de los mismos deben ser claras y legibles. Los documentos de trabajo reproducidos a partir de los originales no deben contener

errores originados en el proceso de reproducción.

14.5 Los documentos deben revisarse regularmente y mantenerse actualizados. Si se modifica un documento, se debe establecer un sistema por el cual se impida el uso accidental de una versión anterior.

14.6 Cuando en un documento deben ingresarse datos, éstos deben ser claros, legibles e indelebles. Debe haber suficiente espacio para el ingreso de todos los datos solicitados.

14.7 Si se modifica un documento, la modificación debe ser firmada y fechada y se debe poder leer la información original que ha sido modificada. En caso que sea apropiado, debe expresarse el motivo de la modificación.

14.8 Debe mantenerse un registro de todas las acciones efectuadas o completadas, de tal forma que se pueda tomar conocimiento de todas las actividades importantes relacionadas con la fabricación de productos farmacéuticos. Todos los registros, incluyendo los referentes a los procedimientos operativos normalizados, se deben mantener por un año, como mínimo, después de la fecha de vencimiento del producto terminado.

14.9 Está permitido registrar datos por medio de sistemas electrónicos de procesamiento de datos, o bien por sistemas fotográficos u otros medios confiables. Las fórmulas maestras y los procedimientos operativos normalizados detallados que se refieran al sistema en uso deben estar disponibles, y debe verificarse la exactitud de los registros. Si la documentación se maneja a través de métodos de procesamiento de datos, sólo las personas autorizadas podrán ingresar nuevos datos en la computadora o modificar los existentes, y se debe mantener un registro de las modificaciones y supresiones; para el acceso al sistema debe establecerse una contraseña u otro medio de restringirlo, y el ingreso de datos importantes debe verificarse independientemente. Los registros de lotes archivados electrónicamente deben ser protegidos mediante una grabación de reserva en cinta magnética, microfilme, impresos, u otros medios. Es especialmente

importante que durante el período de retención, pueda disponerse fácilmente de los datos pertinentes.

DOCUMENTOS EXIGIDOS

Rótulos -

14.10 Los rótulos colocados en los recipientes, equipos o instalaciones deben ser claros e inequívocos y preparados de conformidad con el formato establecido por la compañía. A menudo resulta conveniente que en los rótulos se usen colores, además de palabras, para indicar la condición en que se encuentra el producto (en cuarentena, aceptado, rechazado, o estéril, por ejemplo).

14.11 Todos los productos farmacéuticos terminados deben ser identificados mediante un rótulo, de la forma exigida por las reglamentaciones vigentes y conteniendo los siguientes datos, como mínimo:

- a) El nombre del producto farmacéutico;
- b) Una lista de los principios activos (con sus respectivas denominaciones comunes internacionales, cuando corresponda) con indicación de la cantidad de cada uno y una declaración del contenido neto, como por ejemplo, el número de unidades de dosificación, peso o volumen;
- c) Número de lote asignado por el fabricante;
- d) Fecha de vencimiento en forma no codificada;
- e) Condiciones especiales de almacenamiento o manipulación que pudieran ser necesarias;
- f) Indicaciones de uso y advertencias o precauciones que pudieran ser necesarias;
- g) Nombre y dirección del fabricante o de la compañía o la persona responsable de colocar el producto en el mercado.

14.12 Para las sustancias de referencia, el rótulo o documento adjunto debe indicar la concentración, fecha de fabricación, fecha de vencimiento, fecha en que el envase se abre por primera vez y condiciones de almacenamiento, en los casos apropiados.

Especificaciones y procedimientos de prueba

14.13 Los procedimientos de prueba descritos en los documentos deben ser comprobados en el contexto de las instalaciones disponibles antes de que sean adoptados para las pruebas correspondientes.

14.14 Deben establecerse especificaciones adecuadamente autorizadas y fechadas, incluyendo pruebas de identidad, contenido, pureza y calidad, tanto para las materias primas y materiales de envasado como para los productos terminados; cuando sea apropiado, se establecerán también especificaciones para los productos semielaborados o a granel. Deben incluirse también especificaciones para agua, solventes y reactivos (ácidos y bases, por ejemplo) usados en la producción.

14.15 Cada especificación debe ser aprobada y mantenida por la unidad de control de calidad.

En las *Secciones 14.18 a 14.21* se hace referencia a las especificaciones para las materias primas, productos semielaborados, productos a granel y terminados.

14.16 Tal vez sea necesario efectuar revisiones periódicas de las especificaciones para estar de acuerdo con las nuevas ediciones de la Farmacopea Argentina.

14.17 En el laboratorio de control de calidad deben estar a disposición farmacopeas incluyendo la versión vigente de la Farmacopea Argentina, sustancias de referencia, espectros de referencia y otros materiales de referencia.

Especificaciones para las materias prima y materiales de envasado -

14.18 Las especificaciones para las materias primas y envases primarios, o para los materiales de envasado impresos, deben contener, cuando sea pertinente, una descripción de los materiales, incluyendo:

- a) El nombre designado (la denominación común internacional, cuando corresponda) y el código de referencia interno;
- b) La referencia, si la hubiere, a una monografía de la farmacopea;

c) Requisitos cualitativos y cuantitativos, con los límites de aceptación; según las prácticas de la compañía, pueden agregarse otros datos a las especificaciones, tales como:

d) Datos referentes al proveedor y al productor original de los materiales;

e) Una muestra de los materiales impresos;

f) Instrucciones para el muestreo y las pruebas, o una referencia a los procedimientos;

g) Condiciones de almacenamiento y precauciones que deben tomarse;

h) El tiempo máximo de almacenamiento permitido antes de un nuevo examen.

Los materiales de envasado deben conformarse a las especificaciones, destacando la importancia de que dichos materiales sean compatibles con el producto farmacéutico que contienen. Los materiales deben examinarse para verificar si no tienen defectos críticos o mayores, como también si las marcas que los identifican son correctas.

14.19 En los documentos que describen los procedimientos de prueba se debe indicar la frecuencia exigida para la revaloración de cada una de las materias primas, según lo determine su estabilidad.

Especificaciones para productos semielaborados y a granel

14.20 Se debe contar con especificaciones para los productos semielaborados y a granel en caso de que éstos sean adquiridos o expedidos, o si los datos obtenidos de los productos semielaborados se utilizan en la evaluación del producto final. Dichas especificaciones deben ser similares a las especificaciones para las materias primas o para los productos terminados, según corresponda.

Especificaciones para productos terminados -

14.21 Las especificaciones para productos terminados deben incluir:

- a) El nombre asignado al producto y el código de referencia, si corresponde;
- b) El (los) nombre(s) asignado(s) al(los) principio(s) activo(s) y si

corresponde la(s) denominación(es) común(es) internacional(es);

c) La fórmula o una referencia a la fórmula;

d) Una descripción de la forma farmacéutica y detalles del envase;

e) Instrucciones para efectuar el muestreo y las pruebas, o una referencia a estos procedimientos;

f) Requisitos cualitativos y cuantitativos, con los límites de aceptación;

g) Las condiciones de almacenamiento y las precauciones que deban tomarse, cuando corresponda;

h) El período de conservación.

Formulas maestras -

14.22 Se debe contar con una fórmula maestra oficialmente autorizada para cada producto y tamaño de lote a fabricarse.

14.23 La fórmula maestra debe incluir:

a) El nombre del producto, con un código, que se refiera a sus especificaciones;

b) Una descripción de la forma farmacéutica, la potencia del producto y el tamaño del lote;

c) Una lista de las materias primas a emplearse (y si corresponde, con sus respectivas denominaciones comunes internacionales), indicando la cantidad de cada una, usando el nombre y referencia que son exclusivos para cada material (se debe hacer mención de cualquier sustancia que pueda desaparecer durante el proceso);

d) Una indicación del rendimiento esperado con los límites de aceptabilidad y de los rendimientos semielaborados pertinentes; en los casos que corresponda;

e) Indicación del lugar del proceso y de los principales equipos a ser empleados;

f) Los métodos, o una referencia a los mismos, a ser usados para la preparación de los principales equipos, como limpieza, por ejemplo (especialmente cuando ésta se hace después de un cambio de producto), armado, calibración, esterilización, etc.;

g) Instrucciones detalladas de los pasos a seguir en el proceso (inspección de materiales, tratamientos previos, secuencia en que se agregan materiales,

cronograma de las operaciones de mezclado, temperaturas, etc.),

h) Instrucciones referentes a los controles durante el proceso con sus límites;

i) Cuando fuere necesario, normas para el almacenamiento de los productos, incluyendo el envase, el rotulado y cualquier otras condición de almacenamiento;

j) Precauciones especiales que deban adoptarse. Instrucciones de envasado

14.24 Se debe contar con instrucciones de envasado autorizadas oficialmente para cada producto, tamaño de envase y tipo de producto. Normalmente, deben incluir o hacer referencia a:

a) El nombre del producto;

b) Una descripción de la forma farmacéutica, potencia y método de aplicación cuando corresponda;

c) El tamaño del envase expresado en términos de número de unidades, peso o volumen del producto en el envase final;

d) Una lista completa de todos los materiales de envasado exigidos para un lote de tamaño normal, incluyendo cantidades, tamaños y tipos, con el código o número relacionado con las especificaciones para cada material de envasado;

e) Cuando sea apropiado, un ejemplo o copia de los materiales impresos de envasado correspondientes, con indicación del lugar donde se han colocado el número de lote y la fecha de vencimiento del producto;

f) Precauciones especiales a ser observadas, incluyendo un cuidadoso examen del área de envasado y de los equipos, a fin de cerciorarse de que la línea de producción esté en condiciones adecuadas antes de comenzar las operaciones;

g) Una descripción del proceso, incluyendo cualquier operación subsidiaria importante y de los equipos a ser usados;

h) Detalles acerca de los controles durante el proceso con instrucciones para el muestreo y los límites de aceptación.

Registros del proceso de lotes -

14.25 Debe mantenerse un registro de proceso para cada lote procesado. Dicho registro debe basarse en las partes pertinentes de la fórmula maestra aprobada que esté en vigencia. El método de preparación de tales registros debe diseñarse de tal forma que se eviten los errores de transcripción.

14.26 Antes de comenzar una operación del proceso de fabricación, se debe verificar si los equipos y el lugar de trabajo están libres de productos, documentos o materiales correspondientes al proceso anterior que ya no se requieren para el proceso que está por iniciarse y que los equipos estén limpios y preparados para el uso. Dicha verificación debe registrarse.

14.27 Durante el proceso y en el momento en que se lleva a cabo cada acción, deben registrarse los datos indicados a continuación. Una vez completado el proceso, dicho registro debe ser firmado y fechado por la persona responsable de las operaciones del proceso. Los datos exigidos son:

- a) El nombre del producto;
- b) El número del lote que se está fabricando;
- c) Fechas y horas de inicio de las etapas intermedias importantes y de la finalización de la producción;
- d) El nombre de la persona responsable de cada etapa de producción;
- e) Las iniciales del (los) operador(es) de las diversas etapas más importantes de la producción y, cuando corresponda, de la(s) persona(s) que verificó (verificaron) cada una de estas operaciones (control de peso, por ejemplo);
- f) El número de lote y/o número de análisis de control y las cantidades de cada una de las materias primas que se hayan pesado (incluyendo el número de lote y la cantidad de cualquier material recuperado o reprocesado que se haya agregado);
- g) Cualquier operación o hecho relacionado con el proceso y los equipos utilizados;
- h) Los controles efectuados durante el proceso y las iniciales de la(s) persona(s) que los hayan efectuado, como también los resultados obtenidos;
- i) La cantidad de producto obtenido en las diferentes etapas pertinentes de la

fabricación (rendimiento) juntamente con comentarios o explicaciones acerca de las desviaciones significativas del rendimiento esperado;

j) Notas detalladas acerca de problemas especiales, incluyendo una autorización firmada referente a toda desviación de la fórmula maestra.

Registro del envasado de lotes -

14.28 Debe mantenerse un registro del envasado de lotes o partes de lotes procesados. Dicho registro debe basarse en las partes pertinentes de las instrucciones de envasado y el sistema de preparación del mismo debe tener por objeto evitar los errores de transcripción.

14.29 Antes de comenzar una operación de envasado debe verificarse que los equipos y el lugar de trabajo estén libres de productos de procesos anteriores, documentos y materiales que no se requieren para el proceso que está por iniciarse y que los equipos estén limpios y preparados para el uso. Dicha verificación debe registrarse.

14.30 La siguiente información debe registrarse en el momento de efectuarse cada acción y debe identificarse claramente a la persona responsable mediante su firma o contraseña electrónica:

- a) El nombre del producto, el número de lote y la cantidad de producto a granel a ser envasado, como también el número de lote y la cantidad de producto terminado que se espera obtener y la cantidad real obtenida;
- b) La(s) fecha(s) y hora(s) de las operaciones de envasado;
- c) El nombre de la persona responsable que efectúa la operación de envasado;
- d) Las iniciales de los operadores de cada una de las etapas significativas;
- e) Los controles efectuados con el fin de verificar la identidad y conformidad con las instrucciones de envasado, incluyendo los resultados de los controles durante el proceso.
- f) Los detalles de las operaciones de envasado efectuadas, incluyendo referencias a los equipos y a las líneas de envasado utilizadas y, de ser necesario, las instrucciones para dejar el producto sin envasar o bien un registro de la

devolución del área de almacenamiento de un producto que no se haya envasado;

g) De ser posible, muestras de los materiales impresos utilizados en el envasado, incluyendo muestras que tienen el número de lote, fecha de vencimiento y cualquier otro dato sobreimpreso;

h) Notas acerca de cualquier problema especial, incluyendo de talles de cualquier desviación de las instrucciones de envasado, con la autorización escrita de la persona responsable;

i) Las cantidades y números de referencia o identificación de todos los materiales de envase do impresos y los productos a granel expedidos, utilizados, eliminados o devueltos al inventario y la cantidad de producto obtenida.

Procedimientos operativos normalizados y registros -

14.31 Deben establecerse procedimientos operativos normalizados y registros para la recepción de cada envío de materias primas y de materiales de envasado primario e impresos.

14.32 Los registros de recepción deben incluir:

a) El nombre del material que consta en la nota de envío y en los recipientes,

b) El nombre y/o código dado al material en el lugar de recepción si es diferente al del inciso anterior;

c) La fecha de recepción;

d) El nombre del proveedor y, de ser posible, el del fabricante;

e) El número de lote o referencia usado por el fabricante;

f) La cantidad total recibida y el número de envases recibidos;

g) El número asignado al lote después de su recepción;

h) Cualquier comentario que sea pertinente (la condición en que se encuentran los recipientes, por ejemplo).

14.33 Deben establecerse procedimientos operativos normalizados para el rotulado interno, la cuarentena y el almacenamiento de las materias primas, material de envasado y otros materiales, como sea apropiado.

14.34 Deben establecerse procedimientos operativos normalizados para cada instrumento y equipo, y debe colocarse la transcripción escrita de los

mismos cerca de dichos instrumentos y equipos.

14.35 Deben establecerse procedimientos operativos normalizados para el muestreo que especifiquen la(s) personas autorizada(s) para recoger muestras.

14.36 Las instrucciones referentes al muestreo deben incluir:

a) El método y el plan de muestreo;

b) El equipo a ser empleado;

c) Precauciones que deben tomarse para evitar la contaminación del material o el deterioro de su calidad;

d) Las cantidades de las muestras a ser recogidas;

e) Instrucciones referentes a alguna subdivisión de la muestra;

f) El tipo de recipientes a usarse para las muestras y si son recipientes aptos para el muestreo aséptico o para el muestreo normal;

g) Precauciones especiales que deban tomarse, especialmente en lo referente al muestreo de material estéril o nocivo.

14.37 Debe establecerse un procedimiento operativo normalizado que incluya los detalles del sistema de numeración de lotes con el objeto de asegurar que cada lote de producto semielaborado, a granel o terminado se identifique con un número de lote específico.

14.38 Los procedimientos operativos normalizados para la numeración de los lotes, que se apliquen durante el proceso y la etapa de envasado deben estar relacionados entre sí.

14.39 Al establecer un procedimiento operativo normalizado para la numeración de los lotes se debe asegurar que no se repitan los mismos números de lotes; esto se aplica también al reprocesado.

14.40 La asignación de números a los lotes debe registrarse inmediatamente en un libro diario de operaciones, por ejemplo. En el registro debe incluirse la fecha de asignación, la identidad del producto y tamaño del lote.

14.41 Deben establecerse por escrito los procedimientos para los análisis que se efectúan con materiales y productos en las distintas etapas de la fabricación, describiendo los métodos y equipos

empleados. Deben registrarse las pruebas efectuadas.

14.42 Los registros de los análisis deben incluir, como mínimo, los siguientes datos:

a) El nombre del material o producto y, cuando corresponda, de la forma farmacéutica;

b) El número del lote y, cuando corresponda, el nombre del fabricante y/o del proveedor;

c) Referencias a las especificaciones y procedimientos de análisis correspondientes;

d) Los resultados de los análisis, incluyendo observaciones, cálculos y referencias a las especificaciones (límites);

e) Las fechas de los análisis;

f) Las iniciales de las personas que efectuaron los análisis;

g) Las iniciales de las personas que verificaron los análisis y, los cálculos, cuando corresponda;

h) Una indicación clara de la autorización o rechazo (o alguna otra disposición sobre la condición del material o producto) y la fecha y la firma de la persona designada como responsable.

14.43 Deben establecerse por escrito los procedimientos de autorización y rechazo de los materiales y productos, y especialmente el procedimiento para la autorización de venta de un producto terminado por una persona autorizada.

14.44 Deben mantenerse registros de la distribución de cada lote de un producto a fin de facilitar el retiro del lote si fuere necesario.

14.45 Deben establecerse procedimientos operativos normalizados y registros de las acciones efectuadas, como también, cuando sea apropiado, de las conclusiones resultantes acerca de lo siguiente:

a) Armado de equipos y su validación;

b) Aparatos de análisis y su calibración;

c) Mantenimiento, limpieza y saneamiento;

d) Cuestiones relativas al personal, incluyendo idoneidad, capacitación, vestimenta e higiene;

e) Control del medio ambiente;

f) Control de animales e insectos nocivos;

g) Reclamos;

h) Retiros de productos del mercado;

i) Devoluciones.

14.46 Deben mantenerse libros diarios de operaciones con los equipos importantes e indispensables, y en ellos deben registrarse, como sea apropiado, las validaciones, calibraciones, mantenimiento, limpieza o reparaciones, incluyendo fechas e identidad de las personas que lleven a cabo esas operaciones.

14.47 Deben registrarse debidamente y en orden cronológico el uso dado a los equipos importantes e indispensables y las áreas en que han sido procesados los productos.

14.48 Deben establecerse por escrito procedimientos por los cuales se asigne la responsabilidad por el saneamiento, describiendo detalladamente los horarios de limpieza, métodos, equipos y materiales a ser empleados, y las instalaciones objeto de la limpieza. Dichos procedimientos escritos deben cumplirse.

SEGUNDA PARTE - Buenas prácticas de fabricación y control de calidad

15 - Buenas prácticas de fabricación

15.1 PRINCIPIO - Las operaciones de producción deben seguir procedimientos claramente definidos con el objeto de obtener productos que reúnan las condiciones de calidad exigidas por las respectivas autorizaciones de comercialización.

GENERALIDADES

15:2 Todas las operaciones de manejo de materiales y productos, tales como cuarentena, muestreo, almacenamiento, rotulado, despacho, procesado, envasado y distribución, deben efectuarse de conformidad con procedimientos o instrucciones escritas y, cuando sea necesario, registrarse.

15.3 Siempre que sea posible, debe evitarse cualquier desviación de las instrucciones o procedimientos. Cuando haya que efectuar alguna desviación, ésta debe ser aprobada por escrito por la persona designada, con participación del

departamento de control de calidad, cuando sea apropiado.

15.4 En la medida que sea necesario, debe efectuarse el control de los rendimientos para asegurar que no haya discrepancias que superen los límites aceptables.

15.5 No deben llevarse a cabo operaciones con diferentes productos simultánea o consecutivamente en el mismo ambiente, a menos que no haya riesgo alguno de confusión o contaminación cruzada.

15.6 En todo momento durante el proceso, todos los materiales, envases a granel, equipos principales y, cuando sea apropiado, los ambientes utilizados, deben ser identificadas con carteles o de otra forma, con indicación del producto o material que se está procesando, su potencia (si corresponde), y el número del lote. Si fuere apropiado, dicha indicación debe también mencionar la etapa en que se encuentra la producción.

15.7 El acceso al recinto donde se efectúa la producción debe limitarse al personal autorizado.

15.8 No deben fabricarse productos no medicamentosos en las áreas donde se fabrican productos farmacéuticos, o con equipos destinados a la producción de éstos, con las excepciones previstas en la sección 11.20.

15.9 Los controles durante el proceso se realizan en su mayoría dentro del área de producción. Estos no deben presentar riesgo alguno para la calidad del producto.

PREVENCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN CRUZADA Y DE LA CONTAMINACIÓN BACTERIANA EN LA PRODUCCIÓN

15.10 Cuando en la producción se emplean materiales secos, deben tomarse precauciones especiales para prevenir la generación de polvo y su diseminación.

15.11 Se debe evitar la contaminación de una materia prima o de un producto por otra materia prima o producto. Este riesgo de contaminación cruzada accidental surge de la generación incontrolada de polvo, gases, vapores, aerosoles u organismos provenientes de materiales y productos durante las operaciones del proceso, como también de residuos que quedan en los equipos, de insectos que se introducen en el lugar y de

contaminantes provenientes de las ropas y de la piel de los operarios, etc. La importancia de dicho riesgo varía según el tipo de contaminante y el producto que se contamine. Entre los contaminantes más peligrosos se encuentran los materiales altamente sensibilizantes, las preparaciones biológicas, tales como organismos vivos, ciertas hormonas, sustancias citotóxicas y otros materiales sumamente activos. Los productos en los cuales la contaminación es más significativa son los parenterales, los que se aplican sobre heridas abiertas y los administrados en grandes dosis y/o por largo tiempo.

15.12 Se debe evitar la contaminación cruzada mediante la adopción de las siguientes medidas técnicas y administrativas, por ejemplo, se recomienda:

a) Que la producción se lleve cabo en áreas segregadas (lo cual es necesario para productos tales como materiales altamente sensibilizantes, hormonas, citostáticos o preparaciones biológicas (por ejemplo, microorganismos vivos);

b) Que se establezcan áreas herméticas, con diferencias de presión y dotadas de extractores de aire;

c) Que se reduzca al mínimo la contaminación causada por la recirculación o el reingreso de aire no tratado o insuficientemente tratado;

d) Que se utilice vestimenta apropiada en las áreas donde se procesan los productos que corren un riesgo especial de contaminación;

e) Que se empleen procedimientos de limpieza y descontaminación de eficacia conocida, ya que la limpieza incorrecta de los equipos constituye una fuente común de contaminación;

f) Que se implemente un sistema cerrado de producción;

g) Que se lleven a cabo pruebas para verificar si quedan residuos;

h) Que se usen rótulos que indiquen el estado de limpieza de los equipos.

15.13 Debe verificarse periódicamente la eficacia de las medidas destinadas a prevenir la contaminación cruzada. Dicha verificación se debe hacer de conformidad con procedimientos operativos normalizados.

15.14 Las áreas donde se procesa productos susceptibles de contaminación microbiana deben ser sometidas periódicamente a operaciones de control microbiológico.

OPERACIONES DE PROCESADO: PRODUCTOS SEMIELABORADOS Y A GRANEL

15.15 Antes de iniciar una operación de procesado, deben adoptarse las medidas necesarias para asegurar que el área de trabajo y los equipos estén limpios y libres de materiales de partida, productos, residuos de productos, rótulos, o documentos, que no sean necesarios para la nueva operación.

15.16 Se deben llevar a cabo y registrarse todos los controles durante el proceso y los controles ambientales.

15.17 Deben adoptarse medidas destinadas a indicar la existencia de fallas en los equipos o servicios (la provisión de agua y gas para los equipos, por ejemplo). Los equipos defectuosos deben retirarse del uso hasta que el defecto haya sido corregido. Los equipos de producción deben limpiarse de conformidad con procedimientos detallados por escrito y guardarse limpios y secos.

15.18 Los recipientes a ser llenados deben limpiarse antes del llenado. Se debe prestar especial atención a la eliminación de contaminantes tales como fragmentos de vidrio y partículas metálicas.

15.19 Cualquier desviación significativa del rendimiento esperado debe ser registrada e investigada.

15.20 Debe comprobarse que las tuberías y otros equipos destinados al transporte de productos de un área a otra estén conectados correctamente.

15.21 Las tuberías usadas para agua destilada o desionizada y, cuando sea apropiado, otras tuberías de agua deben ser desinfectadas de conformidad con procedimientos escritos que detallen los límites de la contaminación microbiológica y las medidas que deben adoptarse.

15.22 Los equipos e instrumentos de medición, pesaje, registro y control deben someterse a servicios de mantenimiento y calibración a intervalos preestablecidos, y debe mantenerse un registro de estas operaciones. Para asegurar el

funcionamiento satisfactorio de los instrumentos, éstos deben ser controlados diariamente o antes de su empleo. Deben indicarse claramente las fechas en que se efectúan los trabajos de mantenimiento y calibración y las fechas en que deba efectuarse una recalibración.

15.23 Las operaciones de mantenimiento y reparación no deben presentar ningún riesgo para la calidad de los productos.

OPERACIONES DE ENVASADO

15.24 Al establecer un programa de envasado, se debe tratar de reducir al mínimo el riesgo de contaminación cruzada, de confusiones y sustituciones. El envasado de un producto no debe hacerse muy cerca del envasado de otro producto distinto, a menos que se trate de lugares separados o vigilados por medios electrónicos.

15.25 Antes de iniciar las operaciones de envasado deben adoptarse medidas para asegurar que el área de trabajo, las líneas de envasado, las máquinas impresoras y otros equipos estén limpios y libres de productos, materiales, o documentos previamente usados que no son necesarios para la nueva operación. Mediante una lista de control apropiada debe verificarse que dichas líneas estén listas y esta operación debe registrarse.

15.26 El nombre y número de lote del producto que se está envasando deben ser exhibidos en cada estación o línea de envasado.

15.27 En condiciones normales, el rotulado debe efectuarse lo más pronto posible después de las operaciones de envasado y cierre. Si se demora el rotulado, se deben adoptar medidas apropiadas para asegurar que no haya confusión o error en el rotulado.

15.28 Se debe verificar si es correcta la impresión (de los códigos y fechas de vencimiento, por ejemplo), ya sea que se efectúe en forma independiente o como parte del proceso de envasado y esa verificación debe registrarse. Si la impresión se efectúa manualmente, debe verificarse a intervalos regulares.

15.29 Se debe prestar especial atención cuando se utilizan rótulos sueltos, cuando se efectúa una sobrepresión fuera de la línea de

envasado y en operaciones de envasado manual. Para evitar confusiones, es preferible utilizar los rótulos dispensados en rollos, antes que los sueltos. Si bien la verificación por medios electrónicos automáticos de todos los rótulos en la línea de producción puede ser útil para evitar errores, se debe controlar este sistema, cerciorándose de que los instrumentos de lectura electrónica de códigos, los contadores de rótulos, u otros aparatos similares estén funcionando correctamente.

15.30 La información impresa o estampada en los materiales de envasado debe ser bien clara y no debe borrarse o desteñirse con facilidad.

15.31 El control de los productos en la línea de producción debe incluir como mínimo la verificación de lo siguiente:

- a) La apariencia general de los envases;
- b) Si los envases están completos;
- c) Si se han usado los productos y materiales de envasado correctos;
- d) Si la sobreimpresión se ha hecho debidamente;
- e) Si es correcto el funcionamiento de los controles de línea.

Las muestras recogidas de la línea de envasado no deben ser devueltas.

15.32 Los productos que se han visto involucrados en un acontecimiento inusual durante el envasado deben reintroducirse al proceso solamente después de que hayan sido inspeccionados, investigados y aprobados por personal autorizado. Se debe mantener un registro detallado de esta operación.

15.33 Si se observa alguna discrepancia significativa o inusual entre la cantidad del producto a granel y los materiales de envasado impresos y el número de unidades producidas, el hecho debe investigarse hasta encontrar una explicación satisfactoria antes de autorizar la expedición de los productos.

15.34 Una vez completada una operación de envasado, todos los materiales de envasado que tengan el código del lote envasado, y que no hayan sido utilizados, deben ser eliminados y esta acción debe registrarse. Si los materiales impresos no codificados son

devueltos al inventario, se debe seguir un procedimiento escrito.

16 - Buenas prácticas de control de calidad

16.1 PRINCIPIO - En el control de calidad se encuentran involucrados el muestreo, las especificaciones y las pruebas, como también los procedimientos de organización, documentación y autorización que aseguren que se lleven a cabo todas las pruebas pertinentes, y que no se autorice el uso de materiales ni la expedición de productos para su distribución o venta, sin que se haya establecido que su calidad es satisfactoria. El control de calidad no se limita a las operaciones de laboratorio, sino que debe estar involucrado en todas las decisiones vinculadas con la calidad del producto.

Se considera fundamental que el departamento de control de calidad sea independiente del de producción.

CONTROL DE MATERIAS PRIMAS Y DE PRODUCTOS SEMIELABORADOS, A GRANEL Y TERMINADOS

16.2 En todas las pruebas deben cumplirse las instrucciones dadas en el procedimiento escrito para cada material o producto. El resultado debe ser verificado por el supervisor antes de que el material o producto sea autorizado o rechazado.

16.3 Las muestras deben ser representativas de los lotes de material de los cuales han sido recogidas, de conformidad con el procedimiento escrito y aprobado.

16.4 El muestreo se debe llevar a cabo de tal forma que se evite la contaminación u otros problemas que puedan influir negativamente en la calidad del producto.

16.5 Durante el muestreo se debe tener especial cuidado en evitar la contaminación o confusión de los materiales sometidos al muestreo. Deben estar limpios todos los equipos de muestreo que entran en contacto con los materiales. Es probable que deban tomarse precauciones especiales con algunos materiales excepcionalmente peligrosos o potentes.

16.6 Los equipos empleados en el muestro deben limpiarse y, si fuere

necesario, esterilizarse, antes y después de cada uso y deben almacenarse en forma separada de los demás equipos de laboratorio.

16.7 Cada envase de muestra debe tener un rótulo que indique:

- a) El nombre del material sometido a muestreo;
- b) El número del lote muestreado;
- c) El número del envase de donde se ha recogido la muestra;
- d) La firma de la persona que ha recogido la muestra;
- e) La fecha del muestreo.

REQUISITOS EXIGIDOS EN LAS PRUEBAS

Materias primas y materiales de envasado -

16.8 Antes de autorizar el uso de materias primas o materiales de envasado, el jefe de control de calidad debe cerciorarse de que se ha comprobado que los materiales reúnen las especificaciones referentes a la identidad, actividad, pureza y otros indicadores de la calidad.

16.9 Una muestra proveniente de cada envase de materia prima debe someterse a una prueba de identificación (ver también la *Sección 13.11*).

16.10 Cada lote de materiales de envasado impresos debe ser examinado inmediatamente después de su recepción.

Controles durante el proceso -

16.11 Deben mantenerse registros de los controles efectuados durante el proceso, los cuales — formarán parte de los registros de los lotes (ver la *Sección 15.2*).

Productos terminados -

16.12 Antes de la autorización de cada lote de productos farmacéuticos, debe determinarse debidamente en el laboratorio que dicho lote cumple con las especificaciones establecidas para los productos terminados.

16.13 Los productos que no cumplen con las especificaciones establecidas o los criterios de calidad pertinentes, deben ser rechazados. Los productos rechazados pueden someterse a un reprocesamiento, si esto es viable, pero los productos reprocesados deben cumplir con todas las especificaciones y otros criterios de

calidad antes de que sean aceptados y autorizados.

EXAMEN DE LOS REGISTROS DE PRODUCCION

16.14 Los registros de producción y control deben ser examinados, y si un lote no cumple con las especificaciones establecidas, debe someterse a una investigación completa. Esta investigación debe, si es preciso, extenderse a otros lotes del mismo producto y de otros productos que pudieran haber tenido alguna vinculación con el defecto o la discrepancia. La investigación efectuada debe registrarse por escrito, incluyendo las conclusiones de la misma y su seguimiento.

16.15 Las muestras recogidas de cada lote de producto terminado deben ser retenidas por un mínimo de un año después de la fecha de vencimiento. Los productos terminados deben mantenerse en su envase final y almacenados en las condiciones recomendadas. Las muestras de materias primas activas deben retenerse por un año por lo menos después de la fecha de vencimiento del correspondiente producto terminado. Siempre que su estabilidad lo permita, otras materias primas (salvo los solventes, gases y agua) deben retenerse por un mínimo de dos años. La cantidad de las muestras de materiales y productos retenidos debe ser suficiente para que éstos puedan ser sometidos a dos nuevos exámenes completos, como mínimo.

ESTUDIOS DE ESTABILIDAD

16.16 El departamento de control de calidad debe llevar a cabo una evaluación de los productos farmacéuticos terminados y, cuando fuere necesario, de las materias primas y productos semielaborados.

16.17 El departamento de control de calidad debe establecer fechas de vencimiento y especificaciones sobre el tiempo de conservación, sobre la base de pruebas de estabilidad referentes a las condiciones de almacenamiento.

16.18 Debe prepararse por escrito y ponerse en práctica un programa permanente de determinación de la estabilidad, que incluya elementos tales como los siguientes:

a) una descripción completa del medicamento objeto del estudio;

b) los parámetros y métodos completos de pruebas, que describan todas las pruebas de potencia, pureza y características físicas, como también evidencias documentadas de que esas pruebas son indicadoras de la estabilidad del producto;

c) disposición de que se incluya un número suficiente de lotes;

d) cronograma de pruebas para cada medicamento;

e) disposición de que se establezcan condiciones especiales de almacenamiento;

f) disposición de que se retengan muestras apropiadas;

g) un resumen de todos los datos obtenidos, incluyendo las evaluaciones y conclusiones del estudio.

16.19 La estabilidad debe determinarse antes de la comercialización y también después de cualquier modificación significativa de los procesos, equipos, materiales de envasado, etc.

TERCERA PARTE - Normas complementarias y de apoyo

17 - Productos farmacéuticos estériles

EXPLICACION - Si bien estas normas no reemplazan a ninguna de las secciones de la *Primera parte* ni de la *Segunda parte*, hacen resaltar algunos puntos específicos para la fabricación de

preparaciones estériles, con el objeto de reducir al mínimo los riesgos de la contaminación microbiológica, por partículas y pirogénica.

GENERALIDADES

17.1 La producción de preparaciones estériles debe llevarse a cabo en áreas limpias; el ingreso a las cuales debe efectuarse a través de cierres de aire herméticos, tanto para el personal como para los materiales. Las áreas limpias deben mantenerse de conformidad con normas apropiadas de limpieza, y se debe suministrar a las mismas solamente aire que ha pasado por filtros de comprobada eficiencia.

17.2 Las diversas operaciones de preparación de componentes (tales como recipientes y cierres), preparación de productos, llenado y esterilización deben llevarse a cabo en zonas separadas dentro del área limpia.

17.3 Las áreas limpias destinadas a la fabricación de preparaciones estériles se clasifican, según las características del aire, en grados *A*, *B*, *C* y *D* (ver Tabla 1).

Debe mencionarse que:

- Los sistemas de corriente de aire laminar deben suministrar una velocidad de aire homogénea de aproximadamente 0,30 m/s para la corriente vertical y de aproximadamente 0,45 m/s para la corriente horizontal, pero la precisión de la velocidad del aire dependerá del tipo de equipo empleado.

Tabla 1. Sistema de clasificación del aire en la fabricación de productos estériles.

Grado	Número máximo de partículas permitidas por m ³		Número máximo de microorganismos viables permitidos por m ³
	0,5 – 5 mm	>5 mm	
A	3500	Ninguna	Menos de 1
(Estación de trabajo de corriente de aire)			
B	3.500	Ninguna	5
C	350.000	2.000	100
D	3500000	20000	500

- Para alcanzar los grados de aire *B*, *C* y *D*, el número de cambios de aire debe ser generalmente mayor de 20 por hora en una habitación con un buen patrón de corriente de aire y filtros de aire de alta eficacia (HEPA).

- Los valores bajos para los contaminantes son confiables solamente cuando se recoge un elevado número de muestras de aire.

- La orientación dada con respecto al número máximo de partículas permitido corresponde, aproximadamente, a la *Norma Federal de los Estados Unidos 209E (1992)* como sigue: Clase 100 (grados *A* y *B*), Clase 10.000 (grado *C*) y Clase 100.000 (grado *D*).

Algunas veces, no es posible clasificar el aire con una norma determinada en el punto de llenado, en el momento en que se lleva a cabo una operación de llenado, debido a que el producto mismo genera partículas o pequeñas gotas durante la operación.

17.4 Cada operación de fabricación requiere un nivel apropiado de limpieza del aire, para reducir al mínimo los riesgos de contaminación microbiana o por partículas del producto o de los materiales que se están manipulando. En la *Sección 17.5* se consignan los grados mínimos de aire requeridos para las diferentes operaciones de fabricación. Cuando el producto se expone al ambiente, las condiciones del aire indicadas en el Tabla 1 deben mantenerse en la zona inmediatamente vecina al producto. Estas condiciones deben mantenerse también en todo el entorno del producto si el personal no está presente en el área de procesamiento y, si las condiciones se deterioran por cualquier razón, debe ser posible volver a las condiciones recomendadas después de transcurrido un breve período de limpieza. El empleo de tecnología de protección absoluta y de sistemas automatizados para reducir al mínimo la intervención humana en las áreas de procesamiento puede facilitar considerablemente el mantenimiento de la esterilidad de los productos fabricados. Cuando se emplean dichas técnicas también tienen vigencia las

recomendaciones contenidas en estas normas complementarias, en especial las que se refieren a la calidad del aire y su control, con una interpretación apropiada de los términos "estación de trabajo" y "ambiente".

FABRICACION DE PREPARACIONES ESTERILES

17.5 En esta sección las operaciones de producción se dividen en tres categorías: la primera, en la cual la preparación se sella en su envase final y se somete a una esterilización terminal; la segunda, en la cual la preparación se esteriliza por filtración; y la tercera, en la cual la preparación no puede esterilizarse ni por filtración ni en forma terminal y, por consiguiente, debe producirse con materias primas estériles y en una forma aséptica. Los grados ambientales, según se especifica en las *Secciones 17.5.1* a *17.5.3*, deben ser fijados por el fabricante sobre la base de una serie de comprobaciones (llenados con medios estériles, por ejemplo).

Productos esterilizados en forma terminal -

17.5.1 Por lo general, las soluciones pueden prepararse en un ambiente grado *D*, con el objeto de obtener recuentos microbianos y de partículas bajos, aptos para filtración y esterilización inmediatas. Cuando se trata de preparaciones parenterales, el llenado debe efectuarse en una estación de trabajo de corriente de aire laminar (grado *A*), en un ambiente de grado *D*. El llenado de los recipientes de otros productos estériles no parenterales como, por ejemplo, ungüentos, cremas, suspensiones y emulsiones, generalmente puede hacerse en un ambiente de grado *C* antes de la esterilización terminal.

Productos esterilizados por filtración-

17.5.2 La manipulación de las materias primas y la preparación de soluciones deben efectuarse en un ambiente de grado *C*. Estas operaciones pueden efectuarse en un ambiente grado *D*, siempre que se hayan adoptado medidas adicionales para reducir al mínimo la contaminación, como por ejemplo el uso de sistemas cerrados antes de la filtración. Luego de la filtración

estéril, el producto debe manipularse y cargarse en recipientes bajo condiciones estériles en un área de grado *A* o *B*, con ambiente de grado *B* o *C*, respectivamente.

Otros productos estériles preparados con materias primas en forma aséptica -

17.5.3 La manipulación de materias primas y todo proceso posterior debe efectuarse en un área de grado *A* o *B*, en ambientes de grado *B* o *C*, respectivamente.

PERSONAL

17.6 Sólo el número mínimo necesario de personal debe estar presente en las áreas limpias; esto es especialmente importante durante los procesos asépticos. De ser posible, las inspecciones y los controles deben efectuarse desde afuera de las áreas respectivas.

17.7 Todos los empleados (incluyendo el personal de limpieza y mantenimiento) que trabajan en dichas áreas deben someterse regularmente a programas de capacitación en disciplinas relacionadas con la correcta fabricación de productos estériles, incluyendo la higiene y conocimientos básicos de microbiología. En caso de que sea necesario el ingreso a las áreas de personas que no hayan recibido dicha capacitación (por ejemplo, personal de mantenimiento contratado), deben ser supervisadas cuidadosamente.

17.8 El personal que haya estado involucrado en el procesado de materiales de tejidos animales o de cultivos de microorganismos distintos de los usados en el proceso de fabricación en curso no debe ingresar a las áreas de preparación de productos estériles, a menos que se hayan aplicado procedimientos rigurosos y claramente definidos de descontaminación.

17.9 Deben mantenerse elevados niveles de higiene y limpieza personal y los empleados involucrados en la fabricación de preparaciones estériles deben ser instruidos para que informen cualquier situación que pueda causar la liberación de cantidades o tipos anormales de contaminantes; es conveniente que se efectúen exámenes periódicos para determinar si existen dichas condiciones. Una persona

competente designada especialmente debe responsabilizarse de decidir acerca de las medidas que deban adoptarse con respecto al personal que podría estar causando situaciones anormales de peligro microbiológico.

17.10 A las áreas limpias no deben ingresar personas que vistan ropas de calle y el personal que ingresa a los vestuarios deberá ya estar vestido con la ropa protectora que se utiliza dentro de la fábrica. Con respecto al cambio de ropas y al aseo personal, se deben seguir procedimientos escritos.

17.11 El tipo de ropas y la calidad de las mismas dependen del tipo de proceso de fabricación y del lugar de trabajo y las ropas deben vestirse de tal forma que los productos estén protegidos de la contaminación.

17.12 Las personas que ingresan en las áreas limpias no deben usar reloj de pulsera ni joyas, ni tampoco cosméticos de los cuales puedan desprenderse partículas.

17.13 La vestimenta de las personas en el lugar de trabajo debe ser acorde al grado del aire del área respectiva. A continuación se describen las ropas exigidas para cada grado de aire:

- Grado D - El cabello y, cuando corresponda, la barba deben cubrirse. Se deben usar ropas de protección y calzados o cubre calzados apropiados. Deben adoptarse medidas apropiadas para evitar la contaminación proveniente del exterior del área limpia.

- Grado C - El cabello y, cuando corresponda, la barba deben cubrirse. Se deben usar trajes de una o dos piezas, cerrados en las muñecas y con cuello alto y calzados o cubre calzados apropiados. De la vestimenta empleada no debe prácticamente desprenderse fibra o partícula alguna.

- Grado B - Una cofia debe cubrir totalmente el cabello y, cuando corresponda, la barba; los bordes inferiores de la misma deben meterse dentro del cuello del traje; debe usarse una máscara para evitar que la cara desprenda gotas de sudor; deben usarse guantes de goma o material plástico esterilizados que no estén recubiertos de talco, como también calzados esterilizados o desinfectados; las

botamangas de los pantalones deben meterse dentro de los calzados y los extremos de las mangas deben meterse dentro de los guantes. De la vestimenta empleada no debe prácticamente desprenderse fibra o partícula alguna y debe retener toda partícula que se desprenda del cuerpo.

17.14 A cada empleado de la sala de grado B se le debe suministrar vestimenta protectora limpia y esterilizada para cada sesión de trabajo, o al menos una vez al día si los resultados del control lo justifican. Los guantes deben desinfectarse regularmente durante las operaciones y las máscaras y los guantes deben cambiarse para cada sesión de trabajo, como mínimo. Es posible que sea necesario utilizar ropas descartables.

17.15 La limpieza y el lavado de las ropas utilizadas en las áreas limpias deben efectuarse de tal forma que no se les adhieran partículas contaminantes que posteriormente puedan desprenderse de las mismas. Es conveniente contar con instalaciones separadas para dichas ropas. Si las ropas se deterioran debido a la limpieza o lavado inadecuados, puede aumentar el riesgo de que de ellas se desprendan partículas. Las operaciones de lavado y esterilización deben efectuarse de conformidad con procedimientos operativos normalizados.

INSTALACIONES

17.16 De ser posible, todas las instalaciones deben diseñarse de tal forma que se evite el ingreso innecesario de personal de supervisión o control. El diseño de las áreas de grado B debe permitir que todas las operaciones puedan ser observadas desde el exterior.

17.17 En las áreas limpias, todas las superficies expuestas deben ser lisas, impermeables y sin grietas, para reducir al mínimo el desprendimiento o la acumulación de partículas o microorganismos y permitir la aplicación constante de sustancias limpiadoras y desinfectantes, donde sea apropiado.

17.18 Para reducir la acumulación de polvo y para facilitar la limpieza, no debe haber lugares que no puedan limpiarse y las instalaciones deben tener un mínimo número de repisas, estantes, anaqueles y equipos. Las puertas deben estar

construidas de tal forma que no tengan superficies que no puedan limpiarse; por esta razón son inconvenientes las puertas corredizas.

17.19 En caso de existir cielorrasos falsos, éstos deben cerrarse herméticamente para prevenir la contaminación proveniente del espacio libre.

17.20 En la instalación de tuberías y conductos no deben quedar huecos difíciles de limpiar.

17.21 Siempre que sea posible, se debe evitar la instalación de sumideros y drenajes o bien excluirlos de las áreas donde se efectúan operaciones asépticas. Donde haya necesidad de instalarlos, deben diseñarse, ubicarse y mantenerse de tal manera que se reduzca al mínimo el riesgo de contaminación microbiana; deben contar con sifones efectivos y cierres de aire que sean eficientes y fáciles de limpiar, con el fin de prevenir el reflujos de los líquidos.

17.22 Los vestuarios deben estar diseñados como esclusas de aire, para separar las diferentes etapas del cambio de ropa, con miras a reducir al mínimo posible la contaminación de las ropas de protección con microorganismos y partículas. Dichas habitaciones deben limpiarse eficientemente con aire filtrado. A veces es conveniente contar con vestuarios independientes para la entrada y para la salida de las áreas limpias. Las instalaciones para el lavado de las manos deben estar ubicadas solamente en los vestuarios, nunca en los lugares donde se efectúan trabajos asépticos.

17.23 Las esclusas de aire no deben abrirse simultáneamente. Se debe contar con un sistema de cierre interbloqueado y con un sistema de alarma visual y/o auditivo para prevenir la apertura de más de una puerta a la vez.

EQUIPOS

17.24 Una entrada de aire filtrado debe barrer eficazmente el área y crear en todas las condiciones de trabajo, una presión positiva respecto de todas las áreas adyacentes. Además, se debe prestar especial atención a la protección de la zona de mayor riesgo, es decir, al ambiente inmediato, al cual están expuestos y con el cual toman contacto

los productos y los componentes limpios. Es posible que las recomendaciones concernientes al suministro de aire y a las diferencias de presión tengan que ser modificadas, en caso de que sea necesario albergar materiales tales como productos patogénicos, muy tóxico, radioactivos, o virus o bacterias vivos. Para algunas operaciones tal vez sea preciso contar con instalaciones de descontaminación y de tratamiento del aire que sale de un área limpia.

17.25 Debe demostrarse que los patrones de corriente de aire no presenten riesgo de contaminación; así, por ejemplo, se debe tener especial cuidado para asegurar que las corrientes de aire no distribuyan partículas, provenientes de personas, máquinas u operaciones, hacia un área de mayor riesgo para los productos.

17.26 Debe instalarse un sistema de advertencia que indique cuando existe una falla en el suministro de aire. Entre una y otra área, donde la diferencia de presión de aire es importante, debe instalarse un indicador de presión y las diferencias deben registrarse regularmente.

17.27 Debe tenerse en cuenta la posibilidad de restringir el acceso innecesario a las áreas de llenado, como por ejemplo las zonas de llenado de grado A, donde podrían colocarse barreras para el efecto.

17.28 No debe permitirse que una cinta transportadora pase a través de una división colocada entre un área de grado B y un área de procesamiento de menor grado de limpieza de aire, a menos que dicha cinta se someta a esterilización continua (en un túnel de esterilización, por ejemplo).

17.29 De ser posible, para el procesamiento de productos estériles deben escogerse equipos que puedan ser eficientemente esterilizados por medio de vapor, calor seco u otros métodos.

17.30 Siempre que sea posible, el montaje y el mantenimiento de los equipos debe realizarse de tal manera que las operaciones de puedan llevarse a cabo fuera del área estéril. Si los equipos necesitan ser esterilizados esto debe llevarse a cabo después del armado completo, si es posible.

17.31 Cuando el mantenimiento de los equipos se efectúa dentro de un área estéril, deben emplearse instrumentos y herramientas estériles y el área debe ser esterilizada y desinfectada, cuando sea apropiado, antes de volver a iniciar el proceso, en caso de que no se hayan mantenido las condiciones de esterilidad y/o asepsia durante el trabajo de mantenimiento.

17.32 Todos los equipos, incluyendo esterilizadores, sistemas de filtración de aire y sistema de tratamiento de agua, incluso destiladores, deben ser sometidos a un plan de mantenimiento y validación; debe registrarse la autorización de uso otorgada después del mantenimiento de los mismos.

17.33 Las plantas de tratamiento de agua deben ser diseñadas, construidas y mantenidas de tal forma que se asegure la producción confiable de agua de calidad apropiada. En su funcionamiento dichas plantas no deben exceder la capacidad para la cual fueron diseñadas. En la producción, almacenamiento y distribución se debe procurar impedir el crecimiento microbiano, recurriendo a una circulación constante de 80° o a no más de 4°, por ejemplo.

SANEAMIENTO

17.34 Es sumamente importante el saneamiento de las áreas limpias. Deben limpiarse en forma completa, frecuentemente, y de conformidad con un plan escrito aprobado por el departamento de control de calidad. En caso de que se empleen desinfectantes, debe usarse más de un tipo, cambiándolos periódicamente. Deben efectuarse controles periódicos a fin de detectar cepas de microorganismos resistentes. En vista de su limitada eficacia, la luz ultravioleta no debe usarse en sustitución de la desinfección química.

17.35 Los desinfectantes y detergentes deben controlarse para detectar su posible contaminación microbiana, las diluciones deben mantenerse en recipientes limpios y no deben ser guardadas por mucho tiempo a no ser que hayan sido esterilizadas. Si un recipiente está parcialmente vacío no debe rellenarse.-

17.36 La fumigación de las áreas limpias puede ser útil para reducir la

contaminación microbiológica en los lugares inaccesibles.

17.37 Durante las operaciones, las áreas limpias deben controlarse a intervalos preestablecidos, mediante el recuento microbiano del aire y de las superficies; cuando se llevan a cabo operaciones asépticas, dicho control debe ser suficientemente frecuente como para asegurar que el ambiente esté dentro de las especificaciones. Deben tenerse en cuenta los resultados del control en la evaluación de los lotes para su posterior autorización. Se debe controlar también regularmente la calidad del aire con respecto al contenido de partículas. A veces es conveniente efectuar controles adicionales, aun cuando no se efectúen operaciones de producción, como por ejemplo después de la validación de los sistemas, de la limpieza y de la fumigación.

PROCESO

17.38 Durante todas las etapas del proceso deben adoptarse precauciones para reducir al mínimo la contaminación, incluso durante las etapas anteriores a la esterilización.

17.39 No deben fabricarse preparaciones que contengan microorganismos vivos en áreas usadas para el procesamiento de otros productos farmacéuticos, ni tampoco efectuarse el llenado de recipientes con dichas preparaciones; sin embargo, puede efectuarse el llenado de recipientes con vacunas de organismos inactivados o de extractos bacterianos en el mismo recinto que otros productos farmacéuticos estériles, siempre que la inactivación haya sido comprobada y se hayan efectuado procedimientos validados de limpieza.

17.40 El empleo de medios nutritivos que estimulan el crecimiento microbiano en ensayos destinados a simular las operaciones asépticas (llenado con medios estériles) constituye un factor comprobación general de un proceso aséptico. Tales ensayos deben reunir las siguientes características:

a) Deben simular lo más fielmente posible operaciones reales, teniendo en cuenta factores tales como la complejidad de las operaciones, el número de

empleados que están trabajando y el tiempo de duración;

b) Debe ser posible que en el (los) medio(s) seleccionado(s) se pueda cultivar un amplio espectro de microorganismos, incluyendo aquellos que se esperaría encontrar en un ambiente donde se efectúa el llenado;

c) Deben incluir un número suficiente de unidades de producción para que se tenga un alto grado de seguridad de que puedan ser detectados niveles bajos de contaminación.

Se recomienda la inclusión de un mínimo de 3000 unidades de producción en cada llenado con medios estériles. Se debe procurar llegar al nivel cero de crecimiento, debiendo ser considerada inaceptable cualquier cifra superior a 0,1% de unidades contaminadas. Toda contaminación debe ser investigada. Los llenados con medios estériles deben repetirse a intervalos regulares y siempre que tenga que efectuarse una validación como resultado de alguna alteración significativa en la producción, instalaciones, equipos u operaciones de procesado.

17.41 Se debe cuidar de que las validaciones no incidan negativamente en el proceso.

17.42 Deben controlarse regularmente las fuentes de provisión de agua, los equipos de tratamiento de agua y el agua tratada, para verificar si existen sustancias químicas, contaminación biológica, o contaminación con endotoxinas, con el fin de asegurar, antes de usarla, que el agua cumple con las especificaciones correspondientes al uso que se le quiere dar. Deben mantenerse registros de los resultados obtenidos y de las medidas adoptadas.

17.43 Las actividades efectuadas en áreas estériles deben reducirse al mínimo, especialmente cuando se están efectuando operaciones asépticas y el movimiento de personal debe ser metódico y controlado, con el fin de evitar el excesivo desprendimiento de partículas y microorganismos. Debido a la naturaleza de la vestimenta empleada, la temperatura y la humedad del ambiente no deben ser tan altas que causen incomodidad.

17.44 Es preciso reducir al mínimo la contaminación microbiológica de las

materias primas y la carga biológica debe ser verificada antes de la esterilización. En las especificaciones se deben incluir normas de calidad microbiológica, cuando los resultados de las operaciones de control así lo aconsejan.

17.45 La presencia de recipientes y materiales que pueden desprender fibras debe reducirse al mínimo en las áreas estériles y evitarse completamente cuando se está efectuando un trabajo aséptico.

17.46 Después del proceso final de esterilización, el manejo de los componentes, recipientes de productos a granel y equipos debe efectuarse de tal forma que no se contaminen nuevamente. Debe identificarse debidamente la etapa del procesado de componentes, recipientes de productos a granel y equipos.

17.47 El intervalo entre el lavado y el secado y la esterilización de los componentes, recipientes de productos a granel y otros equipos, como también el intervalo entre la esterilización y el uso, deben ser lo más breves posibles y estar sometidos a un límite de tiempo acorde con las condiciones de almacenamiento.

17.48 El tiempo transcurrido entre el inicio de la preparación de una solución y su esterilización o filtración a través de filtros retenedores de bacterias debe ser lo más breve posible. Debe establecerse un tiempo máximo aceptable para cada producto, teniendo en cuenta su composición y el método de almacenamiento recomendado.

17.49 Todo gas utilizado para purgar una solución o un envase debe pasarse a través de un filtro esterilizador.

17.50 La contaminación microbiológica de los productos (carga biológica) debe ser mínima antes de la esterilización. Debe establecerse el límite funcional al que puede llegar la contaminación inmediatamente después de la esterilización, el cual debe estar relacionado con la eficiencia del método a ser empleado y con el riesgo de sustancias pirogénicas. Todas las soluciones, especialmente las parenterales de gran volumen, deben pasar por un filtro que retiene microorganismos, de ser posible inmediatamente antes del proceso de llenado. Cuando se trata de soluciones acuosas en recipientes cerrados

herméticamente, los orificios compensadores de presión deben estar protegidos, por ejemplo, con filtros esterilizadores hidrofóbicos.

17.51 Todos los componentes, recipientes de productos a granel y cualquier otro artículo que sea necesario en las áreas estériles donde se efectúan trabajos asépticos se deben esterilizar y, de ser posible, introducir a dichas áreas a través de esterilizadores de dos puntas embutidos en la pared. En algunas circunstancias podrían ser aceptables otros procedimientos que dan los mismos resultados en lo que respecta a impedir la contaminación (el envoltorio triple, por ejemplo).

17.52 Debe validarse la eficacia de cualquier sistema de procesamiento nuevo y esa validación debe repetirse a intervalos regulares, y especialmente cuando se ha hecho un cambio importante en el procesado o en los equipos utilizados.

ESTERILIZACION

17.53 Se puede efectuar la esterilización por medio del calor húmedo o seco, del óxido de etileno (u otro agente esterilizante gaseoso apropiado), por filtración y el subsiguiente llenado aséptico de los recipientes finales estériles o por irradiación con radiación ionizante (pero no con radiación ultravioleta, a menos que este procedimiento haya sido totalmente validado). Cada método tiene sus aplicaciones y limitaciones particulares. De ser posible y conveniente, el método de elección debe ser la esterilización térmica.

17.54 Todos los procedimientos de esterilización deben ser validados. Se debe prestar especial atención cuando el método de esterilización adoptado se emplea con una preparación que no sea una simple solución acuosa o aceitosa. En todos los casos, el método de esterilización debe estar de acuerdo con la respectiva autorización de fabricación y comercialización.

17.55 Antes de aprobar un método de esterilización, debe demostrarse que es adecuado para el producto en cuestión y que es eficaz para alcanzar los niveles de esterilización deseados en todas las partes de cada tipo de carga a ser procesada.

Este trabajo de verificación debe repetirse a intervalos preestablecidos, o anualmente como mínimo, y también cuando se han introducido modificaciones importantes en los equipos. Asimismo, deben mantenerse registros de los resultados obtenidos.

17.56 Los indicadores biológicos deben ser considerados solamente como factores adicionales para el control de la esterilización. En caso de que se utilicen, deben tomarse precauciones estrictas para evitar que sean causa de contaminación microbiana.

17.57 Se debe contar con un medio inequívoco de distinguir los productos que han sido esterilizados de los que no lo han sido. Cada canasta, bandeja, u otro tipo de transportador debe ser claramente rotulado con el nombre del material, el número de lote y una indicación de si ha sido o no esterilizado. Pueden usarse indicadores tales como cinta de autoclave, cuando sea apropiado, para indicar si un lote ha sido sometido o no a un proceso de esterilización, pero este sistema no proporciona una indicación confiable de que un lote es, en realidad, estéril.

Esterilización térmica -

17.58 Cada ciclo de esterilización térmica debe ser registrado mediante equipos apropiados, y con la debida precisión, como por ejemplo, en una tabla de tiempo/temperatura con una escala de tamaño adecuado. La temperatura debe registrarse mediante una sonda colocada en el punto más frío de la carga o de la cámara cargada, habiéndose determinado este punto durante la validación; preferiblemente la temperatura debe ser verificada, comparándola con otra temperatura tomada mediante otra sonda independiente colocada en la misma posición. La mencionada tabla de tiempo/temperatura, o bien una fotocopia de la misma, debe formar parte del registro del lote. Pueden emplearse también indicadores químicos o biológicos, pero éstos no deben reemplazar a los controles efectuados por medios físicos.

17.59 Se debe dejar transcurrir suficiente tiempo para que toda la carga alcance la temperatura requerida antes de empezar a medir el tiempo de

esterilización. Para cada tipo de carga debe determinarse dicho tiempo.

17.60 Luego de la etapa de alta temperatura de un ciclo de esterilización térmica, se deben tomar precauciones para evitar que una carga esterilizada se contamine durante el enfriamiento.

Esterilización con calor húmedo -

17.61 La esterilización con calor húmedo es apropiada solamente para materiales que pueden mojarse con agua y para soluciones acuosas. Para controlar este proceso deben tenerse en cuenta tanto la temperatura como la presión. Normalmente el instrumento que registra la temperatura debe ser independiente del utilizado para el control y se debe utilizar un indicador de temperatura también independiente, cuya lectura debe compararse regularmente con el registrador de la tabla durante el período de esterilización. Si se trata de esterilizadores que tienen un drenaje en el fondo de la cámara, tal vez sea necesario registrar también la temperatura en esta posición, durante todo el período de esterilización. Cuando forma parte del ciclo una fase al vacío, entonces deben efectuarse controles regulares para verificar si la cámara tiene pérdidas.

17.62 Los productos a ser esterilizados, siempre que no se trate de recipientes herméticamente cerrados, deben envolverse en un material que permita la eliminación del aire y la penetración de vapor, pero que impida la recontaminación después de la esterilización. Todas las partes de la carga deben estar en contacto con el agua o el vapor saturado a la temperatura requerida y por el tiempo requerido.

17.63 Se debe asegurar que el vapor empleado en la esterilización sea de la calidad adecuada y que no contenga aditivos en un nivel tal que puedan ser causa de contaminación del producto o de los equipos.

Esterilización con calor seco -

17.64 Cuando se emplea el proceso de esterilización con calor seco, el aire debe circular dentro de la cámara, manteniéndose una presión positiva para impedir la entrada de aire no estéril. El aire suministrado debe ser pasado por un

filtro que retenga microorganismos. Si el proceso de esterilización con calor seco tiene por objeto también la eliminación de pirógenos, como parte de la validación deberán efectuarse pruebas de desafío empleando endotoxinas.

Esterilización por radiación -

17.65 La esterilización por radiación se usa principalmente para la esterilización de materiales y productos sensibles al calor. Debido a que muchos productos farmacéuticos y materiales de envasado son sensibles a la radiación, se permite emplear este método cuando la ausencia de efectos nocivos sobre el producto ha sido confirmada experimentalmente. La radiación ultravioleta no es un método aceptable de esterilización terminal.

17.66 Si la esterilización por radiación se encarga a un contratista independiente, el fabricante es responsable de asegurar que se cumplan las normas de la *Sección 17.65*, y que el proceso de esterilización sea validado. Deben especificarse las responsabilidades del operador de la planta de radiación (de emplear la dosis correcta, por ejemplo).

17.67 La dosis de radiación debe ser medida durante el procedimiento de radiación. Con este fin, se deben emplear dosímetros que sean independientes de la tasa de radiación, que indiquen una medida cuantitativa de la dosis recibida por el producto mismo. Los dosímetros deben insertarse en la carga en número adecuado y suficientemente cercanos unos a otros para asegurar que haya un dosímetro en la cámara en todo momento. Cuando se trata de dosímetros plásticos, deben emplearse dentro del tiempo límite después de su calibración. Deben verificarse las absorbancias del dosímetro poco después de su exposición a la radiación. Los indicadores biológicos pueden emplearse solamente como un control adicional. Los discos de colores sensibles a la radiación pueden usarse para distinguir entre los envases que han sido sometidos a la radiación y aquellos que no; dichos discos no son indicadores de una esterilización adecuada. La información obtenida debe formar parte del registro del lote.

17.68 En los procedimientos de validación se debe asegurar que se tengan en cuenta debidamente los efectos de las variaciones en la densidad de los envases.

17.69 Los materiales deben manipularse de tal forma que se evite la confusión entre los materiales que han sido irradiados y los que no. Cada recipiente debe contar con un sensor de radiación que indique que ha sido sometido al tratamiento con radiación.

17.70 La dosis total de radiación debe administrarse dentro de un lapso preestablecido.

Esterilización por óxido de etileno -

17.71 Diversos gases y productos fumigantes pueden emplearse para la esterilización. El óxido de etileno debe utilizarse únicamente cuando ningún otro método es viable. Durante el procedimiento de validación debe demostrarse que el gas no produce ningún efecto nocivo para el producto y que las condiciones y el tiempo asignado a la desgasificación son suficientes para reducir el gas residual y los productos de reacción hasta límites aceptables definidos para el tipo de producto o material. Dichos límites deben ser incorporados a las especificaciones.

17.72 Es esencial el contacto entre el gas y los microorganismos; deben tomarse precauciones para evitar la presencia de organismos que puedan estar ocluidos en materiales tales como cristales o proteína seca. La naturaleza y cantidad de los materiales de envasado pueden influir significativamente en el proceso.

17.73 Antes de su exposición al gas, debe establecerse un equilibrio entre los materiales y la humedad y temperatura requeridas por el proceso. El tiempo empleado en esta operación debe considerarse en relación con la necesidad de reducir al mínimo posible el tiempo transcurrido antes de la esterilización.

17.74 Cada ciclo de esterilización debe ser controlado mediante indicadores biológicos, utilizando un número adecuado de unidades distribuidas en toda la carga. La información obtenida por este medio debe integrar el registro del lote.

17.75 Los indicadores biológicos deben ser almacenados y usados de

conformidad con las instrucciones del fabricante y su desempeño debe ser verificado mediante controles positivos.

17.76 Para cada ciclo de esterilización deben mantenerse registros del tiempo empleado para completar el ciclo, de la presión, de la temperatura y de la humedad dentro de la cámara durante el proceso, como también de la concentración del gas. La presión y la temperatura deben registrarse en una tabla durante todo el ciclo. Estos datos deben formar parte del registro del lote.

17.77 Después de la esterilización, la carga debe ser almacenada en forma controlada y con la debida ventilación, para permitir que el gas residual y los productos de reacción disminuyan hasta el nivel definido. Este proceso debe validarse.

FILTRACION DE PRODUCTOS FARMACEUTICOS QUE NO PUEDEN SER ESTERILIZADOS EN SU ENVASE FINAL

17.78 Siempre que sea posible, los productos deben ser esterilizados en el envase final, preferiblemente por esterilización térmica. Ciertas soluciones y líquidos que no pueden ser esterilizados en el envase final, pueden ser filtrados a través de un filtro estéril con poros de tamaño nominal de 0,22 mm (o menos), o de uno que tenga características equivalentes de retención de microorganismos, y cargados en envases previamente esterilizados. Mediante tales filtros pueden eliminarse bacterias y hongos, pero no todos los virus y micoplasmas. Se debe tener en cuenta la posibilidad de complementar el proceso de filtración con algún grado de tratamiento térmico.

17.79 Debido a los potenciales riesgos adicionales que podría significar el empleo del método de filtración, a diferencia de otros métodos de esterilización; sería aconsejable emplear un filtro de doble capa de filtración o efectuar una segunda filtración con otro filtro que retenga microorganismos, inmediatamente antes del llenado. La filtración final esterilizante debe llevarse a cabo lo más cerca posible al punto de llenado.

17.80 No deben emplearse filtros que desprenden fibras. El uso de filtros que

contienen asbestos debe descartarse totalmente.

17.81 Debe controlarse la integridad del filtro empleando un método apropiado, tal como la prueba de punto de burbujeo, inmediatamente después de cada uso (también sería conveniente verificar el filtro de esta manera antes del uso). El tiempo requerido para filtrar un volumen conocido de solución a granel y la diferencia de presión a ser empleada a lo largo de la filtración deben determinarse durante la validación y si existen diferencias significativas, éstas deben consignarse en el registro del lote.

17.82 No debe usarse el mismo filtro durante más de un día de trabajo, a menos que se compruebe la inocuidad del uso adicional.

17.83 El filtro debe ser de naturaleza tal que no afecte al producto adsorbiendo alguno de sus ingredientes o cediendo sustancias.

ACABADO DE PRODUCTOS ESTERILES

17.84 Los recipientes deben ser cerrados mediante métodos debidamente validados. Se debe verificar la integridad de algunas muestras empleando procedimientos adecuados.

17.85 Los recipientes cerrados herméticamente al vacío deben verificarse mediante el control de muestras de los mismos, para establecer si el vacío se ha mantenido después de transcurrido un tiempo predeterminado.

17.86 Los envases de productos parenterales llenos deben inspeccionarse individualmente. Si la inspección es visual, debe efectuarse bajo condiciones adecuadas y controladas de iluminación. Los inspectores deben someterse a controles regulares de vista, con anteojos puestos si los usan normalmente, y durante las inspecciones deben tener descansos frecuentes. Si se utilizan otros métodos de inspección éstos deben validarse y los aparatos empleados deben ser controlados a intervalos regulares.

CONTROL DE CALIDAD

17.87 En la prueba de esterilidad deben incluirse no sólo muestras representativas de todo el lote, sino también muestras tomadas de las partes del lote consideradas como más expuestas

al riesgo de contaminación, como por ejemplo:

a. en el caso de productos que han sido llenados asépticamente, entre las muestras se deben incluir las provenientes de envases llenados al inicio y al final del lote y luego de alguna interrupción importante del trabajo;

b. si se trata de productos que han sido esterilizados en sus envases finales, deben obtenerse muestras de la parte que potencialmente sea la más fría de la carga.

17.88 La prueba de esterilidad a la que se somete el producto terminado debe ser considerada sólo como la última de una serie de medidas de control mediante las cuales se asegura la esterilidad, y sólo puede interpretarse como parte de un conjunto que incluya los registros de las condiciones ambientales y el procesado de los lotes.

17.89 Los lotes que no pasan la prueba de esterilidad no pueden ser aprobados sobre la base de una segunda prueba, a menos que se lleve a cabo una investigación del tipo de organismo encontrado y de los registros sobre las condiciones ambientales y el procesado de los lotes y como resultado de la misma se demuestre que la prueba original no era válida.

17.90 Cuando se trata de productos inyectables, se debe considerar el control del agua y de los productos semielaborados y terminados para verificar si no contienen endotoxinas, empleando el método establecido por la Farmacopea Argentina. Para las soluciones de infusión de gran volumen, el control del agua o de los productos semielaborados debe efectuarse en todos los casos, además las pruebas exigidas para obtener la autorización de comercialización del producto terminado. Cuando una muestra no pasa la prueba, debe investigarse la causa y adoptarse las medidas correctivas necesarias.

18 - Buenas prácticas de fabricación para farmoquímicos

EXPLICACION - Debido a que existen diferencias fundamentales entre la producción de farmoquímicos y la formulación de productos farmacéuticos, no siempre es conveniente ni necesaria la estricta aplicación de las BPF, como se

indica en la parte principal de esta norma. Las presentes normas complementarias describen los procedimientos y prácticas que los fabricantes deben poner en práctica para asegurar que los métodos, instalaciones y controles empleados en la producción de farmoquímicos sean operados o manejados de tal forma que los productos posean la calidad y la pureza apropiadas para su uso en los productos farmacéuticos terminados.

GENERALIDADES

18.1 Para asegurar la calidad en la fabricación de los farmoquímicos, es esencial el control general de las operaciones. No puede permitirse el descuido en la fabricación de sustancias que pueden emplearse para salvar vidas, restaurar o promover la salud.

18.2 Más adelante se detallan las prácticas recomendadas para la fabricación de farmoquímicos. La observación de esas prácticas, que complementan las pruebas de control efectuadas desde el inicio hasta el final del ciclo de producción, contribuirán sustancialmente a la producción permanente de lotes uniformes de ingredientes farmacéuticos activos de alta calidad.

18.3 El fabricante tiene la obligación de asumir la responsabilidad por la calidad de los farmoquímicos que produce. Solamente el fabricante puede evitar errores y prevenir contratiempos mediante la imposición del cuidado necesario tanto en el proceso de producción como en los procedimientos de control. El fabricante debe ofrecer pruebas fehacientes de haber cumplido con las BPF, a partir de la etapa en que el proceso o los materiales de partida empleados influyen de manera significativa en la calidad del ingrediente farmacéutico en cuestión. Este paso debe determinarse en cada caso individual mediante un acuerdo entre la autoridad sanitaria y el fabricante.

18.4 Las prácticas adecuadas descritas más adelante deben ser tomadas como orientaciones generales. Siempre que sea necesario, pueden modificarse para adaptarlas a las necesidades individuales, toda vez que se logren los patrones de calidad

establecidos para los farmoquímicos. La intención es que dichas prácticas adecuadas se apliquen a los procesos de fabricación (incluyendo el envasado y el rotulado) empleados en la producción de farmoquímicos.

18.5 Existen casos en que varias compañías colaboran en la producción de un farmoquímico (incluyendo el envasado y el rotulado). Puede ocurrir también que un farmoquímico, envasado y rotulado sea reenvasado y/o rerotulado y designado con un nuevo nombre. Dado que tales procedimientos constituyen parte de una operación de fabricación, deben someterse a las normas pertinentes descritas a continuación.

18.6 El objetivo de las prácticas descritas a continuación es que sean aplicadas a los ingredientes farmacéuticos activos tanto para preparaciones de uso humano como veterinario.

PERSONAL

18.7 Cada compañía debe contratar personal que posea las calificaciones y la competencia apropiadas para la producción y control de calidad de los ingredientes farmacéuticos activos. Cada una debe contar con el número adecuado de empleados que posean la educación, los conocimientos técnicos y la experiencia práctica para llevar a cabo la tarea que les corresponda.

18.8 Cada compañía debe poseer una organización bien definida que esté representada en un organigrama. Las responsabilidades de cada empleado deben estar asentadas por escrito para asegurar que no existan superposiciones o actividades sin un responsable. Las responsabilidades asignadas a un sola persona no deben ser tan vastas como para poner en peligro la calidad del producto.

18.9 El personal de todos los niveles debe estar adecuadamente capacitado para llevar a cabo las tareas y responsabilidades que se le asigna.

18.10 Deben adoptarse medidas para asegurar que ninguna persona afectada por una enfermedad contagiosa o que tenga lesiones abiertas en las partes expuestas del cuerpo esté involucrada en alguna etapa de la producción en la que esté en contacto directo con los

ingredientes farmacéuticos que se elaboran.

INSTALACIONES

18.11 Todas las instalaciones, incluyendo las áreas que contengan tanques abiertos, deben estar construidas apropiadamente. Así mismo deben ofrecer un ambiente adecuado para efectuar las operaciones de producción y ser suficientemente amplias y aptas para el uso a que están destinadas. Las instalaciones no deben constituir factores que contribuyan a la confusión o contaminación real o potencial de los farmoquímicos. Además, deben estar planificadas de tal forma que permitan un ordenamiento lógico de las operaciones.

18.12 Para fines especiales, tal como la fabricación de productos estériles y de ciertos antibióticos, hormonas y sustancias citostáticas, la compañía debe contar con áreas separadas, diseñadas específicamente, cerradas y dotadas de sistemas independientes de provisión de aire.

18.13 A fin de mantener condiciones laborales higiénicas, la compañía debe ofrecer instalaciones apropiadas para el cambio de vestimenta, aseo personal y baños, como también lugares especiales para comer, beber y fumar.

EQUIPOS

18.14 El diseño, construcción, ubicación y mantenimiento de los equipos destinados a la fabricación de productos deben realizarse de tal forma que dichos equipos:

- a) Sean apropiados para el uso a que están destinados;
- b) Puedan limpiarse debidamente sin dificultad;
- c) Faciliten la reducción al mínimo del riesgo de contaminación de productos y envases durante el proceso de producción;
- d) Permitan una operación eficiente y, si corresponde, validada y confiable.

18.15 Los equipos destinados a la producción y a la realización de pruebas deben limpiarse, esterilizarse en caso necesario, usarse y mantenerse de conformidad con instrucciones específicas consignadas por escrito. Los equipos de uso múltiple deben ser sometidos a limpieza e inspección de

limpieza antes de iniciar la fabricación de otro producto. Deben mantenerse registros de tales procedimientos.

18.16 De ser necesario, debe verificarse de antemano que los equipos destinados a la producción y a la realización de pruebas son aptos para estos fines.

18.17 En caso necesario se debe contar con equipos de control del proceso de producción. Los equipos destinados a la medición, registro y control deben calibrarse y verificarse a intervalos regulares y empleando métodos adecuados. Deben mantenerse registros adecuados de estas operaciones.

18.18 Los equipos defectuosos deben marcarse inmediatamente con etiquetas alusivas y repararse o retirarse lo más pronto posible. Las operaciones de mantenimiento técnico y reparación deben documentarse debidamente.

SANEAMIENTO

18.19 Se debe contar con programas escritos de saneamiento. Estos deben incluir procedimientos validados de limpieza de las instalaciones y los equipos, normas de calidad para el agua, instrucciones referentes a la higiene en la fabricación y manipulación de productos, e instrucciones relacionadas con la salud, prácticas higiénicas, vestimenta del personal y procedimientos de disposición de materiales desechados y residuos no utilizables.

18.20 Dichos programas deben ser puestos en práctica, como asimismo ponerse a conocimiento del personal involucrado y destacarse su importancia en las sesiones de capacitación.

18.21 Las personas deben usar ropas de protección y otros artículos de protección apropiados para las operaciones respectivas.

18.22 En las áreas donde se efectúan las operaciones de producción no se debe permitir comer, fumar, ni desarrollar actividades antihigiénicas.

DOCUMENTACION

Fórmulas maestras -

18.23 Es necesario contar con instrucciones escritas acerca de cada una de las etapas de fabricación, almacenamiento y control de calidad de

los productos. Dichas instrucciones deben ser actualizadas en la medida que sea necesario.

18.24 Se debe preparar una fórmula maestra, con instrucciones escritas relacionadas con las materias primas y los materiales de envasado (con referencia a la calidad y a la cantidad), como también detalles acerca de los procedimientos de fabricación y control de calidad para cada farmoquímico. De ser posible, la fórmula maestra debe prepararse para los tamaños de lotes normalizados.

18.25 El contenido y la distribución de las instrucciones y de las fórmulas maestras dentro de la compañía deben estar a cargo de personas competentes que posean suficiente experiencia en la producción y el control de calidad. Tanto las instrucciones como las fórmulas maestras deben estar debidamente firmadas y fechadas.

18.26 Las fórmulas maestras desactualizadas deben ser retiradas y guardadas para referencia. Deben prepararse copias de las fórmulas maestras, de tal forma que se elimine la posibilidad de error en la transcripción.

18.27 En algunas circunstancias, como por ejemplo en los primeros lotes de producción, tal vez no sea necesario modificar la fórmula maestra. Cualquier modificación debe ser autorizada y firmada por la persona autorizada. El documento modificado debe ser reemplazado lo antes posible por una nueva fórmula maestra.

Documentación de los lotes -

18.28 Durante la producción de cada lote de productos semielaborados y de ingredientes farmacéuticos activos debe completarse un registro de fabricación. El registro debe contener las partes pertinentes de la fórmula maestra, e incluir los siguientes datos:

a) El nombre del producto (y la denominación común internacional, si corresponde) o etapa y el tamaño y número de lote;

b) Las fechas de las distintas etapas de producción;

c) Los detalles de la producción, incluso una referencia a los principales equipos utilizados y los rendimientos;

d) El número de lote o el de referencia (o el número del análisis de control), si lo hubiere, de las materias primas empleadas en la producción;

e) Un registro de los controles efectuados durante el proceso y de los resultados obtenidos;

f) Los detalles de cualquier desviación de la fórmula maestra y autorización firmada para la misma (o bien de cualquier desviación no prevista que haya sido sometida a investigación en lo que respecta a la calidad del producto);

g) Información sobre los materiales recuperados y sobre los procedimientos empleados;

h) Las iniciales de los operadores y la firma de la persona responsable de las operaciones de producción y la fecha de la firma;

i) Todos los registros analíticos relacionados con el lote o una referencia que permita obtenerlos;

j) La decisión de autorizar o rechazar el lote en cuestión, con la fecha y la firma de la persona responsable de la decisión;

k) Información sobre el examen de los registros de producción (ver la *Sección 16.15*).

18.29 En caso de que haya sido necesario llevar a cabo la producción y el control bajo contrato, debe incluirse esta información en el registro del lote.

18.30 Toda la información puede ser registrada por medio de sistemas de procesamiento de datos o bien por medios fotográficos u otros medios confiables. Las fórmulas maestras y los procedimientos operativos normalizados relacionados con el sistema deben estar disponibles y debe verificarse la exactitud de los registros. Si la documentación se maneja por sistemas de procesamiento electrónico de datos, solamente las personas autorizadas deben tener la posibilidad de ingresar o modificar datos computarizados y se debe llevar un registro de las modificaciones y supresiones; el acceso a los datos debe estar protegido por códigos u otros medios y el ingreso de datos importantes debe controlarse independientemente. Los datos referentes a los lotes que se registren electrónicamente deben estar protegidos por archivos de seguridad grabados en cinta magnética, microfilme,

impresos u otros medios de protección. Es sumamente importante que, durante el período de retención, sea fácil el acceso a los datos.

ARCHIVO DE REGISTROS Y MUESTRAS DE DEFERENCIA

18.31 Los registros deben mantenerse de tal forma que puedan recuperarse los datos sobre las actividades relacionadas con la producción y el control de calidad de los farmoquímicos.

18.32 Los registros y las muestras de referencia de los ingredientes farmacéuticos activos y, si es necesario, de los productos semielaborados, deben retenerse por lo menos por un año después de la fecha de vencimiento del producto terminado o por un tiempo específico si el producto no tiene fecha de vencimiento.

PRODUCCIÓN

Procedimientos de procesado -

18.33 El proceso debe efectuarse de conformidad con la fórmula maestra.

18.34 Deben definirse los pasos que son de importancia crítica para la calidad de los farmoquímicos y deben comprobarse los procedimientos aplicados.

18.35 El proceso debe ser supervisado y llevado a cabo por personas competentes.

18.36 Durante el proceso, los envases, recipientes y equipos importantes deben ser rotulados en forma inequívoca o identificados con el nombre del producto y el número del lote.

18.37 Además de la documentación relacionada con el lote, debe estar disponible la información concerniente a las actividades diarias de cada departamento involucrado.

Materias primas -

18.38 Una vez recibidas, las materias primas deben ser sometidas a cuarentena y muestreo, examinadas para verificar si se han cumplido las especificaciones establecidas, como también autorizadas o rechazadas, almacenadas, rotuladas y despachadas, todo conforme a instrucciones escritas.

18.39 Es posible que algunos materiales no sean sometidos a las

pruebas de cumplimiento, debido a los peligros que ello involucra (como por ejemplo, el pentacloruro fosforoso y el sulfato de dimetilo). Esto es aceptable cuando se dispone de un certificado de análisis de lote expedido por el vendedor, y cuando hay una razón basada en la seguridad u otras consideraciones válidas.

Productos semielaborados -

18.40 Siempre que sea necesario, los productos semielaborados deben someterse a prueba, de conformidad con las especificaciones correspondientes; además, deben estar visiblemente identificados, rotulados y almacenados.

Farmoquímicos -

18.41 Cada lote terminado de principio activo debe cumplir con las especificaciones establecidas con respecto a la calidad, pureza, identidad y potencia, incluyendo, cuando corresponda, las especificaciones para pruebas y límites de residuos de solventes y otros reactivos.

18.42 En lo que respecta a la producción de farmoquímicos, es posible que la *Sección 17 - Productos farmacéuticos estériles* sea aplicable a aquellas etapas del procedimiento que puedan ejercer una influencia de importancia crítica en los aspectos cualitativos del producto farmacéutico terminado.

Envasado -

18.43 Se debe tener sumo cuidado en la selección de los materiales de envasado para los principios activos. Esos materiales no deben ejercer ninguna influencia negativa sobre las sustancias y deben protegerlas de los factores externos y la contaminación. Se debe contar con especificaciones apropiadas consignadas por escrito.

18.44 En todas las etapas de la producción se debe prestar atención especial a la prevención de errores de envasado. Deben establecerse procedimientos validados para proteger la calidad del producto en la etapa de envasado y para asegurar que se apliquen los rótulos correctos a los envases.

18.45 Los recipientes deben estar marcados en forma visible con los siguientes datos:

- a) El nombre del producto;
- b) Su calidad, si se especifica;
- c) El número del lote;
- d) La fecha de vencimiento o de nueva prueba, si se especifica;
- e) Advertencias, de ser necesario;
- f) Condiciones de almacenamiento, si se especifican;
- g) El nombre del fabricante y el del proveedor.

Control de calidad -

18.46 Cada fabricante debe contar con una unidad independiente de control de calidad. El jefe de dicha unidad depende directamente de la gerencia de la compañía. Las principales atribuciones de la unidad de control de calidad son las siguientes:

- a) Aprobar:
 - I. Las especificaciones y métodos de prueba de las materias primas, productos semielaborados, materiales de envasado y, si corresponde, de los principios activos;
 - II. Los procedimientos de muestreo;
 - III. Las instrucciones referentes al saneamiento y a la higiene;
 - IV. Los métodos de reprocesado de los lotes rechazados o de los materiales recuperados;
 - V. Otras instrucciones referentes a la calidad de los productos.

b) Autorizar o rechazar las materias primas, los farmoquímicos, los materiales de envasado y, de ser necesario, los productos semielaborados;

c) Asegurar que la estabilidad de los ingredientes farmacéuticos activos sea controlada;

d) Investigar los reclamos referentes a la calidad de los farmoquímicos.

18.47 Cada fabricante debe tener acceso a un laboratorio de control de calidad. Este laboratorio debe contar con personal y todos los equipos necesarios para efectuar todas las pruebas de control de calidad requeridas, las cuales deben efectuarse de conformidad con procedimientos escritos validados. Todos los instrumentos deben calibrarse a intervalos adecuados y los reactivos deben ser de calidad apropiada.

18.48 Si las circunstancias exigen el uso de laboratorios independientes, este hecho debe consignarse en los registros de análisis.

Estudios de estabilidad -

18.49 Debe establecerse un programa escrito de prueba de la estabilidad de los ingredientes farmacéuticos activos. Deben emplearse métodos indicadores de la estabilidad.

18.50 Las muestras deben almacenarse en recipientes adecuados y en recipientes comerciales simulados, a temperatura ambiente o a la temperatura recomendada y bajo condiciones exigentes.

18.51 Por lo general no es necesario establecer fechas de vencimiento para los farmoquímicos. Si las pruebas no indican un período razonable de conservación, como por ejemplo dos años o más en las condiciones previstas de almacenamiento, entonces se puede rotular el producto con una fecha arbitraria apropiada de vencimiento, sometiéndolo a una prueba en esa fecha o antes.

Autoinspección y auditorías de calidad -

18.52 Con el fin de cumplir estrictamente con las BPFC, y todos los procedimientos y controles previstos, es recomendable que una compañía designe a un experto o a un grupo de expertos que efectúen regularmente inspecciones independientes de sus procedimientos de producción e inspección. Dichos expertos deben actuar con la mayor independencia posible en su labor de inspección de los procedimientos de producción e inspección.

18.53 Las autoinspecciones y las auditorías deben registrarse (ver la *Sección. 9*).

Almacenamiento -

18.54 Los ingredientes farmacéuticos activos deben almacenarse en las condiciones establecidas por el fabricante sobre la base de estudios de estabilidad.

18.55 Deben mantenerse registros de la distribución de cada lote de un ingrediente farmacéutico activo, con el propósito de facilitar el retiro del lote si

fuere necesario, conforme a procedimientos escritos.

Reclamos y defectos -

18.56 El fabricante debe establecer procedimientos escritos para la atención de los reclamos y defectos relacionados con la calidad de los ingredientes farmacéuticos activos.

18.57 Todas las acciones correspondientes deben adoptarse inmediatamente, como también investigarse a fondo todos los reclamos y registrarse toda la información respectiva.

18.58 El fabricante debe establecer un sistema que contemple la inspección de todos aquellos productos que hayan podido ser objeto de errores o fallas repetidas en los procedimientos de la compañía.

Materiales rechazados -

18.59 El fabricante debe establecer instrucciones por escrito acerca de la forma como deben manejarse los materiales rechazados, sean éstos materias primas, productos semielaborados, materiales de envasado o principios activos. Los materiales rechazados deben ser claramente identificados como tales y almacenados bajo estricto control hasta su eliminación, reprocesamiento, o devolución al proveedor.

1040. ESTUDIOS DE ESTABILIDAD

Los estudios de estabilidad se efectúan para determinar el periodo de tiempo y las condiciones de almacenamiento en las cuales las materias primas y las preparaciones oficiales se mantienen dentro de las especificaciones sobre identidad, potencia, calidad y pureza, establecidas en las monografías de esta Farmacopea.

La estabilidad de los productos farmacéuticos, en su envase primario final, debe ser demostrada mediante el empleo de métodos apropiados. Los procedimientos analíticos empleados deben permitir determinar la sustancia en presencia de sus productos de degradación. Deben considerarse los cambios en sus propiedades físicas a lo largo del tiempo.

La estabilidad de una sustancia o un producto farmacéutico puede verse afectada por las condiciones de almacenamiento (temperatura, luz, aire y humedad), así como por su interacción con el envase. Las condiciones bajo las que se ha fijado la fecha de vencimiento deben figurar en el rótulo.

Estas condiciones de almacenamiento deben mantenerse durante la distribución de la sustancia o producto farmacéutico, es decir desde el momento de la entrega por parte del elaborador hasta la fecha de vencimiento.

El mundo se halla dividido en cuatro *Zonas climáticas*. Los estudios de estabilidad deben orientarse para la región donde serán destinados considerando la zona climática estipulada; nuestro país se encuentra en Zona II.

OBJETIVO

El propósito de un estudio de estabilidad es establecer el periodo de tiempo en el cual las propiedades de las sustancias y/o productos farmacéuticos se mantienen dentro de sus especificaciones bajo la influencia de una variedad de factores ambientales tales como temperatura, humedad y luz, los demás componentes de la formulación y sus envases, permitiendo determinar las condiciones de almacenamiento, periodos de reanálisis y un periodo de vida útil.

DEFINICIONES

Datos primarios de estabilidad - Son los datos analíticos obtenidos de la sustancia o el producto farmacéutico en estudio, almacenado en el envase primario definitivo bajo condiciones de almacenamiento fijadas, que permiten fijar la frecuencia de los controles o el periodo de vida útil propuesto.

Degradación forzada - Estos estudios se llevan a cabo para obtener datos sobre los productos y mecanismos de descomposición de la sustancia y verificar la aptitud de los métodos analíticos propuestos. Su naturaleza depende del tipo de sustancia y producto farmacéutico. Los ensayos pueden realizarse sobre un único lote de material e incluir el efecto de temperaturas superiores a las condiciones elegidas para el estudio acelerado, por ej., en incrementos de 10 °C (50, 60, etc.), el efecto de la humedad (por ej., 75 % o mayor), oxidación y fotólisis y su susceptibilidad a la hidrólisis a distintos valores de pH.

Escala piloto - Procedimiento representativo del que se aplica en escala de producción.

Lote piloto - Lote producido para fines experimentales, generalmente de menor tamaño que el lote de producción. Puede elaborarse para destinarlo a estudios de estabilidad, desarrollo, etc.

Estudio de estabilidad acelerado - Estudio diseñado para aumentar la velocidad de degradación química o cambios en las propiedades físicas de una sustancia o un producto farmacéutico, empleando condiciones de almacenamiento extremas. Estos estudios tienen como objeto determinar los parámetros cinéticos de los procesos de degradación o predecir la vida útil del producto farmacéutico en condiciones normales de almacenamiento. Los resultados de los estudios acelerados deben ser complementados por los estudios de estabilidad de larga duración. Estos datos pueden también emplearse para evaluar efectos químicos a largo plazo en condiciones no aceleradas y para evaluar el impacto de desviaciones de corta duración de las condiciones de almacenamiento declaradas en el rótulo, como las que pueden ocurrir durante el transporte y distribución. Los resultados de estudios acelerados no siempre predicen los cambios físicos.

Estudio de larga duración (en tiempo real) - Estudio diseñado para la evaluación de las características de estabilidad física, química, biológica y microbiológica de un producto farmacéutico o una sustancia bajo las condiciones de almacenamiento recomendadas, que cubre todo el periodo de vida útil o el periodo de reanálisis propuesto.

Fecha de reanálisis - Fecha en que se debe realizar un nuevo análisis para verificar que la sustancia o producto farmacéutico es aún apropiado para su uso.

Fecha de vencimiento - Fecha proporcionada por el elaborador; se basa en los estudios de estabilidad del producto farmacéutico después de la cual el mismo no debe emplearse. El producto debe cumplir durante todo este periodo con las especificaciones dadas en esta Farmacopea.

Zonas climáticas - Se refiere al concepto de dividir al mundo en cuatro zonas para las cuales se definen las condiciones climáticas que prevalecen.

ESTUDIOS DE ESTABILIDAD SOBRE SUSTANCIAS

Procedimientos y criterios - Los ensayos deben cubrir todas las características que puedan modificarse durante el almacenamiento, además de aquéllas que tengan influencia sobre la identidad, potencia, calidad y pureza de la sustancia.

Los estudios de estabilidad deben cubrir las características físicas, químicas y microbiológicas de la sustancia. Deben aplicarse métodos indicadores de estabilidad validados.

Los estudios de estabilidad acelerados se llevan a cabo sobre un lote piloto y, el de larga duración, sobre por lo menos tres lotes pilotos debiendo cubrir un mínimo de 12 meses.

Especificaciones - Los límites de aceptación deben definirse a partir del material empleado en los ensayos preclínicos, clínicos o los utilizados en el desarrollo del producto. Se deben incluir límites máximos individuales y totales para productos de degradación e impurezas.

En la *Tabla* se indican las condiciones de estudios de larga duración, acelerados y tiempos mínimos. En caso de que se exija el estudio de estabilidad de una sustancia, debe presentarse un estudio de larga duración de no menos de doce meses sobre por lo menos tres lotes y se deben tomar, luego de la presentación hecha para el registro, los datos que cubran todo el periodo que se solicita para el reanálisis, para remitirlos a la Autoridad Sanitaria si es que ésta lo solicita. El estudio de estabilidad acelerado es optativo.

Condiciones de almacenamiento durante el estudio - La duración del estudio y las condiciones de almacenamiento deben ser suficientes para cubrir la distribución, almacenamiento y periodo de uso subsiguiente de la sustancia. La aplicación de las mismas condiciones de almacenamiento empleadas para el estudio del producto farmacéutico facilita la evaluación y revisión comparativa de los resultados.

Cuando se producen cambios significativos durante los 6 meses de almacenamiento bajo las condiciones del estudio acelerado, deben realizarse

estudios adicionales en condiciones intermedias (por ej., 30 ± 2 °C / 60 ± 5 % HR). Un cambio significativo a 40 °C / 75 % HR o a 30 °C / 60 % HR se define como la falta de cumplimiento de las especificaciones.

Los datos (de estudios acelerados o en condiciones intermedias) pueden emplearse para evaluar el impacto de las variaciones en las condiciones de almacenamiento declaradas en el rótulo, que pueden producirse durante la distribución y el almacenamiento.

Frecuencia de los ensayos - Para los estudios de larga duración, la frecuencia de ensayo debe ser suficiente para establecer las características de estabilidad de la sustancia. Para estudios de sustancias con un periodo de reanálisis de por lo menos 12 meses, en el ensayo de larga duración se establece un ensayo cada 3 meses durante el primer año, cada 6 meses durante el segundo año y luego anualmente. Se recomienda, para los estudios acelerados de 6 meses, un mínimo de tres puntos que incluyan los puntos inicial y final.

Envases - Los envases que se utilicen en los estudios de estabilidad de larga duración deben ser iguales a los envases a utilizar para la distribución de la sustancia. En el caso de envases de gran capacidad, pueden emplearse envases de las mismas características pero de menor tamaño.

Evaluación - El grado de variabilidad de los lotes individuales compromete las extrapolaciones que deban hacerse sobre los futuros lotes de producción con respecto al cumplimiento de las especificaciones hasta la fecha de reanálisis.

Una aproximación aceptable para los atributos cuantificables, que disminuyen con el tiempo, consiste en determinar el tiempo en el cual el límite inferior del intervalo de confianza ($p = 95$ %) para la curva de degradación media se intercepte con el límite inferior del intervalo de aceptación. Si se trata de una propiedad cuantificable que aumenta con el tiempo, se determina el tiempo al cual el límite superior del intervalo de confianza ($p = 95$ %) para la curva de degradación media se intercepte con el límite superior del intervalo de aceptación. Si el análisis muestra que la variabilidad lote a lote es pequeña, resulta ventajoso combinar los datos en una estimación total; ésto puede realizarse aplicando ensayos estadísticos apropiados. Si no es apropiado combinar datos de varios lotes, el periodo de reanálisis puede determinarse a partir del lote que se mantenga dentro de las especificaciones del tiempo menor.

La naturaleza de las degradaciones determina la necesidad de una transformación de los datos para el

análisis de regresión lineal. Comúnmente, la relación puede ser representada por una función lineal, cuadrática o cúbica sobre una escala aritmética o logarítmica. Es aconsejable emplear métodos estadísticos para ensayar la bondad del ajuste de los datos sobre todos los lotes y lotes combinados (cuando corresponda) de las curvas o rectas obtenidas.

En algunos casos, es posible extrapolar los datos del estudio de larga duración más allá del periodo de observación, para extender el periodo de reanálisis, particularmente cuando los datos del estudio acelerado apoyan esta posibilidad, la bondad del ajuste de cualquier modelo matemático, el tamaño del lote, la existencia de otros datos de estabilidad, el conocimiento del mecanismo de degradación, etc. En estos casos se supone que las características cinéticas de la degradación permanecen invariables más allá de los datos observados, esta circunstancia debe demostrarse al justificar cualquier extrapolación.

Rotulado - En base de la evaluación de la estabilidad de la sustancia, debe establecerse un intervalo de temperaturas de almacenamiento de acuerdo con los requisitos establecidos. Cuando corresponda, deben establecerse requisitos específicos particularmente para sustancias que no admiten el congelamiento.

Como resultado de la información obtenida a partir del estudio de estabilidad, debe indicarse la fecha de reanálisis.

ESTUDIOS DE ESTABILIDAD SOBRE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS

Procedimientos y criterios - El diseño del programa de estabilidad para un producto farmacéutico debe hacerse sobre la base de la información obtenida durante los estudios de preformulación y formulación. Se deben estimar los cambios que pueden ocurrir durante el almacenamiento y sobre esta base seleccionar las variables de la formulación a estudiar durante el ensayo.

La información de estabilidad tanto en los estudios de estabilidad acelerado como en los de larga duración debe obtenerse sobre tres lotes piloto de la misma formulación y concentración en los envases primarios definitivos. Cuando sea posible, los lotes del producto deben elaborarse empleando lotes diferentes de sustancia.

Los ensayos deben cubrir todos los atributos que puedan modificarse durante el almacenamiento y aquéllos que tengan influencia sobre la calidad, seguridad y eficacia. Los procedimientos analíticos deben validarse y ser indicadores de la estabilidad.

La necesidad y el grado de las repeticiones dependen de los resultados de los estudios de validación.

Los ensayos a realizar durante el estudio deben cubrir no solamente la estabilidad química y biológica sino también los cambios en las propiedades físicas y características organolépticas, atributos microbiológicos y ensayos funcionales. Deben determinarse además, el mantenimiento de la concentración y eficacia de los conservantes mediante ensayos y valoraciones apropiadas.

Especificaciones - Los criterios de aceptación del periodo de vida útil deben determinarse considerando toda la información de estabilidad disponible.

Cuando corresponda, se deben incluir los límites máximos para los productos de degradación y para otras determinaciones, por ejemplo límites máximos o mínimos para tamaño de partícula o velocidad de disolución.

En la *Tabla* se indican las condiciones y tiempos mínimos de estudios de larga duración y acelerados. Los estudios de larga duración son obligatorios. Deben tener un mínimo de doce meses de duración para su presentación para el registro aunque deben continuarse hasta cubrir el periodo de vida útil propuesto y quedar a disposición de la Autoridad Sanitaria. El estudio de estabilidad acelerado y los de condición intermedia son optativos, pero pueden emplearse para evaluar el efecto de periodos cortos de no cumplimiento de las condiciones de almacenamiento fijadas (por ej., durante la distribución).

Puede ser necesario aplicar consideraciones especiales para los productos que cambien física o químicamente a bajas temperaturas, por ej., las suspensiones o emulsiones que pueden sedimentar o separarse, los aceites y las preparaciones semisólidas que pueden aumentar su viscosidad. Cuando se emplean bajas temperaturas, el ensayo acelerado de seis meses deberá efectuarse a una temperatura por lo menos 15 °C por encima de la temperatura designada para el estudio de larga duración, junto con condiciones apropiadas de humedad relativa para esa temperatura. Por ej., para un producto que debe ser almacenado bajo refrigeración, el ensayo acelerado deberá realizarse a 25 ± 2 °C / 60 ± 5 % HR.

Condiciones de almacenamiento durante el estudio - La duración del estudio y las condiciones de almacenamiento deben ser suficientes para cubrir la distribución, almacenamiento y periodo de uso subsiguiente (por ej., la reconstitución o la dilución según se indique en el rótulo). En el caso de productos que deben ser reconstituidos para su administración, se deben establecer las condiciones de almacenamiento y las correspondientes fechas de

vencimiento para el producto antes y después de reconstituido.

El almacenamiento bajo condiciones de humedades relativas altas se aplica particularmente a productos farmacéuticos sólidos. Para productos tales como soluciones, suspensiones, etc., contenidos en envases diseñados para proveer una barrera permanente a la pérdida de agua, el almacenamiento específico bajo condiciones de humedad relativa alta no es necesario, pero debe aplicarse el mismo intervalo de temperaturas. La humedad relativa baja (por ej., 10 a 20 % HR) puede afectar adversamente a productos envasados en envases semipermeables (por ej., soluciones en bolsas plásticas, gotas nasales en envases plásticos pequeños, etc.) y debe considerarse la realización del ensayo bajo tales condiciones.

Cuando se producen cambios significativos durante el estudio acelerado, deben realizarse estudios adicionales en condiciones intermedias (por ej., $30 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C} / 60 \pm 5 \text{ \% HR}$). Un cambio significativo en un estudio acelerado puede definirse como:

1. una pérdida del 5 % de potencia del valor inicial de valoración de un lote;
2. cualquier producto de degradación que exceda los límites establecidos;
3. el producto excede sus límites de pH;
4. los resultados del ensayo de disolución están fuera de los límites especificados;
5. el producto no cumple con las especificaciones de apariencia y propiedades físicas como color, se produce separación de fases, suspendibilidad, dureza, etc.

Frecuencia de los ensayos - La frecuencia de los ensayos debe ser suficiente para establecer las características de estabilidad del producto.

Para estudios de larga duración, se establece un ensayo cada 3 meses durante el primer año, cada 6 meses durante el segundo año y luego anualmente. Los estudios acelerados deben ensayarse en un mínimo de tres tiempos, incluyendo los puntos iniciales y finales.

Envases - El estudio debe efectuarse en el envase primario definitivo.

Evaluación - Debe adoptarse un enfoque sistemático para la presentación y la evaluación de la información de estabilidad que debe cubrir, según corresponda, características físicas, químicas, biológicas y microbiológicas, incluyendo propiedades particulares del producto farmacéutico (por ej. velocidad de disolución para las formas sólidas de uso oral).

El grado de variabilidad de los lotes individuales compromete en cierta medida las extrapolaciones que deban hacerse sobre los futuros lotes de producción con respecto al cumplimiento de las especificaciones hasta la fecha de vencimiento.

Un enfoque aceptable para los atributos cuantificables que se supone deben disminuir con el tiempo, consiste en determinar el tiempo al cual el límite inferior del intervalo de confianza ($p = 95 \text{ \%}$) para la curva de degradación media intercepte el límite inferior del intervalo de aceptación. Para los atributos que aumentan con el tiempo, se determina el tiempo al cual el límite superior del mismo intervalo de confianza intercepte el límite superior del intervalo de aceptación. Si el análisis muestra que la variabilidad lote a lote es pequeña, es ventajoso combinar los datos en una estimación total, y esto puede realizarse aplicando ensayos estadísticos apropiados. Si no es apropiado combinar datos de varios lotes, la vida útil puede determinarse a partir del lote que se haya mantenido dentro de las especificaciones durante el menor tiempo.

La naturaleza de las degradaciones determinará la necesidad de la transformación de los datos para el análisis de regresión lineal. Comúnmente, la relación puede ser representada por una función lineal, cuadrática o cúbica sobre una escala aritmética o logarítmica. Es aconsejable emplear métodos estadísticos para probar la bondad del ajuste de los datos sobre todos los lotes y lotes combinados (cuando corresponda) de las rectas o curvas obtenidas.

En caso de omitir el análisis estadístico, debe proveerse una justificación detallada de tal decisión.

Tabla. Estudios de Estabilidad.

TIPO DE ESTUDIO	TEMPERATURA	HUMEDAD	TIEMPOS MÍNIMOS
Estudios de larga duración	$25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$	$60 \pm 5 \text{ \%}$	12 meses
Estudios acelerados	$40 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$	$75 \pm 5 \text{ \%}$	6 meses

1050. FORMAS FARMACEUTICAS

En este capítulo se establecen las definiciones de las formas farmacéuticas y los principios generales para la elaboración de algunas de ellas.

AEROSOLES

Los aerosoles farmacéuticos son soluciones o dispersiones conteniendo principios activos que se envasan bajo presión y que se liberan con la activación de una válvula apropiada. Están destinados a la aplicación sobre la piel y la aplicación local en las vías aéreas superiores (aerosoles nasales), la cavidad oral (aerosoles bucales y sublinguales) o los pulmones (aerosoles para inhalación).

El término aerosol se aplica corrientemente a los productos presurizados que liberan su contenido en forma de una fina niebla, espumas o líquidos semi-sólidos.

En los *Aerosoles para inhalación*, el tamaño de partícula debe ser controlado cuidadosamente y su diámetro medio debe ser menor de 10 μm (ver 390. *Ensayos farmacotécnicos para aerosoles*).

Los productos que emplean válvula dosificadora se conocen como aerosoles dosificadores.

Un sistema de aerosol consta de: envase, propelente, concentrado que contiene el principio activo o principios activos, válvula y disparador. La naturaleza de estos componentes determina características tales como la distribución de tamaños de partícula, uniformidad de la dosis (para aquellos con válvulas dosificadoras), velocidad de descarga, densidad de la espuma o viscosidad del líquido.

Tipos de aerosoles - En general, los aerosoles están constituidos por sistemas de dos fases (gas y líquido) o tres fases (gas, líquido y sólido o líquido).

Los aerosoles de dos fases contienen una solución del o los principios activos en el propelente licuado que puede ir acompañado por cosolventes como alcohol, propilenglicol y polietilenglicoles, en equilibrio con el propelente vaporizado, mientras que los sistemas de tres fases contienen una suspensión o emulsión del los principios activos.

En las suspensiones, el o los principios activos pueden dispersarse en el propelente con la ayuda de excipientes apropiados, como agentes humectantes y/o soportes sólidos como talco o sílice coloidal.

Una espuma en aerosol es una emulsión que contiene uno o varios principios activos, agentes tensioactivos, líquidos acuosos o no acuosos y propelentes. Si el propelente está en la fase interna (es decir, una emulsión del tipo aceite en agua) se descarga una espuma estable y si el propelente está en

la fase externa (es decir, una emulsión del tipo agua en aceite), se obtiene un líquido pulverizable o una espuma que pierde sus características rápidamente después de la descarga.

Propelentes - Su función principal es proporcionar la presión necesaria dentro del sistema para expulsar el contenido del envase, mientras que la fracción licuada es uno de los componentes de la fase líquida. Los propelentes empleados incluyen diversos hidrocarburos, especialmente derivados del metano, etano y propano e hidrocarburos de bajo peso molecular, como butanos y pentanos y gases comprimidos como dióxido de carbono, nitrógeno y óxido nitroso. Los mismos deben ser autorizados por la Autoridad Sanitaria. Con frecuencia se emplean mezclas de propelentes para obtener las características farmacotécnicas del aerosol.

Válvulas - Regulan el flujo del contenido que se libera. En la mayoría de los aerosoles se emplean válvulas que operan en forma continua. Sin embargo, los aerosoles para inhalación oral o nasal a menudo emplean válvulas dosificadoras, las que permiten liberar una dosis predeterminada con cada activación, la que debe estar dentro de las tolerancias especificadas en <390>. *Ensayos farmacotécnicos para aerosoles*.

Disparador - Adaptador adjuntado al vástago de la válvula que cuando se oprime o se mueve abre la válvula y permite dirigir el aerosol al área deseada.

Envases - Se emplean envases de vidrio, plástico o metal, o una combinación de estos materiales. Los envases de vidrio deben proporcionar seguridad y resistencia a la presión y los golpes. Se pueden emplear plásticos para recubrir los envases de vidrio y obtener mayor seguridad o en el caso envases de metálicos para mejorar la resistencia a la corrosión y la estabilidad de la formulación.

Elaboración - Los aerosoles son elaborados por dos métodos generales.

En el método de llenado en frío, el concentrado (enfriado a una temperatura por debajo de 0 °C) y el propelente refrigerado se introducen en envases abiertos (enfriados). La válvula y el disparador son luego engarzados sobre el envase para formar un sello de cierre perfecto. Durante el intervalo entre el agregado del propelente y el sellado del envase, el propelente se volatiliza lo suficiente como para desplazar el aire del envase.

En el método de llenado a presión, el concentrado se introduce en el envase, éste se cierra y el propelente se introduce bajo presión a través del orificio de la válvula. En este caso, deben tomarse medidas para evacuar el aire, aplicando vacío o desplazándolo con una cantidad apropiada de vapor del propelente.

Los controles durante el proceso de elaboración incluyen: control de la formulación, peso de llenado del propelente, control de las presiones y ensayo de pérdida en el aerosol terminado. Los aerosoles deben cumplir con las especificaciones indicadas en <390>. *Ensayos farmacotécnicos para aerosoles.*

Sustancias extraíbles - La composición y la calidad de los materiales empleados en la elaboración de los componentes de las válvulas (como por ej. vástago, juntas, etc.) deben seleccionarse con cuidado debido a que en la formulación de aerosoles se emplean solventes orgánicos como propelentes o vehículos que pueden extraer materiales de los componentes elastoméricos y plásticos a la formulación. Las sustancias extraíbles, entre las cuales se pueden incluir hidrocarburos aromáticos, nitrosaminas, aceleradores de vulcanización, antioxidantes, plastificantes, monómeros, etc., deben identificarse y minimizarse en lo posible.

CAPSULAS

Las cápsulas son formas farmacéuticas sólidas que contienen el principio activo solo o acompañado por excipientes dentro de una cubierta soluble rígida o blanda. Generalmente, la gelatina es el componente principal de las paredes de las cápsulas. Los tamaños de las cápsulas se designan mediante escala numérica desde el N° 5, el más pequeño, al N° 000, que es el más grande.

Las cápsulas rígidas pueden contener colorantes como, óxidos de hierro, agentes opacantes como dióxido de titanio, dispersantes, agentes de endurecimiento como la sacarosa y conservantes. Contienen normalmente entre 10 y 15% de agua.

Las cápsulas rígidas se llenan con polvos o gránulos. Generalmente las formulaciones contienen excipientes, lubricantes y deslizantes para facilitar el llenado. También pueden agregarse desintegrantes, para facilitar la disgregación y dispersión en el tracto digestivo. Cuando el principio activo es hidrofóbico pueden agregarse agentes humectantes.

La formulación, el método de llenado y el grado de compactación influyen en la velocidad de liberación de los principios activos.

Las cápsulas blandas, preparadas a partir de gelatina u otro material apropiado requieren métodos de producción en gran escala. Las paredes de las cápsulas blandas de gelatina son más gruesas que en

las cápsulas rígidas y pueden ser plastificadas mediante el agregado de un polialcohol como sorbitol o glicerina. La relación entre plastificante anhidro y gelatina seca determina la plasticidad y dureza y permite adecuarlas a las condiciones ambientales o a la naturaleza del contenido. La composición de las cápsulas blandas puede incluir colorantes aprobados, agentes opacantes como dióxido de titanio, saborizantes y conservantes. Las cápsulas blandas contienen normalmente entre 6 y 13% de agua. En la mayoría de los casos, las cápsulas blandas se llenan con líquidos, aunque pueden llenarse con sólidos particulados empleando equipos apropiados. Los principios activos se pueden disolver o se suspenden en vehículos oleosos, como por ej., aceite vegetal, sin embargo, los vehículos no acuosos, miscibles con agua, como por ej., polietilenglicol de bajo peso molecular son más comúnmente empleados debido a que presentan menores problemas de biodisponibilidad.

Los sellos, son un tipo de cápsulas de almidón de poco uso en la actualidad. Su empleo está limitado a la preparación de ciertas fórmulas magistrales con polvos muy voluminosos. Sus tamaños se designan mediante escala numérica desde el N° 00, el más pequeño, al N° 2 que es el más grande.

Cápsulas con cubierta entérica - Las cápsulas pueden recubrirse para resistir la liberación del principio activo en el fluido gástrico cuando es importante evitar problemas potenciales de inactivación del principio activo o la irritación de la mucosa gástrica. El término liberación retardada se emplea en las monografías para las cápsulas y los gránulos con cubierta entérica que están destinadas a retardar la liberación del principio activo hasta que la cápsula haya pasado a través del estómago.

Cápsulas de liberación prolongada - Se formulan de tal manera que la liberación del principio activo se produzca durante un período de tiempo prolongado después de su administración. Las expresiones como *acción prolongada*, *acción extendida* y *liberación sostenida* también se han empleado para describir tales formas farmacéuticas. Sin embargo, para los fines farmacopeicos y requisitos para la liberación de principios activos (ver 530. *Liberación de principios activos*) se emplea el término *liberación prolongada*.

COMPRIMIDOS

Los comprimidos son formas farmacéuticas sólidas que contienen uno o más principios activos generalmente acompañados por excipientes apropiados y se administran por diferentes vías. Se preparan mediante la aplicación de altas presiones sobre polvos o granulados, empleando equipos

mecánicos provistos de matrices y punzones apropiados.

En la formulación de comprimidos generalmente se emplean como excipientes diluyentes, aglutinantes, desintegrantes y lubricantes. También pueden estar presentes colorantes y saborizantes.

Elaboración - Se emplean tres métodos generales de elaboración: granulación húmeda, granulación seca y compresión directa.

Los comprimidos deben cumplir con las especificaciones descritas en <740>. *Uniformidad de unidades de dosificación*, <310>. *Ensayo de disgregación* y <320>. *Ensayo de disolución*.

Los comprimidos pueden recubrirse para proteger sus componentes de los efectos del aire, la humedad o la luz, enmascarar sabores u olores desagradables, mejorar la apariencia y controlar el sitio de liberación del principio activo en el tracto gastrointestinal.

Comprimidos con cubiertas simples - En algunos casos, los comprimidos se recubren con azúcar (grageas) que se aplica por medio de suspensiones acuosas. Los comprimidos recubiertos luego son pulidos mediante la aplicación de soluciones diluidas de cera en solventes como cloroformo o mezclas de polvos. Los revestimientos que constan de sustancias como goma laca o acetofalato de celulosa a menudo se aplican con solventes no acuosos antes de la aplicación de la cubierta azucarada.

Comprimidos, con cubierta entérica - Cuando el principio activo puede destruirse o inactivarse por el jugo gástrico o cuando puede irritar la mucosa gástrica, se indica el empleo de los revestimientos entéricos. Estos revestimientos están destinados a retardar la liberación del principio activo hasta que el comprimido haya pasado a través del estómago. En esta Farmacopea se emplea el término *liberación retardada* y las monografías correspondientes incluyen ensayos y especificaciones para la liberación del principio activo (ver 530. *Liberación de principios activos*).

Comprimidos de liberación prolongada - Se formulan de tal manera que la liberación del principio activo se produzca durante un período prolongado de tiempo después de la administración. Las expresiones como *liberación extendida*, *acción prolongada*, *acción repetida* y *liberación sostenida* también se emplean para describir tales formas farmacéuticas. Sin embargo, el término *liberación prolongada* se emplea para los fines farmacopeicos, las monografías incluyen ensayos y especificaciones para la liberación del principio activo (ver 530. *Liberación de principios de principios activos*).

CREMAS

Son formas farmacéuticas semisólidas emulsionadas que contienen uno o varios principios activos y hasta un 80 % de agua. Este término se ha aplicado tradicionalmente a los semisólidos que poseen una consistencia relativamente fluida formulados ya sea como una emulsión agua en aceite o aceite en agua. Sin embargo, más recientemente el término ha estado restringido a los productos que consisten en emulsiones aceite en agua o dispersiones acuosas microcristalinas de ácidos grasos o alcoholes de cadena larga que son fácilmente lavables, cosmética y estéticamente más aceptables.

ELIXIRES

Ver *Soluciones*.

EMULSIONES

Son sistemas de al menos dos fases en los cuales un líquido se dispersa en otro líquido en la forma de glóbulos o gotitas pequeñas. Cuando el aceite es la fase dispersa y la fase continua es la acuosa, el sistema se designa como una emulsión aceite en agua. Por el contrario, cuando el agua o una solución acuosa es la fase dispersa y un aceite o material oleoso es la fase continua, el sistema se designa como una emulsión agua en aceite. Las emulsiones se estabilizan mediante agentes que impiden la coalescencia.

En las emulsiones aceite en agua, se agregan polímeros hidrofílicos naturales o sintéticos junto con los agentes tensioactivos. Estas sustancias se acumulan en la interfase y aumentan la viscosidad de la fase acuosa por lo cual disminuyen la velocidad de la formación de agregados.

Todas las emulsiones requieren un agente antimicrobiano porque la fase acuosa es favorable al crecimiento de los microorganismos.

EXTRACTOS Y EXTRACTOS FLUIDOS

Son formas farmacéuticas líquidas, semisólidas y plásticas o sólidas y pulverulentas, preparadas con soluciones extractivas, obtenidas por agotamiento de drogas vegetales o animales con solventes apropiados, mediante la evaporación de todo o casi todo el solvente y el ajuste de las masas o los polvos residuales a las normas prescriptas.

De acuerdo con la naturaleza del solvente o mensturo empleado en el agotamiento de la droga, los extractos se denominan: acuosos, alcohólicos, hidroalcohólicos, etéreos, etc.

Por su consistencia se clasifican en *Extractos fluidos* cuando son líquidos; *Extractos firmes*, cuando son sólidos, pero plásticos, pudiendo mol-

dearse entre los dedos y *Extractos secos*, cuando son sólidos y en polvo fino o granuloso y pierden por desecación entre 105 y 110 °C menos del 4% de su peso.

Los extractos fluidos son preparados líquidos de drogas vegetales, que contienen alcohol como solvente, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, y cada mililitro contiene los elementos constitutivos correspondientes a 1 g de droga. Los extractos fluidos pueden ser preparados a partir de los extractos apropiados.

GELES

Son sistemas semisólidos con un alto contenido acuoso o hidroalcohólico y baja o media viscosidad conferida por un agente gelificante. Cuando la masa del gel consta de una red de partículas discretas pequeñas, el gel se clasifica como un sistema de dos fases (como por ej., *Gel de hidróxido de aluminio*), mientras que, si el tamaño de partícula de la fase dispersa es relativamente grande, generalmente se denomina magma (como por ej., *Magma de bentonita*). Tanto geles como magmas suelen ser tixotrópicos, siendo semisólidos en reposo y tornándose líquidos al agitarlos. Deben ser agitados antes de su uso para asegurar la homogeneidad y deben rotularse a ese efecto. (Ver *Suspensiones*.)

Los geles que se visualizan como una sola fase generalmente contienen macromoléculas orgánicas distribuidas uniformemente en todo el líquido de tal manera que no existe ningún límite evidente entre las macromoléculas dispersas y el líquido. Los geles de una sola fase pueden prepararse con macromoléculas sintéticas o con gomas naturales. Estos últimos también se llaman mucílagos.

IMPLANTES (PELLETS)

Son masas sólidas estériles pequeñas que contienen un principio activo altamente purificado (con o sin excipientes), preparados mediante compresión o moldeado. Están destinados para obtener una liberación continua del principio activo durante largos períodos de tiempo.

INYECTABLES

Son productos fluidos formulados para ser administrados a través de piel o mucosas. Estos productos se deben preparar mediante procedimientos que garanticen el cumplimiento de los requisitos establecidos por la Farmacopea para esterilidad, pirogénos, partículas extrañas, etc. y contienen, si fuera necesario, inhibidores para el crecimiento de microorganismos.

Denominación - Esta Farmacopea denominará los diferentes tipos de inyectables mediante el nombre de la sustancia oficial seguido de:

1. Solución inyectable - Preparaciones líquidas que son sistemas homogéneos.

2. Para inyección - Sólidos que al agregarles vehículos apropiados forman soluciones que cumplen con todos los requisitos generales aplicables a las soluciones inyectables.

3. Emulsión inyectable - Preparaciones líquidas que son emulsiones de fase externa acuosa u oleosa.

4. Suspensión inyectable - Preparaciones líquidas de sólidos suspendidos en medios líquidos apropiados. No deben emplearse para la administración intravenosa o intratecal.

5. Para suspensión inyectable - Sólidos que mediante el agregado de vehículos apropiados resultan en preparaciones que cumplen con todos los requisitos generales aplicables a las Suspensiones inyectables.

Los envases de las formulaciones inyectables deben llenarse con un volumen ligeramente en exceso del declarado en el rótulo (ver 210. *Determinación del contenido extraíble del envase*).

Inyectables de grandes y pequeños volúmenes

- En esta Farmacopea, una formulación inyectable de gran volumen corresponde a un inyectable monodosis destinado a la administración intravenosa, envasado en recipientes que contengan un volumen mayor o igual a 100 ml. La designación de formulación inyectable de pequeño volumen se refiere a un inyectable envasado en recipientes que contengan un volumen menor a 100 ml.

Vehículos acuosos - Los vehículos para inyectables deben satisfacer los requisitos de <340>. *Ensayo de pirogénos* o de <330>. *Ensayo de endotoxinas bacterianas*, según se especifique. El *Agua para Inyectables* se emplea generalmente como vehículo, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente. El cloruro de sodio u otro agente isotonzante pueden agregarse en cantidades suficientes para obtener una solución isotónica.

Otros vehículos - Los aceites fijos que se empleen como vehículos no acuosos para inyectables, deberán tener un *índice de saponificación* ente 185 y 200 (ver 480. *Grasas y aceites fijos*) y un índice de yodo entre 79 y 141 (ver 480. *Grasas y aceites fijos*).

Los mono o diglicéridos de ácidos grasos pueden emplearse como vehículos con tal que sean líquidos y permanezcan límpidos cuando se enfrían

a 10 °C y tengan un *Índice de iodo* no mayor de 140 (ver 480. *Grasas y aceites fijos*).

Pueden emplearse éstos u otros vehículos no acuosos, siempre y cuando sean inocuos en la proporción y volumen que se administran y no interfieran con la eficacia terapéutica del preparado.

Sustancias auxiliares - Cuando sea necesario aumentar la estabilidad, pueden agregarse sustancias apropiadas a los preparados inyectables, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, siempre que sean inocuas en las cantidades administradas y no interfieran con la eficacia terapéutica o con los ensayos y valoraciones especificadas. No pueden agregarse sustancias colorantes sólo para dar color a la preparación final de una formulación inyectable (ver *Sustancias auxiliares* en *Consideraciones generales*).

Los inyectables de gran volumen no deben contener conservantes ni colorantes. Tampoco pueden contener estabilizantes a menos que se especifique lo contrario en la monografía correspondiente.

Debe tenerse especial cuidado en la selección y empleo de las sustancias auxiliares que se incorporan en preparados inyectables que se administren en volúmenes mayores de 5 ml y menores o iguales de 100 ml. A menos que se especifique de otro modo, deben considerarse las siguientes recomendaciones: 0,01 % para agentes que contengan mercurio y agentes tensioactivos catiónicos; 0,5 % para clorobutanol, cresol y fenol; 0,2 % para dióxido de azufre o una cantidad equivalente de sulfito, bisulfito, metabisulfito de potasio o de sodio.

JARABES

Ver *Soluciones*.

LOCIONES

Ver *Soluciones, Suspensiones y Emulsiones*.

OVULOS

Son formas farmacéuticas sólidas o semirrígidas obtenidas por compresión o colado sobre moldes, para su aplicación en la vagina donde ejercen su acción. Son generalmente globulares u oviformes y pesan aproximadamente 5 g cada uno.

PASTAS

Son formas farmacéuticas semisólidas que contienen un alto porcentaje de sólidos y son destinadas para aplicación tópica. Puede prepararse a partir de un gel acuoso o a partir de excipientes grasos obteniéndose, en estos casos, ungüentos espesos que comúnmente no se ablandan a la temperatura corporal y en consecuencia sirven como capas protectoras sobre las áreas en las cuales se aplican.

PASTILLAS

Son preparados sólidos, destinados a disolverse o desintegrarse lentamente en la boca. Contienen uno o varios principios activos, generalmente en una base azucarada. Pueden ser preparados por moldeo o mediante compresión.

Están generalmente destinadas para el tratamiento de la irritación o las infecciones locales de la boca o la garganta pero pueden contener principios activos destinados a la absorción sistémica después de la ingestión.

PELLETS

Ver *Implantes*.

POLVOS

Son productos sólidos constituidos por una sustancia o mezcla homogénea de sustancias finamente divididos que pueden estar destinadas para uso interno (polvos orales) o externo (polvos tópicos). Debido a su mayor área específica, los polvos se dispersan y se disuelven más fácilmente que las formas farmacéuticas sólidas. Los polvos pueden estar destinados a ser reconstituidos por el farmacéutico o el paciente mediante el agregado de una cantidad específica de agua u otro vehículo al momento de dispensar o usar. Dado que estos productos reconstituidos generalmente tienen una estabilidad limitada, se requiere que se declare el período de vida útil (fecha de vencimiento) a partir de su reconstitución y pueden requerir conservación en un refrigerador.

POMADAS

Son formas farmacéuticas para uso externo de consistencia semisólida que contienen hasta un 40 % de agua sobre una base grasa.

Cuando la pomada contiene cera en proporción de 25 %, como mínimo, se designa como cerato. Cuando la pomada contiene glicerina en proporción de 50 %, como mínimo, se designa como glicerolado.

PREPARACIONES OFTÁLMICAS

Los principios activos se administran en los ojos en una amplia variedad de formas farmacéuticas, algunas de las cuales requieren consideraciones especiales. Todas ellas deben ser estériles.

Soluciones oftálmicas - Son soluciones estériles, esencialmente libres de partículas extrañas, apropiadamente preparadas y envasadas para la instilación en el ojo.

Valor de isotonicidad - El líquido lagrimal es isotónico con la sangre, teniendo un valor de iso-

nicidad que corresponde al de una solución de cloruro de sodio al 0,9 %.

Algunas soluciones oftálmicas son necesariamente hipertónicas para mejorar la absorción o proporcionar suficiente concentración del principio activo para ejercer una acción efectiva. Dado que el volumen empleado de tales soluciones es pequeña, la dilución con el líquido lagrimal tiene lugar rápidamente y el malestar de la hipertonicidad es sólo temporal.

Regulación del pH - Frecuentemente, por razones de compatibilidad, estabilidad o eficacia, el pH de las soluciones oftálmicas es diferente al pH de las lágrimas. Las lágrimas normales tienen un pH de aproximadamente 7,4 y poseen cierta capacidad reguladora. La aplicación de una solución al ojo estimula la secreción lagrimal y la neutralización rápida de cualquier exceso de protones u hidroxilos. Es importante que las soluciones reguladoras de pH que se emplean interfieran lo menos posible con este proceso.

Conservación - Las soluciones oftálmicas pueden envasarse en envases multidosis no mayores a 15 ml cuando se destinen para el uso individual de un paciente y cuando las superficies oculares están intactas. Es obligatorio que los envases primarios para las soluciones oftálmicas estén sellados con un cierre inviolable para que la esterilidad esté asegurada al momento de emplearse por primera vez. Estas soluciones deben contener un conservante para impedir el crecimiento o destruir los microorganismos que se introducen accidentalmente cuando el envase se abre durante el uso.

Cuando se destinen para uso en procedimientos quirúrgicos, las soluciones oftálmicas, aunque deben ser estériles, no deben contener conservantes, ya que pueden ser irritantes a los tejidos oculares.

Suspensiones oftálmicas - Son preparaciones líquidas estériles que contienen partículas sólidas dispersadas en un vehículo líquido destinadas para la aplicación sobre el ojo (ver *Suspensiones*). Es imperativo que tales suspensiones contengan el principio activo en forma micronizada para impedir la irritación y/o la excoriación de la córnea. Las suspensiones oftálmicas no deben presentar aglutinación o agregación.

Ungüentos oftálmicos - Se elaboran con ingredientes esterilizados bajo condiciones asépticas y cumplen con los requisitos de <370>. *Ensayos de esterilidad*.

Los ungüentos oftálmicos deben contener conservantes para impedir el crecimiento de los microorganismos que se introducen accidentalmente cuando el envase se abre durante el uso, a menos que se especifique de otro modo en la monografía

correspondiente, o que la fórmula misma sea bacteriostática. El principio activo se agrega a la base del ungüento como una solución o como un polvo micronizado. El ungüento terminado debe estar exento de partículas grandes y debe cumplir con los requisitos de <660>. *Partículas metálicas en ungüentos oftálmicos*.

SISTEMAS DE LIBERACION

Son productos que permiten la liberación del principio con una velocidad predeterminada durante períodos de tiempo prolongados. Se han desarrollado sistemas de liberación para diferentes vías de administración, algunos de los cuales se describen a continuación.

Sistemas transdérmicos - Son formas farmacéuticas que, cuando se aplican sobre la piel sana, liberan el principio activo en la circulación sistémica a través de la piel. Los sistemas comprenden generalmente una cubierta exterior (barrera), un reservorio para el principio activo, que puede tener una membrana de control de velocidad, un adhesivo de contacto aplicado a alguna o todas las partes del sistema, la interfase sistema/piel y un envoltorio protector que se quita antes de aplicar el sistema.

La actividad de estos sistemas se define en función de la velocidad de liberación del principio activo del mismo. También puede declararse la duración total de la liberación del principio activo del sistema y su área superficial.

Los sistemas transdérmicos de liberación de principios activos funcionan mediante difusión: difunde desde el reservorio, directamente o a través de la membrana controladora de velocidad y/o el adhesivo de contacto si está presente y luego a través de la piel a la circulación general. Los sistemas de liberación modificada están diseñados para liberar el principio activo a una velocidad constante, para lograr una concentración sanguínea constante y apropiada que se mantenga hasta que el sistema sea retirado. En ese momento, la concentración sanguínea desciende a velocidad compatible con la farmacocinética del principio activo.

Sistema ocular - Está destinado para ser localizado en el fondo del saco conjuntival inferior del cual el principio activo difunde a través de una membrana a una velocidad constante.

Sistema intrauterino - Son sistemas basados en un principio similar a los descritos anteriormente pero diseñados para que la liberación del principio activo ocurra durante un período de tiempo más largo, por ej., 1 año.

Apósitos - Son materiales de distinta naturaleza que se aplican sobre piel o mucosa, sana o lesiona-

da, con el objetivo de aislar, proteger, absorber y/o promover la curación de una lesión.

SOLUCIONES

Son preparados líquidos que contienen una o varias sustancias disueltas en un solvente o una mezcla apropiada de solventes miscibles entre sí. Ya que las moléculas en las soluciones se dispersan uniformemente, el empleo de soluciones como forma farmacéutica contempla en general la seguridad de dosificación uniforme con la administración y buena exactitud cuando se diluyen o se mezclan con otras soluciones.

Las formas farmacéuticas categorizadas como Soluciones se clasifican según la vía de administración, en *Soluciones orales* y *Soluciones tópicas* o por la naturaleza de las sustancias disueltas y los solventes, empleados, en *Tinturas*, *Aguas aromáticas*, *Alcoholados*, *Oleolados*, etc. Las soluciones destinadas para la administración parenteral son denominadas oficialmente *Soluciones inyectables*.

Soluciones orales - Las soluciones orales son preparados líquidos, destinados para la administración oral, que contienen uno o varios principios activos con o sin aromatizantes, endulzantes, o colorantes disueltos en agua o en mezclas de agua y cosolventes. Las soluciones orales pueden formularse para la administración oral directa al paciente o pueden dispensarse en una forma más concentrada que debe diluirse antes de la administración. Es importante reconocer que la dilución con agua de las soluciones orales que contienen cosolventes como alcohol, podría conducir a la precipitación de algunos componentes. Las preparados dispensados como sólidos solubles o mezclas solubles de sólidos, con la intención de disolverlos en un solvente y administrarlos oralmente, se denominan *para solución oral*.

Las soluciones orales que contienen concentraciones altas de sacarosa u otros azúcares tradicionalmente se han denominado como *Jarabes*. Una solución de sacarosa en agua cercana al punto de saturación, se denomina *Jarabe* o *Jarabe simple*. Bajo la denominación de *Jarabe*, también se incluyen otras formas farmacéuticas líquidas preparadas en un vehículo dulce y viscoso, incluyendo suspensiones orales.

Además de la sacarosa y otros azúcares, ciertos polialcoholes como el sorbitol o la glicerina puede estar presente en las soluciones orales para inhibir la cristalización y modificar la solubilidad, el gusto, la palatabilidad y otras propiedades del vehículo. Generalmente contienen conservantes para impedir el crecimiento de bacterias, levaduras y mohos. Algunas soluciones orales sin azúcar contienen

agentes endulzantes como sorbitol o edulcorantes sintéticos, así como agentes viscosantes.

Tales soluciones dulces viscosas, sin azúcares, son ocasionalmente preparadas como vehículos para la administración de los principios activos a los pacientes diabéticos.

Las Soluciones orales, que contienen alcohol como cosolvente, se han denominado tradicionalmente *Elixires*. Dado que las concentraciones altas de alcohol pueden producir un efecto farmacológico cuando son administradas oralmente, se emplean otros cosolventes, como glicerina y propilenglicol, para reducir al mínimo la cantidad de alcohol requerida.

Soluciones oftálmicas - Ver *Preparaciones oftálmicas*.

Soluciones tópicas - Son soluciones generalmente acuosas, que a menudo contienen otros solventes como alcohol y polialcoholes. Están destinadas para la aplicación tópica sobre la piel o sobre la superficie de las mucosas. El término *Loción* se aplica a soluciones, suspensiones o emulsiones aplicadas tópicamente.

Soluciones óticas - Destinadas para la instilación en el oído externo, son soluciones acuosas o soluciones que contienen glicerina u otros solventes y agentes de dispersión.

Tinturas - Son soluciones alcohólicas o hidroalcohólicas preparadas a partir de productos vegetales u otro origen.

La proporción de principio activo presente en las diferentes tinturas es uniforme pero varía según las normas establecidas para cada una. Las tinturas de productos vegetales, esencialmente representan la actividad de 10 g de sustancia por cada 100 ml de tintura, la potencia se ajusta después de la valoración.

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, para la preparación de las tinturas oficiales se emplearán los siguientes métodos:

Procedimiento L (Lixiviación) - Mezclar cuidadosamente el principio activo o la mezcla molida de los principios activos con una cantidad suficiente de la mezcla de solventes o solvente indicados para mojarlo uniformemente, dejar en reposo durante 15 minutos, transferir a un percolador apropiado y empacar el principio activo firmemente. Verter una cantidad suficiente de disolvente de manera que la droga, en su totalidad, quede cubierta por el mismo. Dejar macerando durante 24 horas o por el tiempo especificado en la monografía correspondiente, con el percolador tapado. Si no se indica ninguna valoración, dejar que la percolación proceda lentamente,

o a la velocidad especificada en la monografía, agregando gradualmente el menstuo en cantidad suficiente para producir 1.000 ml de tintura y mezclar. Si es necesaria una valoración, recolectar los primeros 950 ml del percolado, mezclar y analizar una porción según se indique. Diluir el resto con tal cantidad de disolvente utilizado, hasta obtener una tintura que se ajuste a la norma y mezclar.

Procedimiento M (Maceración) – Mezclar la droga molida con 750 ml del menstuo a utilizar, en un recipiente cerrado y colocarlo a temperatura ambiente, agitando con frecuencia durante 3 días a menos que se especifique otra cosa en la monografía. Filtrar, prensar el residuo, lavar el recipiente y el residuo con pequeñas porciones del menstuo utilizado, combinando los filtrados para producir 1.000 ml de tintura y mezclar.

El rótulo deberá indicar: la nomenclatura, la proporción del material de partida en relación a la cantidad de tintura final y el contenido porcentual de etanol en v/v en la tintura final.

SUPOSITORIOS

Son cuerpos sólidos de diversos tamaños y formas, adaptados para la introducción en el recto. Se deben ablandar o disolver a la temperatura corporal (ver 400. *Ensayos farmacotécnicos para supositorios*). Un supositorio puede actuar como un protector o paliativo local o como un vehículo de principios activos para producir una acción sistémica o local. Las bases de supositorio generalmente empleadas son manteca de cacao, gelatina glicerinada, aceites vegetales hidrogenados, mezclas de polietilenglicoles de diversos pesos moleculares y ésteres de ácidos grasos del polietilenglicol.

La base de supositorio tiene una influencia marcada en la liberación del principio activo.

Supositorios de manteca de cacao - Estos supositorios pueden elaborarse incorporando el principio activo finamente dividido en la base a temperatura ambiente y luego moldear apropiadamente la masa resultante o bien fundiendo la base para permitir que la suspensión resultante solidifique por enfriamiento en los moldes. Puede agregarse una cantidad apropiada de agentes de endurecimiento para contrarrestar la tendencia a ablandarse de los productos que contienen algunos principios activos, como por ej., el hidrato de cloral.

Los supositorios para adultos se estrechan en uno o ambos extremos y pesan aproximadamente 2 g cada uno. Los supositorios preparados con otras bases varían en el peso y son en general más pesados.

Los supositorios con manteca de cacao como base requieren conservación en envases bien cerra-

dos, a una temperatura menor de 30 °C (temperatura ambiente controlada).

Sustitutos de la manteca de cacao - Las bases para supositorios de tipo graso pueden obtenerse a partir de una variedad de aceites vegetales, como el de coco o de palma, que son modificados mediante esterificación, hidrogenación y fraccionamiento para obtener productos de composición y temperatura de fusión variables. Estas bases permiten lograr las características deseadas como intervalos estrechos entre la temperatura de fusión y de solidificación e intervalos de fusión que se adecuen a diversas condiciones climáticas y de la formulación.

Supositorios de gelatina glicerinada - Los principios activos pueden incorporarse en bases de gelatina glicerinada mediante el agregado de las cantidades indicadas a un vehículo que consiste en glicerina, gelatina y agua (70:20:10).

Los supositorios de gelatina glicerinada requieren conservación en envases de cierre perfecto, a una temperatura menor de 35 °C.

Supositorios de polietilenglicol - Varias combinaciones de polietilenglicol con temperaturas de fusión mayor que la temperatura corporal se emplean como bases de supositorios. Dado que la liberación a partir de estas bases depende de la disolución en lugar de la fusión, existen significativamente menos problemas en la preparación y conservación que los que existen con vehículos que actúan por fusión. Sin embargo, altas concentraciones de polietilenglicoles de peso molecular mayor pueden extender el tiempo de disolución, dando lugar a problemas de retención. Los rótulos en los supositorios de polietilenglicol, deben contener instrucciones que indiquen que se deben humedecer con agua antes de usar. Aunque pueden almacenarse sin refrigeración, deben mantenerse en envases herméticamente cerrados.

Bases de supositorio con agentes tensioactivos - Varios agentes tensioactivos no iónicos relacionados químicamente con los polietilenglicoles se emplean como vehículos de supositorios. Estos agentes tensioactivos se emplean solos o en combinación con otros vehículos para producir la consistencia y temperaturas de fusión apropiadas. Una de las ventajas principales de tales vehículos es que se dispersan con facilidad en contacto con el agua. Sin embargo, debe tenerse cuidado con el empleo de agentes tensioactivos, porque puede aumentar la velocidad de absorción del principio activo, o interactuar con moléculas del principio activo, causando una disminución en la actividad terapéutica.

SUSPENSIONES

Son preparados líquidos constituidos por partículas sólidas dispersadas en una fase líquida en la cual las partículas no son solubles. Estos productos se diseñan para administrarse por diferentes vías como *Suspensiones orales*, *Suspensiones inyectables*, *Suspensiones tópicas*; etc. Algunas suspensiones están preparadas y listas para su uso, mientras que otras se presentan como mezclas de polvos para reconstituirse antes de su uso, con el vehículo que corresponda. Tales productos se denominan *para suspensión oral*, etc. El término *Leche* a veces se emplea para las suspensiones en vehículos acuosos destinadas para la administración oral. El término *Magma*, a menudo se emplea para describir las suspensiones de sólidos inorgánicos hidrofílicos como las arcillas, que originan sistemas con un comportamiento reológico similar a los geles. El término *Loción* se emplea para categorizar muchas suspensiones y emulsiones tópicas destinadas para la aplicación sobre la piel. Algunas suspensiones son preparadas en forma estéril y se emplean como inyectables o para la administración oftálmica.

Por su misma naturaleza, los sólidos en una suspensión pueden sedimentar en el fondo del envase. Tal sedimentación también puede conducir a la aglutinación y la solidificación del sedimento con la resultante dificultad para la redispersión de la suspensión por agitación. Para impedir tales problemas, se emplean una variedad de sustancias auxiliares tales como agentes tensioactivos, agentes viscosantes de diferentes tipos (polímeros hidrofílicos, arcillas), agentes floculantes, modificadores de la densidad, etc. Es importante que las suspensiones siempre se agiten antes de ser empleadas para asegurar la distribución uniforme del sólido en el vehículo y de ese modo asegurar la dosificación unifor-

me y apropiada. Las suspensiones requieren conservación en envases de cierre perfecto.

Suspensiones orales - Son preparados líquidos que contienen partículas sólidas dispersadas en un vehículo líquido, con agentes saborizantes apropiados, destinados para la administración oral. Algunas suspensiones rotuladas como *Leches* o *Magmas* pertenecen a esta categoría.

Suspensiones tópicas - Son preparaciones líquidas que contienen partículas sólidas dispersas en un vehículo líquido, destinadas para la aplicación sobre la piel. Algunas suspensiones rotuladas como *Lociones* pertenecen a esta categoría.

Suspensiones óticas - Son preparaciones líquidas que contienen partículas micronizadas destinadas para la instilación en el oído externo.

Suspensiones oftálmicas - Ver *Preparaciones oftálmicas*.

Suspensiones inyectables - Ver *Inyectables*.

UNGÜENTOS

Son preparaciones semisólidas destinadas para la aplicación externa sobre la piel o mucosas y que emplean como vehículo grasas y/o resinas.

Existen diversos tipos de bases para ungüentos. La elección de la base depende de muchos factores, como la acción deseada, la naturaleza del principio activo a incorporar, su biodisponibilidad, la estabilidad y el período máximo de vida útil requerido para el producto terminado. Los principios activos que se hidrolizan rápidamente, son más estables en bases constituidas por hidrocarburos que en bases que contengan agua, aunque pueden ser más efectivas en estas últimas.

1060. FRIABILIDAD Y DUREZA DE COMPRIMIDOS

Friabilidad de comprimidos

Este ensayo se emplea para determinar que los comprimidos no recubiertos, cuando se someten a estrés mecánico, no se dañen y/o muestren evidencias de laminación o ruptura.

Aparato - Emplear un tambor transparente con un diámetro interno de 286 mm y una profundidad aproximada de 39 mm, con superficies internas pulidas (ver *Figura*). Una de las caras del tambor permite introducir los comprimidos a ensayar. El tambor se fija, a través de su eje horizontal, a un dispositivo que le imprime un movimiento rotatorio de aproximadamente 25 rpm. De este modo, en cada vuelta de tambor, los comprimidos ruedan o se deslizan y caen desde una altura de aproximadamente 130 mm.

Procedimiento - Para comprimidos que pesen hasta 0,65 g cada uno, tornar una muestra equivalente a 6,5 g; para comprimidos que pesen más de 0,65 g, tomar una muestra de diez unidades y eliminar las partículas de polvo con la ayuda de aire o un cepillo blando. Pesar la muestra de comprimidos con exactitud y colocarla en el tambor. Rotar el tambor 100 veces y retirar los comprimidos. Eliminar las partículas de polvo con la ayuda de aire o un cepillo blando. Si no se observan comprimidos rotos, pesarlos exactamente.

Interpretación de los resultados - Generalmente el ensayo se realiza una sola vez. Si la pérdida de peso es mayor a 1 %, repetir el ensayo dos veces y calcular el promedio de las tres determinaciones.

Se considera aceptable una pérdida de peso máximo de 1 %.

Para comprimidos efervescentes y masticables, pueden aceptarse especificaciones diferentes de friabilidad, ya que los mismos requieren condiciones especiales de envasado para evitar que se dañen.

Dureza de comprimidos

Este ensayo se emplea para determinar la dureza de los comprimidos medida por la fuerza necesaria para producir la ruptura de los mismos.

Aparato - El aparato consta de dos brazos enfrentados uno con otro, uno de los cuales se mueve en dirección al otro. Las superficies de los brazos, donde se produce la ruptura, son planas, perpendiculares a la dirección del movimiento y mayores que la superficie de contacto del comprimido. El aparato se calibra con la ayuda de un sistema cuya precisión es de 1 Newton.

Procedimiento - Colocar el comprimido entre los dos brazos y aumentar la presión hasta que se produzca la ruptura. Realizar la medición sobre diez comprimidos, teniendo la precaución de eliminar todos los fragmentos del comprimido antes de cada determinación. Orientar los comprimidos siempre en la misma dirección con respecto a la aplicación de la fuerza.

Expresar el resultado como el valor promedio, el máximo y el mínimo de las fuerzas medidas expresadas en newtons. Indicar el tipo de aparato y, cuando corresponda, la orientación del comprimido.

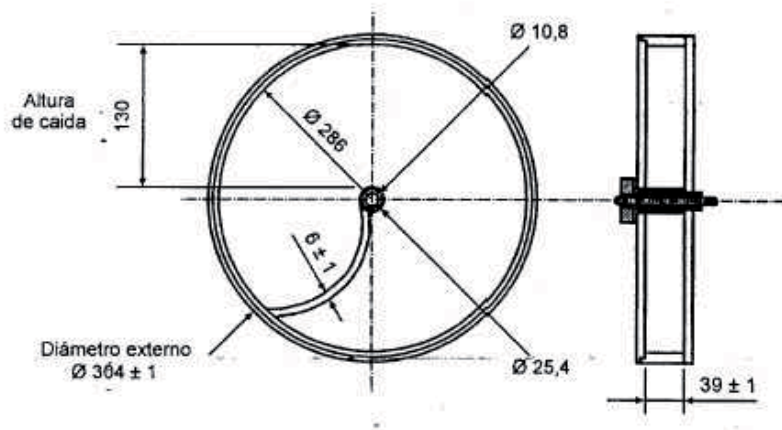


Figura. Aparato para la determinación de la friabilidad de comprimidos.

1070. IMPUREZAS EN PRODUCTOS OFICIALES

El concepto de pureza cambia con el tiempo junto con los avances de la química analítica. Si de un material que previamente se consideraba puro pueden separarse más de un componente, deben redefinirse nuevos términos de pureza.

En este capítulo se establecen las definiciones de los distintos tipos de impurezas y el contexto en el cual se emplearán en esta Farmacopea.

En las monografías de principios activos se citan generalmente alguno de los siguientes tipos de ensayos de pureza:

(1) un ensayo de pureza cromatográfica acompañada de una valoración no específica;

(2) un método indicador de la pureza cromatográfica que, además, sirve como valoración, o

(3) un ensayo límite específico para una impureza conocida, lo que generalmente requiere una *Sustancia de referencia* para esa impureza.

Los métodos actuales de separación cumplen la doble función de separar y medir componentes simultáneamente o sea que permiten hacer mediciones de los analitos purificados. A pesar de esto, la mayoría de los métodos clásicos basados en volumetría, colorimetría, espectrofotometría o cambios en constantes físicas no han perdido vigencia. La situación ideal consiste en la obtención de un perfil de pureza a partir de la aplicación de varios métodos analíticos.

Las mediciones de pureza o impureza en productos farmacéuticos representan un desafío a la hora de establecer la norma farmacopeica. Al momento de verificar la degradación de una preparación, los mismos métodos analíticos que sirven como indicadores de estabilidad son también indicadores de pureza. La resolución de un principio activo de los excipientes presentes en una formulación representa una situación similar, por esta razón, la mayoría de las monografías de productos terminados contienen valoraciones cromatográficas.

Cuando se conocen impurezas más significativas, algunas monografías establecen ensayos límites específicos. Sin embargo, en esta Farmacopea por lo general no se repiten ensayos de impurezas en preparaciones cuando éstas aparecen en la monografía correspondiente al principio activo y cuando no se espera que estas impurezas aumenten. Existe una uniformidad entre las normas de la Farmacopea y las *Buenas prácticas de fabricación y control <1020>* y se asume que se realiza una retención apropiada de

muestras que corresponden al lote de materia prima empleado para la preparación en cuestión. Cada vez que se planteen dudas sobre el análisis de una preparación oficial en cuanto a la calidad de las materias primas empleadas, es suficiente el análisis posterior de las muestras retenidas.

Definiciones -

Sustancias extrañas - Son las sustancias extrañas que pueden introducirse por contaminación o adulteración, no son una consecuencia de la síntesis o de la preparación del producto y, por lo tanto, no pueden preverse cuando se seleccionan los ensayos y valoraciones para la monografía correspondiente. La presencia de sustancias extrañas objetables, no reveladas por los ensayos y las valoraciones de la monografía correspondiente, constituye una variación de la norma oficial. En esta Farmacopea se permite la detección de sustancias extrañas por métodos no oficiales (ver *Normas oficiales en Consideraciones generales*).

Impurezas tóxicas - Las impurezas tóxicas tienen una significativa actividad biológica no deseable, aún en bajas concentraciones y requieren la identificación y cuantificación individual por medio de ensayos específicos. Estas impurezas pueden surgir de la síntesis, preparación o degradación de los productos farmacopeicos. Los ensayos se basan en la comparación contra una *Sustancia de referencia* de la impureza, si la hubiera. El elaborador tiene la responsabilidad de suministrar datos que sustenten la clasificación de tales impurezas como impurezas tóxicas.

Componentes concomitantes - Los componentes concomitantes son característicos de muchas materias primas empleadas en la elaboración de medicamentos y no se consideran como impurezas en el sentido farmacopeico. Para los componentes concomitantes de esta Farmacopea, se establecen límites de contenido, se especifican intervalos o mezclas definidas, como por ej., los isómeros geométricos y ópticos y antibióticos que sean mezclas. Cualquier componente que puede ser considerado como impureza tóxica debido a un significativo efecto biológico nocivo, no es considerado como un componente concomitante.

Impurezas indicadoras - Las impurezas indicadoras son diferentes de las impurezas comunes ya que requieren identificación y cuantificación individual por medio de ensayos

específicos. Estos ensayos se basan en la comparación contra una *Sustancia de referencia* de la impureza, si la hubiera. Las impurezas indicadoras pueden incluir algunas impurezas o productos de degradación vinculados con el proceso y suministran información clave acerca del mismo, como por ej., sustancias diazotables en tiazidas. El elaborador tiene la responsabilidad de suministrar datos que apoyen la clasificación de tales impurezas como impurezas indicadoras en lugar de impurezas comunes.

Impurezas comunes - Las impurezas comunes son aquellas especies, presentes en materias primas empleadas en la preparación de medicamentos, que son inocuas por no tener significativa actividad biológica indeseable en las cantidades en que se presentan. Estas impurezas pueden surgir de la síntesis, la preparación o degradación de productos farmacopeicos. Los ensayos y valoraciones seleccionadas admiten cantidades de impurezas que no son objetables para el uso normal del producto. La presencia de impurezas comunes se controla en las monografías correspondientes de esta Farmacopea por medio del ensayo para *Impurezas comunes* <510>. Los ensayos para detectar sustancias relacionadas o pureza cromatográfica también pueden controlar la presencia de impurezas comunes.

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, la estimación de la cantidad y número de impurezas comunes se hace por métodos relativos en vez de la comparación directa contra *Sustancias de referencia* específicas.

Se ha seleccionado el valor de 2,0 % como límite general en impurezas comunes en las monografías correspondientes donde los datos disponibles no permitieron la adopción de otros valores. Este valor representa el máximo impacto permitido para esta fuente de variación.

Cuando una monografía fija los límites sobre componentes concomitantes, impurezas indicadoras y/o impurezas tóxicas, estas especies no se incluirán en la estimación de impurezas comunes, a menos que así se especifique en la monografía correspondiente.

1090. LIMPIEZA DE MATERIALES DE VIDRIO

El método empleado para eliminar la materia orgánica del vidrio es el tratamiento en frío con mezcla sulfocrómica, aunque debido a su carácter altamente contaminante del medio ambiente, deben tomarse precauciones especiales al momento de eliminar las porciones empleadas. Los agentes limpiadores alcalinos, tales como el fosfato trisódico y los detergentes sintéticos, son altamente eficaces pero requieren un prolongado enjuague.

La mezcla sulfocrómica para limpieza puede ser preparada del siguiente modo.

<i>Dicromato de sodio</i>	<i>200 g</i>
<i>Agua</i>	<i>100 ml</i>
<i>Acido sulfúrico</i>	<i>1.500 ml</i>

Disolver el dicromato de sodio en agua y lentamente agregar, con agitación, el ácido sulfúrico. Preparar esta mezcla en un vaso de precipitados de vidrio al borosilicato de 2 litros,

puesto que el calor producido puede causar la rotura de envases de vidrio común.

El ácido crómico cristalino, que se forma al preparar la mezcla, tiende a precipitar y puede ser separado por decantación.

Como el vidrio tiende a absorber el ácido crómico, es imprescindible lavar perfectamente. Se debe evitar el uso de mezcla sulfocrómica o de soluciones altamente alcalinas para la limpieza de materiales que se empleen en mediciones ópticas.

La mezcla sulfocrómica es sumamente corrosiva e higroscópica y debe ser almacenada en botellas con tapón de vidrio en un lugar seguro. Cuando la mezcla adquiere color verde debe descartarse cumpliendo con todas las reglamentaciones vigentes sobre protección y seguridad del medio ambiente.

Cualquiera sea el procedimiento de limpieza que se emplee, es importante validar el método elegido para verificar que es apto para los fines empleados.

1110. PREPARACIONES RADIOFARMACÉUTICAS

Los conceptos generales del presente capítulo serán de aplicación a las monografías sobre Preparaciones Radiofarmacéuticas incluidas en esta Farmacopea.

A los fines pertinentes la manipulación y el empleo de preparaciones radiofarmacéuticas deben ajustarse a todas las normas, regulaciones, disposiciones nacionales y/o internacionales vigentes en materia de radioprotección emanadas de la Autoridad Nuclear competente y de la Autoridad Sanitaria jurisdiccional de acuerdo a su competencia.

DEFINICIONES

Preparación Radiofarmacéutica (Radiofármaco) - Es todo producto farmacéutico que, una vez terminado y listo para ser empleado, contiene uno o más nucleídos radiactivos (radioisótopos), incluidos con un propósito médico.

Generador de radionucleídos - Cualquier sistema que incorpora un radionucleído *madre* fijado a una matriz apropiada, a partir del cual se produce un radionucleído *hija*, la que se eluye o separa de la *madre* por cualquier método apropiado. La *hija* será empleada en una preparación radiofarmacéutica.

Juego de reactivos (kit) para preparaciones radiofarmacéuticas - Es todo producto farmacéutico para ser reconstituido y/o combinado con radionucleídos en la preparación radiofarmacéutica final, usualmente con anterioridad a su administración. El procedimiento para combinar el radionucleído con el juego de reactivos se denomina marcación radiactiva. Estos productos estarán sujetos a las normas generales establecidas para medicamentos y en particular, cuando sea pertinente, a las previstas para medicamentos inyectables. La calidad de estos productos se debe establecer teniendo en cuenta los criterios de pureza especificados en este capítulo y en las monografías correspondientes.

Pureza radionucleídica - Es la fracción porcentual de radiactividad del radionucleído declarado de una preparación radiofarmacéutica en relación a su radiactividad total. Las impurezas radionucleídicas relevantes se indican con sus límites, cuando son previsibles, en las monografías correspondientes.

Pureza radioquímica - Es la fracción porcentual de radiactividad del radionucleído declarado que está presente en la preparación radiofarmacéutica en la forma química declarada en relación a la radiactividad total de ese radionucleído. Las

impurezas radioquímicas relevantes se indican con sus límites, cuando son previsibles, en las monografías correspondientes.

Pureza química - Es la fracción porcentual de la masa de sustancia bajo la forma química indicada y la masa total de materia contenida en la fuente, exceptuando los excipientes y disolventes eventuales.

Biodistribución o Distribución biológica - A los efectos de este capítulo se entiende por Biodistribución como la fracción de la actividad administrada que se localiza en los diferentes tejidos, órganos o sistemas del organismo.

Portador isotópico - Se refiere a un isótopo estable del mismo elemento que el radionucleído correspondiente a la preparación radiofarmacéutica, presente o agregado a la preparación radiactiva en la misma forma química que se encuentra el radionucleído.

Actividad (A) - Es el número de núcleos radiactivos que desintegra en la unidad de tiempo. La unidad de actividad en el Sistema Internacional es 1 Becquerel o 1 Becquerelio (Bq) que corresponde a 1 desintegración por segundo.

Actividad específica - Es la radiactividad de un radionucleído por unidad de masa del elemento o de la forma química de la que forma parte.

Concentración de actividad - Es la radiactividad de un radionucleído por unidad de volumen o de masa de la preparación radiactiva.

Radiactividad total - Es la radiactividad del radionucleído expresado por unidad de la forma de la preparación radiofarmacéutica (frasco, cápsula, ampolla, generador, etc.).

Autorradiólisis - Es el proceso de descomposición de las moléculas de un sistema como consecuencia de la interacción directa o indirecta de las partículas y/o radiaciones emitidas por un nucleído radiactivo. Su importancia depende del tiempo y de la concentración de actividad.

Fuente radiactiva - Material radiactivo empleado por su propiedad de emitir radiaciones ionizantes.

Fuente sellada - Fuente radiactiva preparada para ser empleada de tal manera que la sustancia radiactiva no se encuentre en contacto directo con el medio ambiente. Está constituida por material radiactivo firmemente incorporado a materiales sólidos e inactivos o contenido en un envase sellado con resistencia suficiente para prevenir cualquier dispersión del material radiactivo y cualquier posibilidad de contaminación, en las condiciones normales de empleo.

Fuente no sellada - Fuente radiactiva prevista para ser empleada de tal manera que la sustancia radiactiva se encuentre en contacto directo con el medio ambiente. En una fuente no sellada, el material radiactivo es directamente accesible. Generalmente, se admite que pueda ser sometida a manipulaciones físicas o químicas, durante el transcurso de las cuales puede ser transferida de un envase a otro. Las preparaciones radiofarmacéuticas entran dentro de esta categoría.

Fecha de vencimiento (ver. *Consideraciones Generales*) - Se establece teniendo en cuenta las propiedades radiactivas del producto y los resultados de estudios de estabilidad de la forma farmacéutica final.

Fecha de elaboración - Fecha en la que ha finalizado el ciclo productivo de la preparación farmacéutica.

Fecha de ensayo - Fecha (y hora en caso de corresponder) en la que es efectivamente realizado el ensayo para radiactividad.

Fecha de calibración - Fecha y hora asignada en forma arbitraria en la que se calcula la radiactividad del producto para conveniencia del usuario.

MEDICION DE RADIATIVIDAD

Uno de los objetivos del control de calidad de las preparaciones radiofarmacéuticas consiste en determinar su actividad y controlar su pureza. Con tal objeto se emplean distintos detectores que basados en que las partículas o radiaciones que con ellos interactúan producen fenómenos que permiten medir la cantidad y eventualmente la energía de las partículas y radiaciones detectadas.

En los detectores se puede emplear la ionización de gases, la formación de pares electrón-vacante positiva en semiconductores o combinación de semiconductores o el fenómeno de centelleo tanto en sólidos como en líquidos. Cada uno de estos detectores tiene sus aplicaciones y posibilidades que deben ser conocidas por el profesional que los emplea. En todos los casos, como resultado de la interacción entre la partícula o radiación con el detector se producirán cargas que pueden hacerse evidentes registrando la actividad mediante pulsos (caídas de tensión sumamente breves) o mediante una diferencia de potencial a la salida del detector. Una u otra forma de registro depende del producto, de la resistencia, R , y de la capacidad, C , acoplada al detector. Cuando el producto RC , denominada constante de tiempo, es menor que el tiempo transcurrido entre la llegada de una partícula o radiación y la próxima, tendremos un circuito diferenciador y se obtiene un pulso por cada partícula o radiación detectada. La magnitud de la

caída de tensión de dicho pulso se denomina altura de pulso y es directamente proporcional a la energía de la partícula o radiación detectada. Es la forma más frecuente de detectar actividades y se emplea cuando la actividad de la muestra es constante durante el tiempo de medición. Cuando esto no es el caso, se aumenta el valor de RC de forma tal de no detectar cada pulso separadamente sino en forma acumulada. Tendremos entonces un circuito integrador, en el que a la salida del detector se genera una diferencia de potencial que es proporcional al número de pulsos por segundo y a la actividad de la muestra. En el caso particular de las cámaras de ionización es posible registrar directamente la intensidad de corriente que circula a través de ella, valor que, una vez llegado a saturación, es proporcional a la actividad de la muestra radiactiva. La pendiente inicial de la curva de intensidad en función de tiempo, $[(di/dt)_{t=0}]$, también es proporcional a dicha actividad.

Independientemente del método de su determinación, el número de pulsos por segundo será proporcional a la actividad. El factor de proporcionalidad es la eficiencia de medición del detector, E , que se expresa en pulsos o cuentas por desintegración.

La eficiencia de medición está determinada esencialmente por la eficiencia intrínseca (la tracción detectada por partícula que entra al volumen sensible del detector), la geometría (la fracción de partículas emitidas que llega al detector), el factor de corrección por el tiempo muerto del detector, el factor de corrección por retrodispersión, el factor de corrección por autoabsorción y autodispersión en la muestra. El tiempo muerto de un detector está relacionado con el tiempo que debe transcurrir luego de la detección de un pulso para que el detector pueda volver a detectar otro pulso. Si durante este tiempo muerto, τ , entra una partícula o radiación al detector éste no la detectará. En este caso se produce una pérdida por coincidencia. Cuanto mayor es τ , más importantes serán las pérdidas por coincidencia. Si se simboliza como n al número de pulsos por segundo corregidos por errores de coincidencia y como m al número de pulsos observado, se verifica que $t = [(1/m) - (1/n)]$. Si se prepara una serie de muestras de actividad creciente es posible determinar experimentalmente el tiempo muerto. Una vez conocido éste, la corrección de la actividad medida observada se realiza con la ecuación siguiente:

$$n = m / (1 - m\tau)$$

La retrodispersión se define como el reenfoque de una partícula o radiación emitida en una dirección que teóricamente no debiera ser detectada a una dirección en la que es detectada. En el caso de las partículas beta este reenfoque se realiza por choque con los electrones de los átomos que componen el soporte de la muestra radiactiva. En el caso de los fotones gamma la retrodispersión de fotones se debe a que generalmente el fotón proveniente del efecto Compton tiene una distribución angular de 180° , o sea es enfocado hacia la fuente emisora de fotones. La autoabsorción y autodispersión se refieren respectivamente a los fenómenos en función de los cuales una partícula o una radiación emitida en una fuente sólida o líquida es absorbida o dispersada por ésta.

Esta somera descripción de los factores que influyen en el número de pulsos registrados por segundo, demuestra que el cálculo teórico de la eficiencia es prácticamente imposible por lo que en general se la determina con *Patrones de referencia* debidamente certificados. En todos los casos, cuando se determina el número de pulsos por segundo bruto de una muestra radiactiva debe restársele el número de pulsos por segundo sin la muestra, denominado fondo. Esta diferencia será el número de pulsos por segundo *neto*. A los efectos de definir las condiciones óptimas de medición, conviene tener en cuenta, además de la eficiencia, un parámetro denominado cifra de mérito, que se define como E^2/fondo .

Las determinaciones de radiactividad varían estadísticamente debido fundamentalmente a la naturaleza aleatoria intrínseca del fenómeno radiactivo. La estadística que sigue la desintegración radiactiva es Binomial, que se aproxima a la de Poisson cuando la probabilidad es muy baja, tal como sucede en las desintegraciones radiactivas. En este caso, la desviación estándar de cada medición es igual a la raíz cuadrada del número de pulsos acumulados. Toda determinación de radiactividad deberá estar acompañada por la clara expresión del error de la determinación, dado por el valor medio ± 2 desviaciones estándar. La determinación repetida del número de pulsos por segundo de una muestra radiactiva dará valores acordes con una distribución normal. Las desviaciones de estos valores de una distribución normal se pueden determinar mediante la prueba del "chi" cuadrado (χ^2), que se emplea frecuentemente para comprobar el funcionamiento correcto de los equipos de detección de radiactividad.

Cámara de ionización - Es un aparato basado en la ionización de gases al que se le aplica un

campo eléctrico moderado a los fines de coleccionar en los electrodos correspondientes los electrones y los iones positivos formados en el fenómeno de ionización. La intensidad de corriente por unidad de actividad es una constante conocida como factor de calibración que es característica para cada nucleído en una cámara de ionización dada. Dicho factor viene determinado por el fabricante y una cámara calibrada en estas condiciones, conocida con el nombre de activímetro, puede emplearse para una determinación aproximada de la actividad de un determinado nucleído. Todo activímetro debe estar calibrado y certificado por la Autoridad Nuclear competente con la periodicidad que ésta determine. La actividad de cada preparación radiofarmacéutica debe ser determinada por el usuario antes de su administración al paciente, razón por la cual todo centro de medicina nuclear debe contar con un activímetro debidamente certificado y controlado con la periodicidad que la Autoridad Nuclear competente determine.

Contadores proporcionales - Son detectores basados en la ionización de gases, cuyo campo eléctrico es mayor que el de la cámara de ionización. Su aplicación rutinaria prácticamente está restringida a los radiocromatógrafos mono y bidimensionales. Estos son instrumentos que permiten la detección y ubicación de una o más zonas radiactivas en un radiocromatograma y además generalmente disponen de un integrador de áreas para determinar la actividad correspondiente a cada zona. Los contadores proporcionales requieren la renovación permanente del gas, que debe secarse previamente y que se ioniza cuando entra una partícula en el volumen sensible del detector, por lo cual se los suele denominar también contador de flujo.

Tubo Geiger Müller - El tubo Geiger Müller también se basa en la ionización de gases pero a diferencia de la cámara de ionización y de los contadores proporcionales, en estos detectores el campo eléctrico es tan alto que se produce la ionización de todo el gas contenido en el tubo detector, por lo que la altura del pulso primario será mayor pero será imposible determinar la naturaleza y energía de las partículas o radiaciones detectadas. Es un detector pequeño, generalmente portátil y que funciona con pilas. El registro de la actividad se realiza en forma auditiva y/o con un instrumento indicador analógico. Se emplea como monitor, es decir que, permite detectar cualitativamente la presencia de material radiactivo en un lugar determinado. Todo laboratorio que emplea material radiactivo debe contar por lo menos con un monitor para realizar este control.

Cristal de centelleo sólido de NaI(Tl).
Espectrometría gamma - Es un detector apto para determinar la actividad de nucleídos que emiten fotones gamma y/o X con buena eficiencia, permitiendo además estimar la energía de dichos fotones con regular precisión. El detector generalmente es un cristal de NaI activado con Talio para acelerar la desexcitación de los electrones del cristal y disminuir así la duración de los pulsos [NaI(Tl)]. En la práctica los fotones gamma emitidos por nucleídos empleados en preparaciones radiofarmacéuticas generalmente interactúan por efecto fotoeléctrico y Compton. 'En el primero el fotón entrega toda su energía a un electrón orbital, arrancándolo de su órbita. Este electrón a su vez excita a los electrones del cristal de centelleo, los que al desexcitarse emiten fotones visibles o del ultravioleta cercano, que inciden en el fotocátodo de un fotomultiplicador que amplifica el electrón primario producido en el fotocátodo. Una vez amplificado el pulso, su altura es proporcional a la energía del fotón gamma incidente. El factor de proporcionalidad depende únicamente de las condiciones electrónicas del espectrómetro y, en condiciones apropiadas, se mantiene constante en función del tiempo. Por lo tanto, la forma del espectro de altura de pulsos y la eficiencia de detección deben mantenerse constantes en función del tiempo. La proporcionalidad entre la altura del pulso debido al efecto fotoeléctrico y la energía del fotón debe controlarse mediante la calibración de energías, realizando un gráfico de la energía de los fotones gamma determinados en función de la base del discriminador en la que se observa la máxima actividad del pico producido por esta interacción. Sin embargo, en dicho pico se integran además los fotones de retrodispersión (ver más abajo), y los fotones de aniquilación cuando el radionucleído emite partículas beta positivas y/o emite fotones de suficiente energía como para formar pares electrón-positrón. Por este motivo el pico producido por todos estos efectos se denomina pico de energía plena (PEP). El mencionado control debe realizarse con la frecuencia establecida por la Autoridad Nuclear pertinente. De la misma manera debe controlarse periódicamente la eficiencia de medición con patrones apropiados y el cumplimiento de la prueba del χ^2 .

Dado que los fotones provenientes de una desintegración dada poseen la misma energía, la altura de los pulsos provenientes de la interacción de los fotones gamma por efecto fotoeléctrico tendrán aproximadamente la misma altura, con una distribución estadística más o menos precisa que depende de varios factores, entre ellos el tamaño del cristal. Estos pulsos provenientes de la interacción

de fotones por efecto fotoeléctrico generalmente forman, junto con lo ya mencionado anteriormente, el PEP, cuyo ancho a mitad de altura se define como resolución. Si dicha resolución es razonable, es posible estimar con alguna precisión la energía de los fotones gamma o X emitidos por el radionucleído.

En la interacción Compton un fotón incide en un electrón, de dicha interacción resulta un fotón de menor energía y diferente dirección de propagación, el electrón adquiere el resto de energía. La energía transferida es variable por lo que los electrones Compton tendrán una distribución continua de energía y el espectro de altura de pulsos también lo será. En el espectro de altura de pulsos aparecerá también un pico de retrodispersión, originado por la interacción Compton del fotón gamma con el entorno. En el caso de los emisores de positrones se observará un efecto fotoeléctrico correspondiente a 511 keV.

La determinación de la altura de los pulsos detectados se puede realizar mediante un discriminador espectrométrico, cuya función consiste en dejar pasar solamente aquellos pulsos cuya altura está comprendida entre un valor base (base del discriminador) y un valor techo. La diferencia de tensión entre la base y el techo del discriminador se denomina ancho de ventana o canal. Cuando este canal es muy pequeño y deja pasar los pulsos cuya altura está comprendida por ej., entre un valor dado y un 1 % del discriminador total, el número de pulsos por segundo registrado en cada canal será un espectro de altura de pulsos y permitirá determinar la ubicación del fotopico, la de la distribución Compton y la del pico de retrodispersión. Sin embargo, cuando el espectrómetro de centelleo sólido se emplea para medir el número de pulsos por segundo en condiciones óptimas de eficiencia, se debe abrir el canal o ventana de forma tal que abarque por ej., la totalidad del pico de energía plena. Otra posibilidad consiste en eliminar el techo y efectuar la determinación con un espectrómetro simple, en cuyo caso, si bien puede aumentar algo la eficiencia, en general suele disminuir la cifra de mérito. La altura de pulsos también se puede analizar con un convertidor analógico digital asociado a un espectrómetro multicanal.

En los casos en que la energía de los fotones de una probable impureza radionucleídica es mucho mayor que la de los fotones del radionucleído de interés, la espectrometría gamma con un cristal de NaI(Tl) permite su detección con una razonable probabilidad.

Detectores de semiconductores - Son detectores de estado sólido para la detección de partículas y

radiaciones pero con una excelente resolución de energías, por ello son insustituibles para la determinación de energías de partículas o radiaciones con la precisión apropiada para establecer fehacientemente la pureza radionucleídica de una muestra radiactiva dada.

Los semiconductores son sustancias como el silicio (Si) o el germanio (Ge), que poseen cuatro electrones en su órbita de valencia. Cuando el átomo integra un sólido cristalino esos electrones poseen una energía intermedia entre la de un metal y un aislante para pasar a la banda de conducción. Si una partícula o una radiación interactúa con un semiconductor se produce su ionización al igual que en el caso de un gas. Sin embargo, dado que los semiconductores son sólidos, la energía que entrega la partícula o radiación arranca electrones de los átomos del semiconductor, los que pasan a la banda de conducción; la energía necesaria para ello es aproximadamente la décima parte de la que se requiere para formar un par de iones en un gas. En la órbita electrónica de los átomos del retículo cristalino de los cuales la partícula o radiación arrancó un electrón, quedará un *agujero* o *vacante* positiva. Los electrones y las *vacantes* se desplazan en un campo eléctrico con la misma velocidad. Por lo tanto el número de pares electrón-agujero positivo es unas diez veces el número de pares de iones formados en gases y además la velocidad de formación de los pulsos es sustancialmente mayor. Por todo ello, la precisión de la proporcionalidad entre la altura del pulso obtenido y la energía de la partícula o radiación incidente es mucho mayor que en la de cualquier otro aparato de detección de radiactividad.

Cierto tipo de detectores de silicio (de ion implantado) permiten determinar las energías de partículas alfa y beta con alta precisión. Otra clase de detectores del mismo semiconductor permite realizar espectrometría de alta resolución de fotones de baja energía (rayos X y gamma hasta 100 keV aproximadamente). Para realizar espectrometría gamma de mayores energías se emplean detectores de GeHP (hiperpuro).

Dado que la energía que requiere el electrón en estos cristales para pasar a la banda de conducción es muy baja, se los debe mantener permanentemente a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, para lo cual están montados sobre una barra de cobre que está sumergida en su mayor extensión en nitrógeno líquido contenido en un crióstato. Cuando se emplean estos detectores es imprescindible conectarlos con un analizador espectrométrico multicanal de varios miles de canales para poder apreciar en el registro la precisión de la respuesta del detector.

Espectrometría de centelleo líquido - Este tipo de detector es fundamentalmente empleado para la determinación de actividades de emisores de partículas beta de energía media o baja y partículas alfa.

En el caso de partículas beta de alta energía es posible emplear como alternativa la determinación de actividad por medición de la radiación de *erenkov* en el mismo espectrómetro. En este último caso es suficiente disolver el radionucleído en agua.

En la espectrometría de centelleo se prepara una solución centelleadora en la que la muestra radiactiva se encuentra en íntimo contacto con un solvente apropiado y uno o más sustancias que tienen la propiedad de emitir fotones cuando se desexcitan luego de una excitación (fluorescencia). La energía de la partícula beta se transfiere al solvente y luego a la o las sustancias centelleadoras, de manera tal que el número de fotones que llega al fotomultiplicador también es proporcional a la energía de la partícula beta que les dio origen. Sin embargo, dado que en este caso la muestra radiactiva y el centelleador forman un conjunto, las eventuales diferencias de las propiedades físicas, químicas o fisicoquímicas en cada una de las muestras analizadas puede variar en forma significativa. Por esta razón debe admitirse que en este tipo de detectores el factor de proporcionalidad entre la altura del pulso y la energía de la partícula beta varía de muestra en muestra. Esto implica que cada muestra tendrá su propio espectro de altura de pulsos y su eficiencia. La eficiencia de la cadena de transferencia de energía de la partícula beta al solvente, a la o las sustancias centelleadoras y finalmente la salida de los fotones del recipiente que contiene la solución centelleadora para incidir en el fotocátodo del fotomultiplicador, puede disminuir por varios factores, como ser, entre otros, la presencia de sustancias químicas, coloreadas o no, la falta de homogeneidad de la solución centelleadora y aún problemas en las paredes del recipiente que contiene la solución centelleadora. Se denomina *quenching* o *extinción* al fenómeno por el cual disminuye la eficiencia de esta cadena de transferencia de energía. Un aumento de *quenching* trae como consecuencia el corrimiento del espectro de altura de pulsos a alturas menores (hacia la izquierda) y una disminución de la eficiencia de medición. Por estos motivos, el resultado de una medición de radiactividad con estos aparatos solamente es válido si se expresa el resultado en Bq.

Determinación de la actividad - La determinación experimental de la actividad con detectores distintos a los ya mencionados en este capítulo puede ser necesaria en los centros de

producción de radioisótopos. Al respecto cabe mencionar que tanto el activímetro como los espectrómetros de centelleo líquido permiten determinar A pero requieren su calibración con patrones debidamente calibrados y certificados.

En general existen dos tipos de métodos para determinar A sin recurrir a patrones previamente calibrados. Uno de ellos es el método de coincidencia, que en general, puede ser beta-gamma o gamma-gamma o aún más complejo y suele requerir aparatos sofisticados y un cabal conocimiento del esquema de desintegración del nucleído en cuestión.

Otro método para determinar la actividad de emisores de partículas cargadas sin recurrir a patrones previamente calibrados es el que hace uso de los detectores 4π , que son dos contadores proporcionales iguales enfrentados y unidos entre sí. La muestra es una microgota de volumen conocido depositada en el centro de la esfera formada por ambos contadores sobre una folia ultradelgada. Dado que la geometría y todos los demás factores que modifican la eficiencia de medición son iguales a 1, la actividad medida expresada en pulsos por segundo será igual al número de partículas emitidas por segundo. Si en la desintegración de un núcleo se emite una sola partícula, dicho resultado será igual a A. El conocimiento del esquema de desintegración es esencial para la aplicación de este método, que es conceptualmente simple pero requiere una considerable habilidad experimental.

CRITERIOS GENERALES PARA EL CONTROL DE CALIDAD DE LAS PREPARACIONES RADIOFARMACEUTICAS

Los ensayos específicos que deben satisfacer cada preparación radiofarmacéutica se describen en la monografía correspondiente. A continuación se describen los ensayos generales.

Pureza radionucleídica - La pureza radionucleídica de una preparación radiofarmacéutica se determina verificando la identidad de todos los radionucleídos presentes y su actividad (A). Esta última debe ser informada para un tiempo determinado, la precisión de esta indicación depende del período de semidesintegración del radionucleído en cuestión, debiendo indicar, día, hora y eventualmente minutos. El método de detección a emplear dependerá del radionucleído a evaluar.

Debido a que cada radionucleído posee su propio período de semidesintegración, la pureza radionucleídica de una preparación radiofarmacéutica dada puede sufrir cambios desde

el momento de su producción. El requerimiento de pureza radionucleídica establecido en cada caso debe cumplirse a lo largo de todo el período de validez de cada preparación radiofarmacéutica. Cuando el período de semidesintegración del radionucleído es muy corto, a menudo resulta difícil o imposible efectuar la determinación de la pureza radionucleídica antes de la liberación de la preparación radiofarmacéutica a los centros de empleo. En este caso, la determinación de esta pureza constituye un valioso control de proceso.

Pureza radioquímica - La determinación de la pureza radioquímica requiere la separación de las diferentes sustancias que contienen el radionucleído y la estimación de la fracción de radiactividad asociada con la sustancia declarada. Las impurezas radioquímicas pueden originarse por uno o más de los siguientes factores: problemas en la producción del radionucleído; problemas en los subsiguientes procedimientos radioquímicos; problemas derivados de defectuosos procedimientos de separación o purificación durante la elaboración de la preparación radiofarmacéutica y la aparición de impurezas radioquímicas durante el almacenamiento de la preparación radiofarmacéutica, especialmente aquéllas debidas a los procesos de autorradiólisis.

El requerimiento de la pureza radioquímica de cada preparación radiofarmacéutica debe mantenerse hasta la fecha de vencimiento del producto. Para su determinación puede emplearse cualquier procedimiento analítico de separación. En la práctica los más usuales son las cromatografías en papel y en placa delgada (ver 100. *Cromatografía*) y eventualmente la electroforesis (ver 300. *Electroforesis*). Debe cuidarse que los pulsos por segundo permitan ser determinados sin cometer errores por coincidencia apreciables. En algunos casos puede ser necesario agregar un portador isotópico. Las posiciones en que se encuentra radiactividad y su intensidad se determinan por autorradiografía y posterior densitometría de la placa revelada con metodología normalizada o por determinación de los pulsos por segundo a lo largo de toda la corrida, mediante un radiocromatógrafo mono o bidimensional con accesorios apropiados. En la práctica se cortan las zonas de interés de acuerdo a posiciones predeterminadas en la puesta a punto del método y se determinan los pulsos por segundo con un detector apropiado. Las relaciones entre los pulsos por segundo determinados provee la relación entre las concentraciones de las distintas sustancias radiactivas que componen la preparación radiofarmacéutica.

Actividad específica y concentración de actividad - El cálculo de la actividad específica puede efectuarse mediante la división de la concentración de actividad por la concentración de la sustancia en cuestión, en tanto la pureza radionucleídica y la pureza radioquímica hayan sido previamente certificadas. La actividad específica y la concentración de actividad cambian en función del tiempo, por lo que deben ser establecidas para un determinado tiempo, especificando la fecha, las horas y minutos, de acuerdo con el período de semidesintegración del radionucleído.

Pureza química - La constatación de la pureza química de la preparación radiofarmacéutica requiere la determinación cuantitativa de cada una de las especies químicas que contiene la preparación y deben ser especificadas en la monografía correspondiente junto con el método que debe emplearse a tal fin.

Controles Físico-Químicos - Además de la determinación de pH, debe controlarse el aspecto físico de un radiofármaco en el momento de la producción, recepción, luego de la marcación (cuando corresponda) y antes de ser administrado.

Se recomienda efectuar la observación directa del producto marcado interponiendo un vidrio plomado o indirectamente a través de un espejo. Cualquier desviación del color y claridad de una solución debe ser analizada, ya que puede reflejar cambios en el radiofármaco que podrían alterar eventualmente su comportamiento biológico.

El tamaño de las partículas coloidales debe determinarse mediante los métodos físicos indicados en cada caso en <290>. *Distribución de tamaño de partículas en polvos*. El control de su número y tamaño en macroagregados y microsferas se efectuará en un microscopio óptico con un ocular micrométrico.

Controles biológicos

a) Biodistribución

Toda preparación radiofarmacéutica que se emplea con fines médicos tanto para estudios diagnósticos como para fines terapéuticos debe localizarse preferentemente en el órgano o sistema cuya forma, función o metabolismo se desea evaluar.

Por ello es imprescindible efectuar un prolijo estudio de biodistribución en el desarrollo de toda preparación radiofarmacéutica.

La monografía correspondiente provee los detalles para la ejecución del estudio y los valores límites que deben cumplirse para cada preparación radiofarmacéutica. Una distribución biológica acorde con los requerimientos, asegurará en principio una distribución de las sustancias radiactivas en el ser humano tal que se concentre

una radiactividad mayor que un cierto mínimo en el órgano blanco y una actividad menor que un cierto máximo en las áreas que no son blanco.

El estudio deberá desarrollarse según: a cada uno de tres animales se les administra por la vía que corresponda la preparación a ensayar. Si es relevante a los fines del estudio, la especie, sexo, cepa y masa y/o edad de los animales se especifican en la monografía correspondiente. La administración de la preparación radiofarmacéutica se realiza igual que en el ser humano. Es conveniente establecer una relación apropiada entre la actividad administrada al animal y al ser humano.

Una vez administrada la preparación se ubica a cada animal en una jaula separada, si es necesario, colectando orina y heces y previniendo la contaminación de la superficie corporal del animal. Una vez transcurrido el tiempo especificado, los animales se sacrifican por un método apropiado, que, en el caso de requerirlo así las especificaciones de la monografía correspondiente, debe permitir recolectar una cantidad suficiente de sangre. Se disecan los órganos y sistemas especificados, se los lava y seca y, si así está establecido se determina su masa para poder calcular la concentración de actividad. Se determina la radiactividad de los órganos y sistemas separados, respetando la geometría de la medición en cada caso. La distribución biológica se calcula según los casos, relacionando la actividad de cada órgano o sistema con la actividad inyectada o con la suma de las actividades de los órganos y del remanente del animal. En algunos casos puede ser conveniente determinar también la concentración de actividad de los órganos.

En general se admite que una preparación radiofarmacéutica cumple con los requisitos de distribución biológica si en dos de los tres animales ensayados se obtienen resultados acordes a los criterios especificados. En las preparaciones radiofarmacéuticas de radionucleídos con período de semidesintegración corto o muy corto, la autorización de liberación de los lotes para su empleo es generalmente realizada antes de la obtención de los resultados del ensayo. En este último caso, el ensayo constituye un control de proceso.

b) Endotoxinas bacterianas o piretógenos.

Para ciertas preparaciones radiofarmacéuticas, se encuentra indicado el ensayo de endotoxinas bacterianas. Este ensayo debe realizarse conforme a lo establecido en <330>. *Ensayo de endotoxinas bacterianas*. El límite de endotoxinas bacterianas para cada preparación se encuentra especificado en la monografía correspondiente.

Si la preparación radiofarmacéutica contiene sustancias que provocan interferencias con este ensayo de tal forma que inhiban o activen la reacción y no resulte posible eliminar dichos factores, será necesario realizar el ensayo de pirogénos, según se establece en <340>. *Ensayo de pirogénos*. El volumen y la actividad que se inyecten al conejo será calculada teniendo en cuenta los valores de volumen y actividad que se inyectan en el humano, ateniéndose a las normas nacionales y/o internacionales de radioprotección.

Cuando el período de semidesintegración del radionucleído presente en la preparación sea corto, la autorización de liberación de los lotes para su empleo es generalmente realizada antes de la obtención de los resultados del ensayo. En este último caso, el ensayo constituye un control de proceso. Se aconseja por lo tanto, comprobar previamente la ausencia de pirogénos en los componentes empleados en las preparaciones radiofarmacéuticas.

c) Toxicidad.

En el desarrollo de una nueva preparación radiofarmacéutica es necesario considerar el balance riesgo-beneficio que resulta de su empleo en seres humanos. Uno de los riesgos está relacionado con la toxicidad. Cuando corresponda, la misma será establecida de acuerdo a las normas fijadas en <360>. *Ensayo de toxicidad anormal* debiendo considerarse el volumen a inyectar determinado en la monografía correspondiente.

Controles microbiológicos-Esterilidad - Las preparaciones radiofarmacéuticas que se administran por vía parenteral deben ser elaboradas empleando precauciones que eliminen la contaminación microbiana y aseguren su esterilidad. El ensayo de esterilidad debe realizarse según lo establecido en <370>. *Ensayo de esterilidad*. No obstante ello, la realización del ensayo de esterilidad de preparaciones radiofarmacéuticas puede presentar dificultades especiales debidas, por ej., al pequeño tamaño de los lotes y a los riesgos de irradiación para el analista.

Por otra parte, y debido a que el período de semidesintegración de la mayoría de los radionucleídos empleados en medicina nuclear es mucho más corto que el tiempo que demanda la finalización del ensayo, no siempre es posible esperar el resultado del mismo antes de autorizar la liberación para uso del lote. El ensayo constituye entonces un control de la elaboración. Por lo expuesto, la validación del proceso de elaboración empleado resulta crítica en estos casos.

Cuando la preparación radiofarmacéutica contenga un agente bacteriostático, la naturaleza y

concentración del mismo deben estar especificadas en la monografía correspondiente e indicada en el rótulo del envase.

Rotulado - El envase de la preparación radiofarmacéutica deberá contener, además de lo establecido para rotulado de medicamentos, la siguiente información: volumen, actividad total y/o concentración de actividad con indicación de día y hora, día y hora límite de empleo de la preparación radiofarmacéutica, nombre y concentración del agente bacteriostático o estabilizador agregado, vía de administración, si fuera necesario, especificar cualquier condición especial de almacenamiento y las indicaciones correspondientes a material radiactivo, de acuerdo a las normas pertinentes fijadas por la Autoridad Nuclear competente.

Almacenamiento - Las preparaciones radiofarmacéuticas deben ser almacenadas en envases herméticos, con el blindaje apropiado a las normas de radioprotección nacionales y/o internacionales vigentes. En el caso de preparaciones radiofarmacéuticas con radionucleídos de períodos de semidesintegración medianos o largos, durante su almacenamiento los envases y las soluciones pueden colorearse debido a la radiación emitida.

Período de vida útil - El período de vida útil de una preparación radiofarmacéutica expresado en días, horas, etc., debe estar claramente indicado en el rótulo del envase. Para las preparaciones radiofarmacéuticas marcadas con radionucleídos cuyos períodos de semidesintegración no exceden los 60 días, el intervalo de empleo no puede superar tres períodos de semidesintegración. Para los radionucleídos con períodos de semidesintegración más largos, ese intervalo no debe exceder los 6 meses.

Los factores que determinan estos límites incluyen la disminución de la radiactividad del radionucleído que obliga a administrar una masa mayor de sustancia a medida que transcurre el tiempo.

El período de vida útil de los juegos de reactivos (kits) se determinará de acuerdo a las normas generales establecidas para medicamentos.

Por otra parte, la descomposición por autorradiólisis que depende fuertemente del tiempo y puede alterar la pureza radioquímica de la preparación, juega un papel importante en la fijación de estos límites que serán especificados en la monografía correspondiente.

1120. PRODUCTOS BIOTECNOLÓGICOS

INTRODUCCION

En su aplicación a la industria farmacéutica, la Biotecnología se refiere al empleo de organismos vivos para la obtención de biofármacos. El objetivo de este documento está dirigido al empleo de la llamada Biotecnología de ADN recombinante, apoyada fundamentalmente en dos grandes avances tecnológicos.

Uno de ellos está representado por el empleo de las técnicas de ADN recombinante, ADNr (ingeniería genética), las cuales permiten transplantar genes de una especie en otra especie distinta. De esta manera, genes que codifican para la expresión de proteínas (generalmente humanas) pueden ser insertados en células hospedadoras procariotas o eucariotas, de tal forma que la célula hospedadora exprese grandes cantidades de la proteína deseada.

El otro avance se refiere al desarrollo de las técnicas que permiten obtener y emplear anticuerpos monoclonales: tecnología de hibridoma y líneas celulares transformadas.

Otras tecnologías, como las que permiten obtener plantas y animales transgénicos, la terapia genética y la tecnología de ADN antisentido, no están contempladas en este capítulo. El esquema regulatorio general para productos biotecnológicos es el mismo que para productos del mismo tipo obtenidos por métodos tradicionales, con el agregado de requerimientos específicos propios de su origen biotecnológico.

La finalidad de este capítulo es considerar los criterios para la elaboración y control de productos obtenidos a través de técnicas biotecnológicas.

CONSIDERACIONES GENERALES

El progreso de la genética molecular (biología molecular) y de la química de los ácidos nucleicos hizo posible identificar genes que codifican para proteínas biológicamente activas. Estos avances han permitido analizar esos genes en gran detalle y transferirlos de un organismo a otro a fin de obtener la expresión de los mismos en condiciones reguladas mediante una síntesis suficiente de los polipéptidos correspondientes.

Un gen se caracteriza por una secuencia particular de nucleótidos en la molécula de ADN. Cuando se separan las dos cadenas, cada una de ellas forma un molde para la síntesis de una copia complementaria y constituye un mecanismo para la reproducción fiel de los genes, conservando al mismo tiempo la secuencia lineal de los cuatro mononucleótidos que constituyen los componentes

básicos. El proceso de decodificación de esta información y la síntesis del producto recombinante se cumplen en dos etapas: 1) la transcripción de la cadena del ADN que lleva la información genética en forma de ARN mensajero, ARNm y 2) la traducción de la información que porta la molécula de ARNm a un polipéptido.

Los avances científicos han permitido el empleo industrial de microorganismos o células transformadas mediante la inserción de un gen heterólogo, para la producción de proteínas de interés en diversos campos y en especial en el área de la salud humana.

Esta tecnología permite no sólo reproducir proteínas idénticas a las naturales, sino también elaborar proteínas modificadas y aún totalmente nuevas, mediante las alteraciones correspondientes en los genes a insertar. Es decir, proporciona la posibilidad de manejar este potencial para lograr moléculas iguales o más ventajosas que las naturales para una determinada función, como por ej., mayor actividad biológica, mayor vida media, menos efectos colaterales, etc. Sin embargo, hay que tener en cuenta que tales modificaciones estructurales con respecto a la proteína natural pueden potencialmente despertar, en el paciente tratado, una respuesta inmune o nuevos efectos adversos que invalidarían su aplicación. Cabe aclarar que en caso de obtenerse un producto ventajoso dentro de esta categoría (línea) éste deberá ser evaluado en función de una relación beneficio-riesgo.

Un gen de origen natural, un ADN copia, ADNc, o una secuencia de nucleótidos obtenida por síntesis, que codifique para un determinado producto, puede propagarse insertándose en un vector apropiado. Se emplean con este fin enzimas muy específicas denominadas endonucleasas de restricción (que causan la segmentación del ADN del vector en sitios preestablecidos) y ligasas (que unen el ADN insertado al vector), luego de lo cual el vector se introduce en un organismo hospedador apropiado.

El siguiente paso corresponde a la incorporación del vector modificado en la célula hospedadora elegida, siguiendo la selección de los clones que han incorporado la información genética apropiada para la elaboración del producto.

La etapa siguiente se refiere al desarrollo de un sistema de propagación en cultivo masivo, en forma tal de obtener una expresión eficiente del producto recombinante deseado.

La elección del organismo hospedador, sea éste procariota (bacteria) o eucariota (células de mamíferos, levaduras), es la resultante de diversos factores que abarcan desde la complejidad de la molécula a producir hasta la economía y eficiencia del proceso de fermentación o cultivo celular.

El profundo conocimiento sobre la biología molecular de *Escherichia coli*, hizo que inicialmente fuese elegido este microorganismo en diversos sistemas de producción en biotecnología.

Actualmente también existen en el mercado diversos productos obtenidos por medio de cultivos de células eucariotas modificadas genéticamente en gran escala, para diversos procesos biotecnológicos productivos.

Por lo tanto, podemos agrupar los procesos biotecnológicos de acuerdo al organismo productor seleccionado en:

A - Sistemas biotecnológicos procarióticos (bacterias).

B - Sistemas biotecnológicos eucarióticos (células de mamíferos y levaduras).

Los factores que influyen en la expresión de genes extraños introducidos en un nuevo hospedador son múltiples y muy complejos. Por lo tanto, los procesos de este tipo deberán estar diseñados para garantizar y controlar la estabilidad de toda la construcción genética insertada a fin de asegurar la homogeneidad y uniformidad de la proteína producida por el hospedador a lo largo de múltiples generaciones.

A - Sistemas biotecnológicos procarióticos (bacterias)

El plásmido recombinante es el elemento clave de esta tecnología. Contiene el gen previamente aislado que codifica para la proteína de interés. Los plásmidos están formados por ADN bacteriano, son circulares, pequeños, extracromosomales y se autorreplican.

Básicamente, esta tecnología involucra el clivado enzimático específico del plásmido bacteriano y la posterior inserción del gen de interés. De esta manera se obtiene el plásmido recombinante que al ser introducido en el microorganismo hospedador, mediante el proceso de transformación le confiere la propiedad de dirigir u orientar la síntesis de la proteína deseada.

La expresión de proteínas recombinantes en bacterias ofrece tanto ventajas como inconvenientes. Como se mencionó anteriormente la biología y fisiología bacterianas se conocen en profundidad y existe amplia documentación que demuestra el seguro y eficaz empleo de bacterias como organismo hospedador.

Los productos procedentes de genes heterólogos expresados en hospedadores extraños pueden diferir de sus equivalentes naturales desde el punto de vista estructural, biológico o inmunológico. Esas diferencias pueden surgir ya sea en el nivel genético, con posterioridad a la traducción o a la transcripción o durante el proceso de fermentación y de purificación.

Por lo tanto, estos sistemas poseen limitaciones, algunas de las cuales se enumeran a continuación:

a) La proteína biosintetizada en el interior de la célula se encuentra en un estado químicamente reducido, sin la presencia de los correspondientes puentes disulfuro que estabilizan la estructura espacial de la molécula nativa.

Es necesario efectuar *in vitro*, en condiciones perfectamente definidas y controladas, la oxidación que posibilite la formación de los puentes disulfuro intramoleculares y en consecuencia la estabilización de la estructura molecular terciaria.

De formarse sustancias no deseadas (oligómeros, puentes disulfuro intermoleculares y/o erróneos, etc.) las mismas deberán ser eliminadas en el proceso de purificación. Además es fundamental controlar la presencia de estas formas moleculares en el producto final.

b) Todas las proteínas producidas por bacterias comienzan su secuencia de aminoácidos con un residuo de *N*-formilmetionina, el que no siempre es eliminado por los sistemas enzimáticos específicos (metilamino peptidasa-MAP), por lo que la proteína resultante podría iniciar su secuencia con esta modificación respecto a la proteína nativa.

Los avances en la biología molecular de la *Escherichia coli* han conducido a la obtención de la expresión de proteínas en el espacio periplásmico de la bacteria. Esta forma de expresión permite la remoción de la metionina *N*-terminal no deseada y la obtención de proteínas en mayor grado de pureza.

c) Durante el proceso de fermentación bacteriana y en la etapa de aislamiento y purificación posterior (*downstream*) debe controlarse la acción proteolítica de exo y endo-proteasas bacterianas, a fin de evitar la degradación de la proteína recombinante.

d) Es necesario controlar la acción de las deamidases bacterianas que al hidrolizar

residuos de glutamina o asparagina dan lugar a la formación de isoformas ácidas, con el correspondiente cambio de estos aminoácidos a ácido glutámico y ácido aspártico, respectivamente.

- e) Como las endotoxinas son lipopolisacáridos producidos por microorganismos Gram (-) es necesario eliminar durante la purificación importantes cantidades de estas sustancias.
- f) Las bacterias carecen de sistemas enzimáticos capaces de glicosilar proteínas, pudiendo en determinadas ocasiones llegar a dar como resultado moléculas de baja actividad biológica *in vivo*, menor solubilidad, baja vida media y alta antigenicidad. Por lo tanto, esto deberá tenerse en cuenta si se desea producir una proteína que sea naturalmente glicosilada y en la cual su patrón de glicosilación esté comprometido con las características farmacológicas de la proteína.

B - Sistemas biotecnológicos eucarióticos (células de mamíferos y levaduras)

Líneas celulares de mamíferos - Se ha establecido en la industria farmacéutica el empleo de cultivo de células de mamíferos para la producción de vacunas y se cuenta con la información necesaria para asegurar la adecuación de estos productos en medicina humana. Como extensión de esta tecnología se desarrollaron procesos productivos basados en el cultivo masivo de células transformadas de mamíferos, tratando de dar respuesta a las limitaciones productivas de las bacterias.

Las células eucariotas tienen la capacidad de glicosilar las proteínas que sintetizan, las que usualmente son exportadas al medio con sus estructuras primaria, secundaria y terciaria similares a las proteínas nativas humanas.

Basado en la preocupación existente por la potencial presencia de oncogenes y posibles contaminaciones virales y retrovirales, es necesario contar con líneas inmortales, feno y genotípicamente caracterizadas que aseguren la estabilidad del proceso, además del exhaustivo análisis y caracterización de los bancos maestros celulares que permitan así, en su conjunto, minimizar este riesgo potencial.

Otras células eucariotas - Es posible también lograr muchas de las ventajas conformacionales y post-transcripcionales descritas empleando otras células eucariotas, como levaduras (como por ej.,

Saccharomyces cerevisiae) y líneas originarias de insectos.

Estos sistemas ofrecen varias ventajas teóricas con respecto a bacterias, a la vez que generan nuevas preocupaciones. Por ej., el patrón de glicosilación es diferente al de las células de mamífero, pudiendo en determinadas ocasiones llegar a dar como resultado moléculas de baja actividad biológica *in vivo*, menor solubilidad, baja vida media y alta antigenicidad. Por lo tanto, esto deberá tenerse en cuenta si se desea producir una proteína que sea naturalmente glicosilada y en la cual su patrón de glicosilación esté comprometido con las características farmacológicas de la proteína.

Producción de anticuerpos monoclonales - Los anticuerpos monoclonales pueden ser producidos en dos formas, según sea su origen murino o humano.

En el caso de los anticuerpos monoclonales murinos, se fusionan linfocitos provenientes del bazo de ratones previamente inmunizados, con una línea celular inmortal de ratón (mieloma). Los hibridomas así obtenidos son posteriormente seleccionados y clonados.

Para la producción de anticuerpos monoclonales humanos se seleccionan por su especificidad inmunológica linfocitos B humanos, los que son inmortalizados.

La célula resultante fusionada o transformada podrá proliferar indefinidamente en un biorreactor o cultivo celular o podrá ser inyectada en ratones a partir de cuyo líquido ascítico se podrá aislar la proteína.

En todos estos casos los anticuerpos deberán ser tratados como productos obtenidos en células de mamíferos.

En algunas circunstancias se puede recurrir a la humanización de anticuerpos murinos y los mismos deberán ser considerados de acuerdo al sistema de producción como productos recombinantes.

Biofármacos producidos por recombinación de ADN

La principal diferencia entre los productos farmacéuticos tradicionales y los biotecnológicos radica en que estos últimos son producidos por organismos vivos modificados genéticamente. En esta categoría se incluyen tanto las proteínas o polipéptidos derivados de ADN recombinante, como así también los anticuerpos monoclonales. Los productos biotecnológicos se diferencian de aquellas proteínas y polipéptidos obtenidos de fuentes naturales o resultantes de la síntesis química únicamente por su método de obtención.

En las etapas de elaboración estrictamente galénicas todos los productos farmacéuticos,

inclusive los de origen biotecnológico, comparten plenamente los mismos requisitos básicos para la validación de procesos, el control ambiental, la elaboración aséptica y los sistemas de control de calidad. Sin embargo, los sistemas biotecnológicos presentan con frecuencia un mayor grado de complejidad en las etapas de elaboración propiamente dicha.

Los productos derivados del ADN recombinante pueden contener contaminantes potencialmente perjudiciales que normalmente no se hallan presentes en los equivalentes preparados con los métodos ordinarios y en consecuencia el proceso de purificación debe ser capaz de eliminarlos. Son ejemplos de ello las endotoxinas en productos expresados en células bacterianas, y el ADN celular y virus contaminantes en los derivados de células animales.

Preocupa especialmente la contaminación con ácido nucleico procedente de células transformadas de mamíferos debido a la posible presencia de ADN potencialmente oncogénico. El procedimiento de elaboración elegido condicionará la naturaleza y el nivel de los posibles contaminantes.

La posible variabilidad del sistema durante la elaboración puede llevar a modificaciones que favorezcan la expresión de otros genes en el sistema hospedador-vector o que produzcan menor rendimiento del producto o diferencias cuantitativas y cualitativas de las impurezas presentes. La producción de cultivos continuos es objeto de consideraciones similares.

Es indispensable, por lo tanto, contar con procedimientos que aseguren la uniformidad de las condiciones de elaboración y del producto final.

A modo de generalización, los procesos de elaboración biotecnológicos incluyen las siguientes etapas:

Etapas de expansión celular (upstream) - Consiste en la obtención de una gran masa del organismo elaborador a través de los procesos de fermentación bacteriana o cultivo celular masivo, al fin de los cuales se cuenta con la biomolécula impura y en condiciones de pH, fuerza iónica, estado de agregación, etc., que deben ser modificadas para su posterior procesamiento.

Purificación (downstream) - Encadenamiento lógico de procesos que, partiendo del material anterior, debe producir una molécula del grado de pureza requerido, conservando plenamente su actividad biológica y terapéutica. El proceso de *downstream* debe asegurar que el producto cumpla todos los criterios de aceptabilidad para ser empleado como principio activo.

Es posible agrupar los diferentes pasos que conforman el *downstream* en dos grandes etapas: *Recuperación y Purificación*.

Recuperación - Mediante el empleo de diversas metodologías (micro y ultrafiltración, centrifugación, precipitación salina o con solventes, diafiltración, rotura celular, extracción en dos fases o con solventes, etc.), el material proveniente del proceso de *upstream* es llevado a condiciones previamente definidas, obteniéndose la materia prima cruda (principio activo de baja pureza) para su posterior purificación.

Purificación - La materia prima cruda se purifica, mediante diversos métodos, como por ej., cromatografía líquida de inmuno-afinidad, intercambio iónico, exclusión molecular, interacción hidrofóbica, enfoque y en fase reversa. El material resultante puede ser denominado principio activo puro o materia prima pura.

Acondicionamiento - Como ocurre con cualquier principio activo, la materia prima pura debe ser acondicionada para lograr un producto semielaborado (granel) que respete todos los requisitos correspondientes a un producto farmacéutico.

ALCANCE DE LAS CONSIDERACIONES

Estas consideraciones abarcan las siguientes áreas:

1. Los materiales iniciales, incluidos los datos básicos de la célula hospedadora y del origen, naturaleza y secuencia del gen empleado en la producción.

2. Su proceso de elaboración.

3. La materia prima pura.

Los productos derivados del ADN recombinante y de la tecnología de hibridoma (anticuerpos monoclonales) se consideran similares a las sustancias biológicas producidas por los métodos tradicionales, como las vacunas bacterianas y virales, en las que el control apropiado de los materiales iniciales y del procedimiento de fabricación es tan necesario como el del producto mismo.

Estas consideraciones, por tanto; ponen énfasis en los controles durante la preparación para asegurar la inocuidad y eficacia del producto y en la caracterización integral del producto.

También se considera esencial la validación del proceso de fabricación, así como la del procedimiento de purificación para eliminar los materiales no deseados.

Se deben tener en cuenta las normas generales para el control de la calidad de los productos biotecnológicos, por tanto, habrá que prestar especial atención a la calidad de todos los reactivos

empleados en la elaboración, incluidos los componentes de los medios de fermentación y cultivo. Si se emplean aditivos de origen animal (como por ej., suero fetal bovino) se debe demostrar que están exentos de agentes adventicios.

No es conveniente emplear en la producción ningún agente que se sabe provoca reacciones alérgicas en ciertos individuos, como penicilina u otros antibióticos betalactámicos.

Los productos biotecnológicos deben satisfacer las normas generales para el control de la calidad de los productos biológicos, como ensayos de actividad, toxicidad, pirogénos, estabilidad y esterilidad, además de controles que aseguren la identidad y pureza de la molécula obtenida comparándola contra una de referencia, así como un conjunto de ensayos que verifiquen su integridad, grado de agregación, secuencia correcta de aminoácidos, etc.

Las consideraciones para un producto deben reflejar, además, el uso clínico al que se lo destina. Así, una preparación que ha de administrarse en forma reiterada por un largo período de tiempo, o en grandes dosis, probablemente necesite someterse a minuciosos ensayos para investigar la presencia de vestigios de contaminantes antigénicos, lo que puede ser menos estricto para un producto que se aplica una sola vez (como por ej. una vacuna).

Se deben fijar límites máximos permisibles, para impurezas y contaminantes que pueden estar presentes en estos productos, adecuando los límites, de acuerdo con el avance tecnológico.

Clonado y expresión

La tecnología de ADN recombinante comprende el reordenamiento sistemático y la manipulación de segmentos específicos de ácido nucleico para la construcción de genes circulares o plásmidos, las cuales, cuando son introducidas en un hospedador apropiado, darán origen a la molécula deseada.

Existen en general tres métodos para la obtención de un segmento codificante específico:

1. Transcripción reversa del ARN a ADNc;
2. Aislamiento del ADN genómico;
3. Síntesis química.

Se debe proveer información lo más detallada posible respecto de:

Caracterización de la célula hospedadora (eucariota o procariota), incluyendo origen, fenotipo, genotipo y descripción del medio de cultivo.

En el caso de emplearse células eucariotas como hospedadoras debe proveerse la historia de la línea celular y las características generales de la misma.

Deben determinarse el patrón de crecimiento y el aspecto morfológico de la línea celular, que debe

ser estable desde el banco celular maestro hasta el final de la elaboración. Si existiesen marcadores específicos que puedan ser útiles en la caracterización de la línea celular (como cromosomas marcadores, marcadores específicos de superficie), éstos deben ser caracterizados para determinar la estabilidad de la misma.

Si las células tienen una expectativa de vida finita, debe determinarse el número total de duplicaciones de la población hasta el envejecimiento.

Documentación respecto de la estrategia de clonado del gen y caracterización del vector recombinante, incluyendo:

1. Origen, caracterización del gen clonado y análisis de la secuencia nucleotídica del mismo.

2. Análisis de la secuencia nucleotídica de las regiones de control adyacentes al vector de expresión. Es conveniente incluir una explicación del origen y función de las partes componentes del vector, como los orígenes de replicación, marcadores de resistencia a antibióticos; promotores, secuencias moduladoras (enhancers), si el producto ha de ser sintetizado o no como una proteína de fusión, como así también un mapa de digestión con enzimas de restricción, indicando al menos aquellos sitios empleados en la construcción.

3. Construcción genética, estructura del vector de expresión completo y mapa de restricción.

Caracterización del sistema hospedador-vector, incluyendo:

1. Mecanismo de transferencia del vector a la célula hospedadora (transfección, infección, microinyección, etc.).

2. Número de copias, estado físico (integrado o extracromosomal) y estabilidad del vector en la célula hospedadora.

3. Métodos empleados para promover y controlar la expresión.

Bancos celulares

Una vez que se ha elegido una línea celular como fuente biológica de un producto, se debe generar un sistema de banco de células para garantizar que exista una fuente apropiada de células equivalentes para emplear a través del lapso de vida del producto.

Usualmente existe un banco celular maestro (BCM) y un banco celular de trabajo (BCT). Los bancos celulares pueden ser tanto de células eucariotas como procariotas.

Además de proveer una fuente constante de material de partida, las ventajas de un sistema de bancos celulares incluyen la capacidad de contar con una detallada caracterización de la línea celular y una disminución de las posibilidades de

contaminaciones con otras líneas celulares o con otros microorganismos.

Banco celular maestro (BCM) - Es una suspensión homogénea de células originales ya transformadas con el vector de expresión conteniendo el gen deseado, la cual es distribuida en volúmenes iguales dentro de recipientes individuales en condiciones definidas (como por ej., en nitrógeno líquido).

En algunos casos puede ser necesario establecer BCM separados para el vector de expresión y la célula hospedadora. Se deben documentar cuidadosamente la localización, identificación e inventario de las ampollas individuales.

Se deben realizar todos los ensayos de identidad del BCM necesarios para establecer las propiedades significativas de las células (marcadores fenotípicos y genotípicos relevantes) y la estabilidad de esas propiedades a través del tiempo. Deben proveerse datos demostrando que las células pueden ser empleadas para el propósito deseado. También deben obtenerse datos para demostrar el número de copias e identidad del sistema de expresión, la calidad y cantidad de la proteína que éste produce.

Debe confirmarse la secuencia de nucleótidos del gen clonado en el estado de BCM. Sin embargo, en ciertos casos, como cuando se insertan copias múltiples del gen clonado en el genoma de una línea celular continua, la secuenciación puede ser inapropiada. En tales circunstancias, puede ser útil realizar un análisis de *Southern blot* sobre el ADN celular total o bien el análisis de *Northern blot* o de la secuencia del ARNm.

Si fuera necesario generar un nuevo BCM por transferencia de la construcción de expresión en células hospedadoras seguida por una selección de las células clonadas deseadas, se deben describir los criterios de aceptación que permitan garantizar la identidad del clon y la proteína producida en referencia a la original.

Banco celular de trabajo (BCT) - Es una suspensión homogénea de células derivadas del BCM luego de un número definido de pasajes, distribuida en volúmenes iguales dentro de recipientes individuales para su almacenamiento (como por ej., en nitrógeno líquido). La localización, identificación e inventario de las ampollas individuales deben ser cuidadosamente documentados.

Para la elaboración de un lote de producto biológico pueden ser empleados uno o más recipientes del BCT. Si se emplean células de más de un recipiente, las suspensiones celulares deberán ser mezcladas en el momento de descongelarlas. El nivel de duplicación de la población de las células empleadas para la elaboración se basará en criterios

escritos establecidos por el elaborador asegurando la integridad del sistema célula - producto.

En ambos bancos:

- Todos los recipientes deberán ser tratados de la misma manera durante el almacenamiento y, una vez retirados del lugar de depósito de células, los mismos deberán ser descargados.

- Se recomienda que cada uno de los BCM y BCT sean almacenados en dos o más áreas lo suficientemente separadas dentro de las instalaciones de producción, así como en un sitio distante para evitar la pérdida de la línea celular.

Un banco celular puede ser empleado para la elaboración en *Cultivos con número definido pasajes* o bien en *Cultivos continuos*.

Cultivos con número definido de pasajes - Este método de cultivo es definido por un número definido de pasajes o duplicaciones de la población, el cual no debe ser superado durante el proceso de elaboración. Se debe definir el máximo número de duplicaciones, o pasajes, durante los cuales rutinariamente el proceso de elaboración cumple con los criterios expresados más arriba.

Deberán describirse en detalle los procedimientos y materiales empleados para la propagación de las células y para la inducción del producto. En cada tanda de elaboración se deben suministrar datos sobre el alcance y naturaleza de cualquier contaminación microbiana de los recipientes de cultivo inmediatamente antes de la recolección, indicándose la sensibilidad de los métodos empleados para detectarla.

Se deben presentar datos sobre la uniformidad de las condiciones de fermentación y de la propagación de los cultivos sobre el mantenimiento del rendimiento del producto. Se deben establecer los criterios que han de aplicarse para descartar lotes de cultivo. Se debe determinar el número máximo de duplicaciones celulares o cantidad de pasajes permitidos durante la elaboración.

Se deben observar las características de la célula hospedadora y el vector al final de los ciclos de elaboración. De ser pertinente, se debe determinar la secuencia de nucleótidos de la inserción que codifica el producto derivado del ADN clonado, por lo menos una vez después del cultivo en gran escala de cada lote de siembra inicial.

Cultivos continuos - A través de este método el número de pasajes o duplicaciones de la población no está definido ni restringido desde el comienzo de la elaboración. El elaborador debe definir los criterios adoptados tanto para la cosecha celular como para la terminación del proceso de elaboración. Durante la etapa de cultivo, el mismo debe ser monitoreado, la frecuencia y el tiempo de monitoreo requerido dependen de la naturaleza del

sistema de elaboración y del producto. El elaborador debe definir e informar los sistemas de monitoreo adoptados.

Debe aportarse información referente a la integridad del gen que está siendo expresado y a las características fenotípicas y genotípicas de la célula hospedadora luego de un tiempo prolongado de cultivo. De ser pertinente, se debe determinar la secuencia de nucleótidos de la inserción que codifica el producto derivado del ADN clonado, por lo menos una vez después del cultivo en gran escala de cada lote de siembra inicial. Sin embargo, en ciertos casos, como cuando están insertadas múltiples copias del gen clonado en el genoma de una línea celular continua, secuenciar el gen clonado puede ser inapropiado.

En tales circunstancias, puede ser útil un análisis de *Southern blot* sobre el ADN celular total o bien el análisis de *Nothern blot* o realizar la verificación de la secuencia del ARNm; en esos casos debe tenerse una atención particular en la caracterización del producto final.

Además se debe contar con datos que demuestren que las variaciones en el rendimiento no sobrepasen los límites establecidos. La aceptación de suspensiones para más operaciones debe estar claramente vinculada al programa de control adoptado y se requiere contar con una definición clara del lote del producto que se ha de someter a más operaciones.

También se deben establecer los criterios para descartar suspensiones y/o suspender los cultivos. Se deben efectuar ensayos sistemáticos para investigar la contaminación microbiana de acuerdo con la estrategia de recolección.

Se debe especificar el período máximo de cultivo continuo, basándose en la información sobre la estabilidad del sistema y la uniformidad del producto durante y después de este período. En los cultivos continuos prolongados, la línea y los productos celulares se evaluarán reiteradamente a intervalos determinados de acuerdo a la información obtenida sobre la estabilidad del sistema hospedador-vector y las características del producto.

Control de calidad de los bancos celulares - El control de calidad de los bancos celulares debe incluir información referente a:

1. Estabilidad a través de medidas de viabilidad y de retención del vector.
2. Identidad celular a través de su caracterización fenotípica.
3. Contar con evidencias que demuestren que los bancos celulares están libres de agentes infecciosos potenciales u oncogénicos (virus, bacterias, hongos o micoplasmas). Debe prestarse

especial atención a los virus que comúnmente contaminan a la especie de la cual deriva la línea celular. Ciertas líneas celulares contienen virus endógenos, como por ej., retrovirus, cuya eliminación puede no ser factible. La expresión de estos organismos, bajo una variedad de condiciones que se conocen como causantes de su inducción, debe ser ensayada. Los lotes de siembra deben estar exentos de todo contaminante adventicio.

Este punto no corresponde en el caso de bacterias, hongos o levaduras.

4. La oncogenicidad potencial del banco celular, en el caso de células eucarióticas derivadas de mamíferos.

5. Registros fidedignos de la composición y origen de los medios de cultivo empleados para los bancos celulares.

Debido a que los sueros de animales pueden producir respuestas alérgicas en seres humanos, deben realizarse esfuerzos para reducir los niveles de suero requeridos para la propagación y elaboración en cultivos celulares tanto como sea posible. La cantidad residual de suero o aditivos en el producto final debe ser determinada y no exceder los límites establecidos.

Si en el pasaje de células se emplea tripsina porcina, debe estar libre de agentes adventicios, incluyendo parvovirus porcino.

Los elaboradores de productos biológicos deben proveer información respecto a la/s fuente/s y controles de cualquier material derivado de fuentes animales.

No deben estar presentes en los cultivos de células de elaboración, penicilina u otros antibióticos beta lactámicos. Pueden ser aceptables mínimas concentraciones de otros antibióticos o agentes inductores.

Materia prima pura

Caracterización e identificación - Los requisitos de identidad, pureza, actividad y estabilidad del producto están estrechamente relacionados con la tecnología de procesamiento empleada y las características fisicoquímicas y biológicas de un principio activo específico, debiendo tenerse en cuenta el uso previsto para el producto.

En el control de calidad de productos obtenidos por tecnología de ADN recombinante es frecuente emplear la combinación de ensayos validados para el producto final y durante el proceso para asegurar la eliminación de impurezas no deseadas hasta alcanzar los niveles requeridos por la Autoridad Sanitaria.

Resulta esencial la caracterización rigurosa del principio activo mediante métodos químicos, físicos y biológicos.

METODOLOGIA ANALITICA

Consideraciones de Sustancias de referencia - El empleo de *Sustancias de referencia* es extremadamente importante en el análisis de los productos obtenidos mediante la tecnología de ADN recombinante.

Se encuentran disponibles *Sustancias de referencia* con unidades definidas de actividad para varios productos biológicos, provenientes de fuentes reconocidas. Se deben emplear *Sustancias de referencia* específicas vigentes para cada producto; dado que con el tiempo pueden ser reemplazados por los organismos que las controlan.

Contenido proteico - La cuantificación de proteínas en un producto dado es una determinación importante por sí misma y también porque los resultados de otras valoraciones, como por ej., la actividad específica, dependen del contenido proteico.

Existen varios métodos aceptados para la determinación del contenido proteico, como absorbancia ultravioleta, fluorescencia, métodos de Lowry, de Bradford y de Kjeldahl.

Análisis de aminoácidos (Identificación y/o contenido proteico).

Secuenciación proteica (Identificación) -

Amino - terminal.

Carboxilo - terminal.

Mapa Peptídico (Identificación).

Valoraciones inmunológicas.

Electroforesis -

SDS - PAGE.

Isoelectroenfoque.

Electroforesis capilar de alta resolución (HPCE).

Métodos cromatográficos -

CLAE en fase reversa.

CLAE de intercambio iónico.

CLAE de exclusión molecular.

Cromatografía de Interacción Hidrofóbica.

Determinación de ADN - El ADN residual de la célula hospedadora es una posible impureza, diferente en cada producto porque depende del organismo hospedador y del proceso de purificación.

Los niveles de ADN deben ser cuantificados empleando métodos con una sensibilidad apropiada.

Entre las técnicas empleadas pueden mencionarse:

- Hibridación en dot-blot empleando sondas específicas marcadas con ³²P.

- Tecnología de biosensores.

- Tecnología de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

- *Determinación de carbohidratos* - La glicosilación (unión covalente de cadenas de oligosacáridos a la cadena peptídica) es una posible modificación posterior a la traducción de ARNm. Es característica de las proteínas recombinantes que se expresan a partir de líneas de células eucariotas.

La glicosilación puede tener influencia sobre la farmacocinética y la función de la proteína de modo que cambios en la glicosilación pueden tener impacto significativo sobre las características farmacodinámicas y la eficacia terapéutica de un producto.

La glicosilación es un indicador sensible del control del proceso.

Idealmente, un producto debería ser caracterizado, al menos una vez, en cuanto a la identificación de los sitios de glicosilación como así también del carbohidrato específico de cada sitio.

La cuantificación de los azúcares específicos y carbohidratos totales debería realizarse en cada lote. En algunos casos, el predominio de ácido siálico puede hacer del isoelectroenfoque en una técnica útil como una alternativa a la cuantificación de azúcares específicos en cada lote. Es óptimo fijar especificaciones acerca de la cantidad de cada isoforma para la liberación de los lotes como así mismo conocer la actividad específica de cada una de ellas.

Se pueden adoptar dos enfoques principales para determinar los azúcares unidos en forma covalente a la glicoproteína. Ambos dan por sentado que la microheterogeneidad es un fenómeno común entre las glicoproteínas y que la información representa correctamente la composición promedio o la estructura representativa. El primer enfoque es la determinación de la composición de azúcares unidos a una glicoproteína. El segundo es liberar y separar las estructuras de oligosacáridos individuales unidas covalentemente a la misma. Este último, permite obtener un mapa de oligosacáridos análogo al mapeo peptídico para una proteína.

Impurezas y contaminantes potenciales en productos biológicos - Los contaminantes que se pueden encontrar en la materia prima provienen básicamente de tres fuentes:

1 - Organismo hospedador: Proteínas del hospedador. ADN del hospedador.

2 - Proteínas e impurezas del proceso productivo-purificación:

3 - Impurezas relacionadas al principio activo proteína.

La pureza de una preparación proteica obtenida por tecnología de ADN recombinante debe ser máxima. Los niveles permitidos de trazas de

contaminantes de cada producto serán especificados en la monografía correspondiente.

En la *Tabla* se describen los tipos de impurezas o contaminantes más frecuentes, indicando los métodos de detección más idóneos:

Tabla. Impurezas potenciales y/o agentes contaminantes.

Impurezas	Método de detección / cuantificación
Endotoxinas	Ensayo de endotoxinas bacterianas; ensayo de pirogénos.
Proteínas de la célula hospedadora	SDS-PAGE ^a , inmunoensayos.
Otras impurezas proteicas	SDS-PAGE ^a , CLAE ^b , inmunoensayos.
ADN	Hibridación de ADN, espectrofotometría ultravioleta, PCR ^c .
Proteínas mutantes	Mapeo peptídico, CLAE, IEF ^d , espectrometría de masa, secuenciación de aminoácidos.
Formil-metionina	Mapeo peptídico, CLAE, espectrometría de masa, degradación de Edman.
Metioninas oxidadas	Mapeo peptídico, análisis de aminoácidos, CLAE/Fase reversa, degradación de Edman, espectrometría de masa.
Clivado proteolítico	IEF, SDS-PAGE en condiciones reductoras, CLAE, secuenciación de aminoácidos.
Agregados proteicos	SDS-PAGE, CLAE/SEC ^e
Deamidación	IEF, CLAE, espectrometría de masa, secuenciación de aminoácidos, degradación de Edman.
Anticuerpos monoclonales	SDS-PAGE, inmunoensayos.
Sustitución de aminoácidos	Análisis de aminoácidos, mapeo peptídico, espectrometría de masa, degradación de Edman.
Contaminantes	
Microbianos (bacterias, levaduras, hongos)	Control higiénico, ensayo de esterilidad, ADN (f) ^f
Micoplasma	PCR, ADN (f)
Virus (endógenos y exógenos)	ECP ^g , Had ^d (virus exógenos solamente), act. Transcriptasa reversa, MAP ⁱ , PCR.

a. Electroforosis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE).

b. Cromatografía líquida de alta eficacia.

c. Reacción en cadena de la polimerasa.

d. Isoelectroenfoque.

e. Cromatografía de exclusión molecular de alta resolución.

f. Fluorocromo unido a ADN.

g. Efecto citopático.

h. Hemoadsorción.

i. Producción de anticuerpos murinos.

Ensayo biológico para identidad y potencia - Los métodos para determinar la potencia de productos biológicos obtenidos por técnicas de ADN recombinante son de fundamental importancia, pues miden la actividad del producto.

La actividad biológica, expresada en unidades internacionales, debe conservar una estricta relación directa con la masa del producto. Esto significa que el efecto biológico medido (actividad) por unidad

de masa debe comportarse como una constante acotada dentro de límites claramente especificados y autorizados. La actividad expresada por unidad de masa se denomina actividad específica y constituye un parámetro de identidad y/o pureza.

Esencialmente hay dos métodos para cuantificar la actividad: *Análisis empleando un modelo animal* y *Análisis basados en cultivos de células*. Para medir la masa se realizan *Análisis fisicoquímicos*.

Cada uno de estos métodos es de frecuente aplicación en el control de calidad de productos biológicos.

Análisis empleando un modelo animal - Los análisis biomiméticos en modelos animales han sido empleados rutinariamente, desde hace mucho tiempo, en el control de calidad de productos biológicos. A pesar de su larga historia, tienen una serie de desventajas como la necesidad de un gran número de animales de características definidas, contar con instalaciones apropiadas y personal debidamente capacitado para el manejo de los animales, largo tiempo de análisis (días semanas). Se emplean en aquellos casos donde los análisis basados en cultivos de células o en métodos fisicoquímicos no dan resultados más confiables que los biomiméticos. Se podrán emplear métodos fisicoquímicos cuando se especifique en la monografía correspondiente.

La ventaja esencial de este tipo de métodos reside en que son los únicos capaces de reflejar fielmente la integridad y apropiada disponibilidad de la molécula biológica para expresar el efecto deseado.

Análisis basados en cultivo de células (in vitro) - Los análisis basados en cultivo de células proveen información sobre el efecto del producto biológico en un sistema vivo, pero pueden dar menos información sobre el estado conformacional de la molécula (integridad y reconocimiento por receptores específicos) que cuando se utilizan animales. El hecho que estos métodos puedan ser automatizados y que puedan ser repetidos un gran número de veces permite obtener resultados reproducibles.

Los bioanálisis basados en cultivo de células pueden ser divididos en dos grupos:

- a) Los que necesitan cultivos primarios, de origen humano o animal.
- b) Los que requieren líneas celulares en cultivo continuo, como por ej., la medición del efecto de citoquinas, ya sea promoviendo la actividad celular o bien inhibiendo la actividad o secreción de otras citoquinas.

Análisis por métodos fisicoquímicos - Este grupo de análisis no se basa en un modelo vivo sino que, generalmente, tienen en cuenta la acción química de un producto biológico. Estos métodos son comparativamente simples, rápidos, precisos y exactos. Otra ventaja de este tipo de análisis, por su precisión y exactitud, es que pueden ser empleados para proveer resultados confiables de la estabilidad del producto. La principal desventaja de estos métodos es que pueden ser insensibles a cambios en la molécula, con la lógica divergencia con la actividad en sistemas biológicos.

1130. VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

Las buenas prácticas de fabricación y control requieren que los métodos analíticos empleados para evaluar las especificaciones establecidas sean apropiados.

PRESENTACIONES DE MÉTODOS ANALÍTICOS

Las presentaciones de métodos analíticos nuevos o revisados deben contener suficiente información para permitir la evaluación de los procedimientos propuestos. La información puede variar según el tipo de valoración empleada. Sin embargo, en la mayoría de los casos una presentación constará de las siguientes secciones.

Justificación - Esta sección debe identificar la necesidad y las ventajas del método propuesto. Para métodos revisados, debe proporcionarse una comparación de las limitaciones del método vigente en los libros oficiales y las ventajas ofrecidas por el método propuesto.

Método analítico propuesto - Esta sección debe contener la descripción completa y suficientemente detallada del método analítico para permitir que personas capacitadas puedan repetirlo. La redacción debe incluir todos los parámetros operativos importantes e indicaciones específicas, como por ej., la preparación de reactivos, las condiciones de aptitud del sistema, descripción de los blancos empleados, precauciones y fórmulas para calcular los resultados.

Datos - Esta sección debe proporcionar documentación detallada y completa de la validación del método, incluyendo datos experimentales y cálculos que fundamenten cada uno de los atributos estudiados.

ATRIBUTOS ANALÍTICOS

La validación de un método analítico es el proceso por el cual se establece, por medio de estudios de laboratorio, que un método es apropiado para el uso propuesto. A continuación se definen cada uno de los atributos necesarios para validar un método analítico junto con una breve descripción de cómo deben determinarse.

Exactitud

Definición - La exactitud de un método analítico es la proximidad entre el resultado obtenido y el valor real. La exactitud debe establecerse en todo el intervalo especificado para el método analítico.

Determinación - En el caso de la valoración de una sustancia, la exactitud puede determinarse por la aplicación del método analítico a una muestra de

pureza conocida (como por ej., una *Sustancia de referencia*) o por comparación de los resultados del método analítico propuesto con los de otro método cuya exactitud haya sido establecida.

En el caso de la valoración de una sustancia en un producto farmacéutico, la exactitud puede determinarse mediante la aplicación del método analítico a mezclas preparadas con todos los componentes del producto a las cuales se les ha agregado cantidades conocidas del analito dentro del intervalo del método.

Si no es posible obtener muestras de todos los componentes del producto, puede ser aceptable agregar cantidades conocidas del analito al producto o comparar los resultados obtenidos con un segundo método cuya exactitud haya sido establecida.

En el caso del análisis cuantitativo de impurezas, la exactitud debe evaluarse sobre muestras (sustancia o producto farmacéutico) a las que se les han agregado cantidades conocidas de impurezas. Si es imposible obtener muestras de las impurezas y/o los productos de degradación, es aceptable comparar los resultados obtenidos por un método independiente (método farmacopeico u otro método analítico validado). En ausencia de otra información, puede ser necesario calcular la cantidad de impureza comparando su respuesta con la respuesta de la sustancia, en estos casos debe emplearse el factor de respuesta si se conoce.

La exactitud debe evaluarse empleando un mínimo de nueve determinaciones sobre un mínimo de tres niveles de concentración que cubran el intervalo especificado (como por ej., tres concentraciones/ tres repeticiones completas del método). La exactitud se calcula como el porcentaje de recuperación obtenido a partir de la valoración de una cantidad agregada conocida de analito en la muestra, o como la diferencia entre la media y el valor aceptado como verdadero junto con los intervalos de confianza.

Precisión

Definición - La precisión de un método analítico es el grado de concordancia entre los resultados del ensayo individual cuando el método se aplica repetidamente a varias alícuotas de una muestra homogénea. La precisión de un método analítico, generalmente se expresa como la desviación estándar o desviación estándar relativa (coeficiente de variación) de una serie de mediciones. La precisión puede ser considerada en tres niveles: repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad. La repetibilidad expresa la precisión bajo las mismas condiciones operativas en

un intervalo de tiempo corto. La precisión intermedia expresa las variaciones intralaboratorio: diferentes días, diferentes analistas, diferentes equipos, etc. La reproducibilidad expresa la precisión entre laboratorios (estudios colaborativos).

Determinación - La precisión de un método analítico se determina mediante el análisis de un número suficiente de alícuotas de una muestra homogénea, lo que permite un cálculo estadísticamente válido de la desviación estándar o la desviación estándar relativa. En este contexto, las valoraciones son análisis independientes que se llevan a cabo siguiendo el procedimiento analítico completo desde la preparación de la muestra hasta el resultado final del ensayo.

La repetibilidad puede evaluarse empleando un mínimo de nueve determinaciones que cubran el intervalo especificado para el método (como por ej., tres concentraciones/tres repeticiones de cada una) o un mínimo de seis determinaciones al 100 % del valor declarado.

Especificidad

Definición - La especificidad es la capacidad de un método para evaluar inequívocamente al analito en presencia de los componentes que pueden estar presentes, tales como impurezas, productos de degradación, componentes de la matriz, etc. La falta de especificidad de un método analítico puede ser compensada por otros procedimientos analíticos.

Para ensayos de identificación esta definición implica asegurar la identidad del analito, para ensayos de pureza implica asegurar que el método permita una exacta determinación del contenido de impurezas, es decir las sustancias relacionadas, límite de metales pesados, límite de impurezas orgánicas volátiles, de productos de degradación, etc. Para valoraciones asegurar un resultado que permita establecer el contenido o potencia del analito en una muestra.

Determinación - En el caso del análisis cualitativo (ensayos de identificación) debe demostrarse la capacidad de discriminar entre sustancias de estructuras estrechamente relacionadas que pudieran estar presentes. La discriminación del método puede ser confirmada mediante la obtención de resultados positivos (como por ej., por comparación con una *Sustancia de referencia*), a partir de muestras que contienen el analito, junto con resultados negativos, a partir de muestras que no contienen el analito. Además, el ensayo de identificación puede aplicarse a materiales estructuralmente parecidos o estrechamente relacionados al analito, para confirmar que no se obtiene una respuesta positiva.

En el caso del análisis de impurezas, la especificidad puede establecerse por el agregado de cantidades apropiadas de impurezas a la sustancia o al producto farmacéutico y demostrando que estas impurezas son determinadas con la precisión y exactitud necesarias.

En el caso de una valoración, se debe demostrar que el método no se ve afectado por la presencia de impurezas o excipientes. En la práctica, esto puede realizarse agregando, a la sustancia o al producto farmacéutico, cantidades apropiadas de impurezas o excipientes y demostrando que el resultado de la valoración no se ve afectado por la presencia de estos materiales extraños. Si no se dispone de los productos de degradación o impurezas, la especificidad puede ser demostrada por comparación de los resultados del ensayo con muestras que contienen impurezas o productos de degradación a través de un segundo método independiente (como por ej., métodos farmacopeicos u otro método analítico validado). Estas comparaciones deberían incluir muestras almacenadas bajo condiciones exigentes: luz, calor, humedad, hidrólisis ácido base y oxidación. En el caso de valoraciones los dos resultados deberían compararse. En el caso de ensayos cromatográficos para impurezas deberían compararse los perfiles cromatográficos.

Para métodos cromatográficos instrumentales, deben desarrollarse cromatogramas para demostrar la especificidad. Los ensayos de pureza de pico (como por ej., empleando arreglo de diodos o espectrometría de masa) pueden ser útiles para demostrar que el pico cromatográfico del analito no incluye a otro componente.

Límite de detección

Definición - El límite de detección es la concentración más baja de analito que puede detectarse, pero no necesariamente cuantificarse, en una muestra bajo las condiciones experimentales establecidas.

Determinación - Existen diversas maneras para determinar el límite de detección, dependiendo de que se trate de un método no instrumental o instrumental. Pueden emplearse otras aproximaciones a las presentadas a continuación.

Para métodos no instrumentales, el límite de detección es generalmente determinado por el análisis de muestras con concentraciones conocidas de analito y estableciendo el mínimo nivel al cual el analito puede ser detectado en forma confiable. Este procedimiento puede emplearse también para métodos instrumentales.

En el caso de métodos instrumentales que exhiben ruido de fondo, puede emplearse una

aproximación basada en la comparación de las señales medidas con muestras que contienen pequeñas cantidades conocidas de analito con muestras blanco y determinando la relación señal-ruido. Una relación señal ruido de 3:1 ó 2:1 se considera generalmente aceptable para estimar el límite de detección.

Otras aproximaciones se basan en la determinación de la pendiente de la recta de calibración y la desviación estándar de la respuesta.

Cualquiera sea el método empleado, el límite de detección debería ser luego confirmado por medio del análisis de un número apropiado de muestras con concentraciones cercanas o en el límite de detección propuesto.

Límite de cuantificación

Definición - El límite de cuantificación es la menor concentración de analito que puede determinarse con precisión y exactitud en una muestra, bajo las condiciones experimentales establecidas. El límite de cuantificación se expresa en las mismas unidades de concentración empleadas para el analito de la muestra.

Determinación - Existen diversas maneras para determinar el límite de cuantificación, dependiendo de que se trate de un método no instrumental o instrumental. Pueden emplearse otras aproximaciones a las presentadas a continuación.

Para métodos no instrumentales, el límite de cuantificación es generalmente determinado por el análisis de muestras con concentraciones conocidas de analito y estableciendo el mínimo nivel al cual el analito puede ser cuantificado con precisión y exactitud. Este procedimiento puede emplearse también para métodos instrumentales.

En el caso de métodos instrumentales que exhiben ruido de fondo, puede emplearse una aproximación basada en la comparación de las señales medidas con muestras que contienen pequeñas cantidades conocidas de analito con muestras blanco y determinando la relación señal-ruido. Una relación señal ruido de 10:1 se considera generalmente aceptable para estimar el límite de cuantificación.

Otras aproximaciones se basan en la determinación de la pendiente de la recta de calibración y la desviación estándar de la respuesta.

Cualquiera sea el método empleado, el límite de cuantificación debe ser confirmado por medio del análisis de un número apropiado de muestras con concentraciones cercanas o en el límite de cuantificación propuesto.

Linealidad e intervalo

Linealidad - La linealidad de un método analítico es su capacidad de producir resultados

directamente proporcionales a la concentración de analito dentro de un intervalo dado.

En algunos casos puede ser necesaria la aplicación de transformaciones matemáticas para obtener una recta.

Intervalo - Se refiere al intervalo de concentraciones de analito que pueden ser determinadas con precisión, exactitud y linealidad. Normalmente, el intervalo se expresa con las mismas unidades que los resultados del ensayo.

Determinación de linealidad e intervalo - La linealidad debe establecerse a lo largo del intervalo del método analítico. Se debe establecer por medio de un método estadístico apropiado (como por ej., cálculo de regresión por cuadrados mínimos). En algunos casos, para obtener la proporcionalidad entre los resultados y las concentraciones, los datos deben ser sometidos a una transformación matemática antes del análisis de regresión. Los datos obtenidos a partir de la mejor recta pueden ser útiles para estimar matemáticamente el grado de linealidad. Deben informarse el coeficiente de correlación, la ordenada al origen y la pendiente de la recta de regresión.

El intervalo del método es validado al comprobar que el método analítico es preciso, exacto y lineal, cuando es aplicado a muestras que contienen el analito en los extremos del intervalo así como dentro del mismo.

Para establecer la linealidad se deben investigar un mínimo de cinco concentraciones. También se recomienda considerar los siguientes intervalos:

Para la valoración de una sustancia (o un producto farmacéutico): de 80 a 120 % de la concentración de ensayo.

Para la determinación de una impureza: de 50 a 120 % de la especificación.

Para la determinación de uniformidad de contenido: un mínimo de 70 a 130 % de la concentración de ensayo a menos que se justifique otro intervalo de acuerdo a la naturaleza de la forma farmacéutica.

Para ensayos de disolución: ± 20 % del intervalo especificado (como por ej., si la especificación para un producto de liberación prolongada cubre una región de 20 %, después de 1 hora, hasta 90 % luego de 24 horas, el intervalo validado debe ser de 0 a 110 % del valor declarado).

Robustez

Definición - La robustez de un método analítico es una medida de su capacidad de no verse afectado por variaciones pequeñas, pero deliberadas, en los parámetros del método y proporciona una indicación de su confiabilidad. Ejemplos de variaciones que deben estudiarse durante la

evaluación de la robustez de un método son: diferentes instrumentos, diferentes lotes de reactivos, diferentes tiempos de valoración, diferentes temperaturas de valoración, diferentes columnas cromatográficas (distintos lotes o proveedores), etc. La robustez se expresa normalmente como la falta de influencia de las variables operativas y del entorno sobre los resultados del ensayo.

Determinación - La robustez de un método analítico se determina mediante el análisis de alícuotas a partir de lotes homogéneos empleando condiciones operativas y ambientales diferentes pero que están dentro de los parámetros especificados en la valoración. El grado de reproducibilidad de los resultados del ensayo es luego determinado como una función de las variables de la valoración. Esta reproducibilidad puede compararse con la precisión de la valoración bajo condiciones normales para obtener de una medida de la robustez del método analítico.

DATOS REQUERIDOS PARA LA VALIDACION DE UN METODO ANALITICO

Los métodos analíticos descritos en esta Farmacopea varían desde determinaciones analíticas complejas hasta la evaluación subjetiva de ciertas características, para los cuales se requieren diferentes esquemas de validación. Las categorías de métodos analíticos más comunes son las siguientes:

CATEGORÍA I - Incluye los métodos analíticos para la cuantificación de los componentes mayoritarios de las materias primas o de los

principios activos (incluyendo conservantes) en productos farmacéuticos.

CATEGORÍA II - Incluye los métodos analíticos empleados para la determinación de impurezas en las materias primas o productos de degradación en los productos farmacéuticos. Estos métodos incluyen valoraciones cuantitativas y ensayos límites.

CATEGORÍA III - Incluye métodos analíticos para la determinación de las características de desempeño (como por ej., disolución, liberación de principios activos).

CATEGORÍA IV - Incluye ensayos de identificación.

Para cada categoría de análisis, se necesita diferente información analítica. En la *Tabla* se indican los elementos que normalmente se requieren para cada una de estas categorías.

Las valoraciones y ensayos generales ya establecidos (por ej., método volumétrico para la determinación de agua, ensayo de endotoxinas bacterianas) deben también validarse para comprobar su exactitud (y ausencia de posibles interferencias) cuando se emplea para un producto o materia prima nuevos.

La validez de un método analítico puede comprobarse sólo mediante estudios de laboratorio. En consecuencia, la documentación que avale tales estudios es un requisito básico para determinar si un método es apropiado para una aplicación determinada. Cualquier método analítico propuesto debe estar acompañado de la documentación necesaria.

Tabla. Datos requeridos para la validación de un método analítico.

Característica	Categoría I	Categoría II		Categoría III	Categoría IV
		Cuantitativo	Ensayo límite		
Exactitud	+	+	*	*	-
Presición					
Repetibilidad	+	+	-	+	-
Precisión Interm.	+	+	-	+	-
Especificidad	+	+	+	*	+
Lím. de detección	-	-	+	*	-
Lím. de de cuantificación	-	+	-	*	-
Linealidad	+	+	-	*	-
Intervalo	+	+	*	*	-

* Puede requerirse según la naturaleza del ensayo

REACTIVOS Y SOLUCIONES

REACTIVOS Y SOLUCIONES

Consideraciones generales

En esta sección se describen los reactivos y las soluciones necesarias para realizar los ensayos y valoraciones de la Farmacopea.

Cuando tales especificaciones no existan y siempre que se indique emplear un grado analítico apropiado, se empleará un reactivo de calidad apropiada disponible comercialmente, preferiblemente que cumpla con normas de calidad reconocidas internacionalmente. Ocasionalmente, uno o varios ensayos adicionales, indicados en el texto, restringen la designación de grado apropiado. En el caso de aquellos reactivos que no son enumerados en esta sección, se pueden obtener especificaciones apropiadas en obras de referencia.

Cuando el nombre de un reactivo especificado en un ensayo o valoración es el mismo que el título de una monografía, y no aparece en las siguientes *Especificaciones de reactivos*, se empleará una sustancia que cumpla los requisitos de la monografía correspondiente.

Los reactivos y soluciones deben conservarse en envases de cierre perfecto, de vidrio resistente u otro material apropiado. Se deben observar cuidadosamente las instrucciones para el almacenamiento en envases inactínicos.

La espectrofotometría de absorción y emisión atómica requieren el empleo de varias soluciones estándar de iones metálicos. Mientras las monografías correspondientes proporcionan generalmente instrucciones para la preparación de estas soluciones, se permite el empleo de soluciones estandarizadas de iones preparadas comercialmente, siempre que el analista confirme la aptitud de las soluciones y posea datos que avalen su uso.

Definiciones

REACTIVOS - Son sustancias empleadas como tales o como elementos constitutivos de soluciones y se emplean para la realización de los ensayos y valoraciones del Compendio.

INDICADORES - Son reactivos empleados para determinar el punto final en una reacción química, para medir la concentración de ion hidrógeno (pH) o para indicar un cambio de pH. Se enumeran junto con los indicadores y los papeles.

SOLUCIONES REGULADORAS - Son soluciones reguladoras del pH.

SOLUCIONES COLORIMÉTRICAS - Son soluciones empleadas en la preparación de estándar colorimétricos para comparación. Se abrevian (SC).

SOLUCIONES DE REACTIVOS - Son soluciones de reactivos en solventes y concentraciones definidas, apropiadas para los fines especificados. Se abrevian (SR).

SOLUCIONES VOLUMÉTRICAS - Son soluciones de reactivos de concentración conocida empleadas principalmente en determinaciones volumétricas. Las concentraciones se expresan generalmente en función de la normalidad. Se abrevian (SV).

AGUA - Como en el resto de la Farmacopea, cuando se menciona *Agua* sin otra calificación, se debe emplear *Agua purificada*. El *Agua libre de dióxido de carbono* es agua purificada calentada a ebullición durante 5 minutos o más y enfriada, protegiéndola de la absorción de dióxido de carbono de la atmósfera.

El *Agua desaireada* empleada para otros propósitos que no sean el ensayo de disolución o de liberación de principios activos, es agua purificada que ha sido tratada de manera de reducir el contenido de aire disuelto por métodos apropiados, por ej., ebullición vigorosa durante 5 minutos y enfriando o aplicando ultrasonido.

SOLVENTES CROMATOGRÁFICOS y **GASES TRANSPORTADORES** - Los procedimientos cromatográficos establecidos en este Compendio pueden requerir el empleo de solventes y gases especialmente purificados para tal uso. Cuando en un procedimiento cromatográfico se emplean solventes y gases, es responsabilidad del analista asegurar la aptitud del solvente o del gas para un uso específico. Las especificaciones de los solventes y gases que aparecen aquí, se refieren a usos analíticos generales y no para uso cromatográfico, en este caso pueden ser necesarios productos especialmente purificados.

REACTIVOS

En las siguientes especificaciones se aplican estas definiciones. Un *blanco* consta de cantidades iguales de los mismos reactivos, tratados de la misma manera que la muestra. Un *control* es un blanco al cual se le ha agregado la cantidad límite de la sustancia a ensayar o es una solución de comparación preparada según se indica en los ensayos específicos.

Las comparaciones de color y turbidez se deben hacer en tubos de comparación de color que se correspondan lo más estrechamente posible en diámetro interno y en cualquier otro aspecto, según se indica en *Consideraciones generales* de este

Compendio. Tales tubos se denominan frecuentemente tubos de Nessler.

Al hacer comparaciones visuales de la densidad de líquidos turbios, compensar las diferencias de color, si fuera necesario, observando la turbidez a través de una columna de agua, cuya profundidad se determina mediante el volumen determinado en la especificación del reactivo. Colocar el agua en tubos de comparación de color y sostener uno de los tubos encima del tubo control y el otro debajo del tubo que contiene la muestra.

Cuando aparece una expresión, como por ej., retenir el filtrado se entenderá, a menos que se indique de otro modo, que los lavados del residuo no se agregarán al filtrado obtenido.

ENSAYOS GENERALES PARA REACTIVOS

Los siguientes ensayos se emplean para analizar los reactivos y así determinar el cumplimiento de las especificaciones de los reactivos individuales y deben emplearse a menos que se indique de otro modo en tales especificaciones.

INTERVALO DE EBULLICIÓN O DE DESTILACIÓN PARA REACTIVOS

Emplear el siguiente procedimiento para determinar el intervalo de ebullición o de destilación de reactivos, a menos que se indique de otro modo en las especificaciones individuales:

Aparato - Emplear un aparato similar al especificado en <240>. *Determinación del intervalo de destilación. Método I*, excepto que el matraz de destilación debe tener una capacidad de 250 ml, un cuello corto y estar conectado al condensador a través de un cabezal de destilación con juntas esmeriladas.

Procedimiento - Colocar el matraz de destilación en posición vertical en la perforación de la junta de asbesto y conectarlo al condensador.

Medir 100 ml del líquido que se va a ensayar en una probeta y transferirlo al matraz de ebullición junto con algunos trozos de material poroso. Recolectar el destilado en la probeta. Insertar el termómetro y calentar para destilar a una velocidad de 3 a 5 ml por minuto. Hacer un ensayo preliminar, si fuera necesario, para determinar la velocidad de calentamiento apropiada.

Leer el termómetro cuando hayan destilado aproximadamente 20 gotas y posteriormente a volúmenes de destilado de 5, 10, 40, 50, 60, 90 y 95 ml. Continuar la destilación hasta que se alcance el punto seco.

El *Intervalo de ebullición o destilación* es el intervalo entre las temperaturas a las que destilan 1 ml y 95 ml, respectivamente.

ARSÉNICO EN REACTIVOS

Para este ensayo, seleccionar reactivos que posean un contenido bajo de arsénico, de manera que un blanco no de lugar a manchas o produzca una apenas perceptible.

Aparato - Preparar un generador colocando un tapón de goma perforado en una botella de boca ancha de aproximadamente 60 ml de capacidad. Insertar a través de la perforación un tubo de salida vertical con una longitud total de aproximadamente 12 cm y 1 cm de diámetro a lo largo de la parte superior total (para aproximadamente 8 cm) y con un angostamiento en su extremidad inferior, formando un tubo de aproximadamente 4 cm de longitud y aproximadamente 5 mm de diámetro. La porción más pequeña del tubo debe extenderse levemente por debajo del tapón. Colocar arena lavada o una torunda de algodón purificado en la parte superior a aproximadamente 3 cm de la parte superior del tubo. Humedecer la arena o algodón uniformemente con acetato de plomo (SR) y extraer cualquier exceso de este último de las paredes del tubo. En el extremo superior de este tubo adosar un segundo tubo de vidrio de 12 cm de longitud, con un diámetro interno de 2,5 a 3 mm, por medio de un tapón de goma. Inmediatamente antes de realizar el ensayo, colocar en este tubo una tira de papel de bromuro mercuríco (ver *Indicadores y Papeles*), engarzado con el extremo superior de la tira de manera que permanezca, aproximadamente, a 2 cm por encima del tapón de goma. Limpiar y secar el tubo cada vez que se emplee.

Solución estándar de arsénico - Emplear la *Preparación estándar* preparada según se indica en <540>. *Límite de arsénico*.

Solución muestra - Agregar 1 ml de ácido sulfúrico a 5 ml de una solución de la sustancia a ensayar (1 en 25) a menos que se indique otra cantidad. Omitir el agregado en el caso de ácidos inorgánicos. A menos que se indique de otro modo, agregar 10 ml de ácido sulfuroso. Evaporar el líquido en un vaso de precipitados, en un baño de vapor, hasta que esté exento de ácido sulfuroso y se haya reducido el volumen a aproximadamente 2 ml.

Diluir con agua a 5 ml para obtener la *Solución muestra*. Las sustancias sometidas a tratamientos especiales, según se indica en las especificaciones individuales del reactivo, pueden emplearse directamente como *Solución muestra*.

Mancha estándar - Transferir al generador 5 ml de ioduro de potasio (SR), 2,0 ml de *Solución estándar de arsénico*, 5 ml de cloruro de estaño (SR) y 28 ml de agua. Agregar 1,5 g de cinc granulado (en polvo) e insertar de inmediato el tapón que contiene el tubo de salida. Durante el periodo de ensayo, mantener el generador inmerso en agua a

25 °C para moderar la reacción de tal manera que la mancha tome la forma de una banda distintiva para facilitar la comparación de intensidad de color. Una vez que la evolución de hidrógeno haya continuado durante 1 hora, retirar el papel de bromuro mercúrico para su comparación. Esta mancha representa 2 µg de arsénico.

Procedimiento - Transferir al generador 5 ml de ioduro de potasio (SR) y 5 ml de la *Solución muestra* y agregar 5 ml de cloruro estannoso (SR). Colocar el aparato a temperatura ambiente durante un periodo de 10 minutos, a continuación agregar 25 ml de agua y 1,5 g de cinc granulado y proceder según se indica en *Mancha estándar*. Retirar el papel de bromuro mercúrico y comparar la mancha con la *Mancha estándar*: la mancha producida por el producto químico ensayado no excede la *Mancha estándar* en longitud o intensidad de color, indicando no más de 10 ppm de arsénico en la sustancia a ensayar. Dado que la luz, el calor y la humedad pueden hacer que la mancha se borre rápidamente, colocar los papeles en tubos limpios y secos y realizar las comparaciones rápidamente.

Interferencias - El Antimonio, si está presente en la sustancia de ensayo, produce una mancha gris. Los sulfitos, sulfuros, tiosulfatos y otros compuestos que liberan sulfuro de hidrógeno o dióxido de azufre cuando se tratan con ácido sulfúrico, se deben oxidar con ácido nítrico y luego reducirse con dióxido de azufre, según se indica en *Solución muestra*, antes de ser colocados en el aparato. Ciertos compuestos de azufre, así como la fosfina, producen una banda amarilla brillante en el papel. Si el material contiene compuestos azufrados, el algodón o la arena humedecidos con acetato de plomo se oscurecerán. En ese caso, repetir la operación, según se indica en *Solución muestra*, sobre una porción de *Solución muestra* recientemente preparada, y asegurar la completa eliminación del ácido sulfuroso. Cuando se ensayen hipofosfitos, asegurarse bien de que se oxide completamente la *Solución muestra*, de otro modo, la evolución de la fosfina puede dar lugar a una mancha amarilla que se puede confundir con el color amarillo anaranjado producido por la arsina. La mancha producida por la fosfina puede diferenciarse de la producida por la arsina si se la humedece con hidróxido de amonio 6 N. Una mancha causada por arsina se torna oscura cuando es tratada, pero una mancha producida por fosfina no cambia de color.

CLORURO EN REACTIVOS

Solución estándar de cloruro - Disolver 165,0 mg de cloruro de sodio seco en agua para obtener 1 litro de solución. Esta solución contiene el equivalente de 0,10 mg de cloro (Cl) en cada ml.

Procedimiento - Neutralizar una solución de la cantidad del reactivo indicada en el ensayo, en caso de que fuera alcalina, en 25 ml de agua o una solución preparada según se indica en el ensayo, con ácido nítrico, empleando papel de tornasol como indicador y agregar 3 ml adicionales de ácido nítrico. Filtrar la solución, si fuera necesario, a través de un papel de filtro previamente lavado con agua, hasta que el papel esté exento de cloruro y agregar 1 ml de nitrato de plata (SR). Mezclar y dejar reposar durante 5 minutos al abrigo de la luz directa. Comparar la turbidez, si la hay, con la producida por un control realizado con cantidades iguales de los mismos reactivos, como si fuera el ensayo final y un volumen de *Solución estándar de cloruro* equivalente a la cantidad de cloruro (Cl) permitida por el ensayo. Ajustar las dos soluciones con agua al mismo volumen, antes de agregar el nitrato de plata (SR), y comparar las turbiedades.

Al ensayar sales de bario, neutralizar la solución que contiene el reactivo, si ésta fuera alcalina, con ácido nítrico y agregar sólo 3 gotas más de ácido nítrico. Realizar el resto del ensayo según se describió previamente.

Al ensayar sales que dan soluciones de color, disolver 2 g del reactivo en 25 ml de agua y agregar 3 ml de ácido nítrico. Filtrar la solución, si fuera necesario, a través de un papel de filtro previamente lavado con agua y fraccionar el filtrado en dos porciones iguales. Tratar una porción con 1 ml de nitrato de plata (SR), dejar reposar durante 10 minutos y, si se produce turbidez, filtrar a través de un papel de filtro lavado hasta obtener un filtrado transparente y emplear el filtrado como blanco. Tratar la otra porción con 1 ml de nitrato de plata (SR), mezclar y dejar reposar durante 5 minutos al abrigo de la luz directa. Comparar la turbidez con la producida por el blanco, mediante el agregado de un volumen de *Solución estándar de cloruro* equivalente a la cantidad de cloruro (Cl) permitido en el ensayo, ajustando ambas soluciones con agua al mismo volumen.

ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN Y EMISIÓN ATÓMICA PARA REACTIVOS

Se requiere el empleo de la espectrofotometría de absorción y emisión atómica para determinar trazas de calcio, potasio, sodio y estroncio en algunas *Especificaciones de reactivos*. La aptitud de tales determinaciones depende del empleo de aparatos apropiados. El espectrofotómetro de absorción y emisión atómica más apropiado posee un fototubo sensible al rojo, un fototubo multiplicador, un monocromador, un control para regular el ancho de banda, un interruptor selector y un control de sensibilidad. Se pueden emplear otros tipos de espectro-

fotómetros, siempre que el analista haya demostrado que el aparato determinará exactamente la cantidad de impurezas admitidas en el reactivo que se va a ensayar.

Los procedimientos requieren una *Solución muestra* y una *Solución control*. Para la *Solución muestra*, se disuelve una cantidad pesada de muestra y se diluye a un volumen determinado. Para la *Solución control*, se disuelve la misma cantidad de muestra, se agregan las cantidades límites de las presuntas impurezas y a continuación, se diluye la solución al mismo volumen determinado para la *Solución muestra*. El espectrofotómetro de absorción y emisión atómica se fija según se indica en los procedimientos generales y luego se ajusta para dar una lectura de emisión tan cercana al 100 % de transmitancia como sea posible en la *Solución control*, a la longitud de onda especificada para la impureza específica. Sin alterar los parámetros del aparato, la emisión de la *Solución muestra* se lee a la misma longitud de onda y a la longitud de onda de fondo especificada. A continuación se emplea la lectura de fondo para corregir la emisión observada en la *Solución muestra* para la emisión, ocasionada por la muestra y el solvente. La muestra ensayada contiene menos del límite de impureza especificado, si la diferencia entre la emisión de fondo observada y la emisión de la *Solución muestra* es menor que la diferencia entre la emisión observada para la *Solución control* y la *Solución muestra*, a la longitud de onda designada para la impureza específica.

Calcio en reactivos

Solución estándar de calcio - Disolver 250 mg de carbonato de calcio en una mezcla de 20 ml de agua y 5 ml de ácido clorhídrico diluido y, cuando la disolución se complete, diluir con agua a 1 litro. Esta solución contiene 0,10 mg de calcio (Ca) por ml.

Procedimiento - Emplear la *Solución muestra* y la *Solución control* preparadas según se indica en *Procedimiento* del ensayo individual.

Fijar el control de ancho de banda de un espectrofotómetro de absorción y emisión atómica apropiado a 0,03 mm y fijar el interruptor selector a 0,1. Ajustar el aparato para que produzca la máxima emisión con la *Solución control* en la línea de calcio de 422,7 nm y registrar la transmitancia. Sin cambiar ningún parámetro del aparato, registrar la transmitancia para la emisión de la *Solución muestra* a 422,7 nm. Cambiar el monocromador a la longitud de onda especificada en *Procedimiento* del ensayo individual, y registrar la transmitancia de fondo para la emisión de fondo de la *Solución muestra*: la diferencia entre las transmitancias de la *Solución muestra* a 422,7 nm y a la longitud de

onda de fondo no es mayor que la diferencia entre las transmitancias observadas a 422,7 nm para la *Solución muestra* y la *Solución control*.

Potasio en reactivos

Solución estándar de potasio - Disolver 191 mg de cloruro de potasio en unos pocos ml de agua y diluir con agua a 1 litro. Diluir una porción de esta solución con agua en una relación de 1 a 10 para obtener una concentración de 0,01 mg de potasio (K) por ml.

Procedimiento - Emplear la *Solución muestra* y la *Solución control*, preparadas según se indica en *Procedimiento* del ensayo individual. [NOTA: al ensayar sales de calcio, emplear un mechero de oxígeno-hidrógeno.]

Fijar el control de ancho de banda de un espectrofotómetro de absorción y emisión atómica apropiado, equipado con un detector sensible al rojo, a 0,1 mm, a menos que se indique de otro modo, y fijar el interruptor selector a 0,1. Ajustar el aparato para que produzca la máxima emisión con la *Solución control* en la línea de potasio a 766,5 nm y registrar la transmitancia. Sin cambiar ningún parámetro del aparato, registrar la transmitancia para la emisión de la *Solución muestra* a 766,5 nm. Cambiar el monocromador a 750 nm, y registrar la transmitancia de fondo para la emisión de fondo de la *Solución muestra*: la diferencia entre las transmitancias de la *Solución muestra* a 766,5 y a 750 nm no es mayor que la diferencia entre las transmitancias observadas a 766,5 nm para la *Solución muestra* y la *Solución control*.

Sodio en reactivos

Solución estándar de sodio - Disolver 254 mg de cloruro de sodio en unos pocos ml de agua y diluir con agua a 1 litro. Diluir una porción de esta solución con agua en una relación de 1 a 10 para obtener una concentración de 0,01 mg de sodio (Na) por ml.

Procedimiento - Emplear la *Solución muestra* y la *Solución control* preparadas según se indica en el *Procedimiento* del ensayo individual.

Fijar el control de ancho de banda de un espectrofotómetro de absorción y emisión atómica apropiado a 0,01 mm y fijar el interruptor selector a 0,1. Ajustar el aparato para que produzca la máxima emisión con la *Solución control* en la línea de sodio a 589 nm y registrar la transmitancia. Sin modificar ningún parámetro del aparato, registrar la transmitancia de la emisión de la *Solución muestra* a 589 nm. Cambiar el monocromador a 580 nm y registrar la transmitancia de fondo para la emisión de fondo de la *Solución muestra*: la diferencia entre las transmitancias para la *Solución muestra* a 589 y

a 580 nm no es mayor que la diferencia entre las transmitancias observadas a 589 nm para la *Solución muestra* y la *Solución control*.

Estroncio en reactivos

Solución estándar de estroncio - Disolver 242 mg de nitrato de estroncio en unos pocos ml de agua, y diluir con agua a 1 litro. Diluir una porción de esta solución con agua en una relación de 1 a 10 para obtener una concentración de 0,01 mg de estroncio (Sr) por ml.

Procedimiento - Emplear la *Solución muestra* y la *Solución control* preparadas según se indica en *Procedimiento* del ensayo individual.

Fijar el control de ancho de banda de un espectrofotómetro de absorción y emisión atómica apropiado a 0,03 mm y fijar el interruptor selector a 0,1. Ajustar el aparato para dar la máxima emisión con la *Solución control* en la línea de estroncio a 460,7 nm y registrar la transmitancia. Sin modificar ningún parámetro del aparato, registrar la transmitancia para la emisión de la *Solución muestra* a 460,7 nm. Cambiar el monocromador a la longitud de onda especificada en *Procedimiento* del ensayo individual y registrar la transmitancia de fondo de la emisión de fondo de la *Solución muestra*: la diferencia entre las transmitancias para la *Solución muestra* a 460,7 nm y a la longitud de onda de fondo no es mayor que la diferencia entre las transmitancias observadas a 460,7 nm para la *Solución muestra* y la *Solución control*.

METALES PESADOS EN REACTIVOS

Solución estándar de plomo - Emplear *Solución estándar de plomo* (ver 590. *Límite de metales pesados*). Cada mililitro de esta solución contiene el equivalente a 0,01 mg de Pb.

Procedimiento - A menos que se indique de otro modo, determinar el límite de metales pesados del siguiente modo:

- a- Si el límite de metales pesados es 0,0005 % (5ppm), disolver 6,0 g de muestra en agua para obtener 42 ml.
- b- Si el límite de metales pesados es 0,001 % (10ppm) o mayor, o en caso de solubilidad limitada, emplear 4 g, disolver en agua y llevar a 40 ml, calentando para disolver si fuera necesario.

Para la *Solución control* transferir 7 ml de la solución (a) a un tubo de comparación de color y agregar un volumen de *Solución estándar de plomo* equivalente a la cantidad de plomo admitida en 4 g del reactivo. Diluir con agua a 35 ml y agregar ácido acético diluido, o amoníaco (SR), hasta que el pH, determinado potenciométricamente, sea aproximadamente 3,5. Diluir con agua a 40 ml y

mezclar. Transferir los restantes 35 ml de la solución (a) a un tubo de comparación de color igual al empleado para la *Solución control* y agregar ácido acético diluido, o amoníaco (SR), hasta que el pH, determinado potenciométricamente, sea aproximadamente 3,5. Diluir con agua a 40 ml y mezclar. A continuación, agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR) a cada tubo, mezclar y comparar los colores observando hacia abajo a través del tubo de comparación de color contra una superficie blanca. El color en la *Solución muestra* no es más oscuro que el de la *Solución control*.

Si la solución del reactivo está preparada según se especifica en (b), emplear para la *Solución control* 10ml de la solución y agregarle un volumen de *Solución estándar de plomo* equivalente a la cantidad de plomo admitida en 2 g del reactivo. Diluir los restantes 30 ml de solución (b) con agua a 35 ml y proceder según se indica en el párrafo anterior, comenzando desde donde dice “agregar ácido acético diluido, o amoníaco (SR)...”.

Si el reactivo que se va a ensayar para detectar metales pesados es una sal de un ácido orgánico alifático, sustituir el ácido acético diluido especificado en el método anterior por ácido clorhídrico 1 N.

MATERIA INSOLUBLE EN REACTIVOS

Disolver la cantidad de reactivo especificada en el ensayo en 100 ml de agua, calentar a ebullición, a menos que se indique de otro modo, en un vaso de precipitados cubierto en un baño de vapor durante 1 hora. Filtrar la solución caliente a través de un crisol de vidrio sinterizado de porosidad fina, previamente pesado. Lavar el vaso de precipitados y el filtro con agua caliente, secar a 105 °C, enfriar en un desecador y pesar.

PÉRDIDA POR SECADO PARA REACTIVOS

Determinar según se indica en <680>. *Pérdida por secado*.

NITRATO EN REACTIVOS

Solución estándar de nitrato - Disolver 163 mg de nitrato de potasio en agua, agregar agua hasta obtener 100 ml. Diluir 10 ml de esta solución con agua a 1 litro, para obtener una solución que contenga el equivalente a 0,01 mg de NO₃ por mililitro.

Solución de sulfato de brucina - Disolver 600 mg de sulfato de brucina en 600 ml de ácido sulfúrico diluido libre de nitrato (2 en 3), previamente enfriado a temperatura ambiente y diluir con el ácido a 1 litro. [NOTA: preparar el ácido sulfúrico libre de nitratos agregando 4 partes de ácido sulfúrico a 1 parte de agua, calentando la solución hasta que se desprendan vapores densos de trióxido

de azufre y enfriándola. Repetir la dilución y el calentamiento tres o cuatro veces.]

Solución muestra - Al peso de muestra especificado para el reactivo, disuelto en el volumen designado de agua, agregar *Solución de sulfato de brucina* hasta obtener 50 ml.

Solución control - Agregar el peso de muestra especificado para el reactivo, a un volumen de *Solución estándar de nitrato* equivalente al peso de nitrato (NO_3) especificado para el reactivo y a continuación agregar *Solución de sulfato de brucina* hasta obtener 50 ml.

Solución blanco - Emplear 50 ml de *Solución de sulfato de brucina*.

Procedimiento - Calentar la *Solución muestra*, la *Solución control* y la *Solución blanco* en un baño de agua hirviendo durante 10 minutos, luego enfriar rápidamente en un baño de hielo a temperatura ambiente. Ajustar la lectura del aparato a cero, a 410 nm, con la *Solución blanco*. Determinar la absorbancia de la *Solución muestra*, registrar el resultado y ajustar el aparato a cero con la *Solución muestra*. Determinar la absorbancia de la *Solución control*: la lectura de absorbancia para la *Solución muestra* no es mayor a la de la *Solución control*.

COMPUESTOS NITROGENADOS EN REACTIVOS

Procedimiento - A menos que se indique de otro modo, detectar compuestos nitrogenados de la siguiente manera: disolver la cantidad especificada de muestra en 60 ml de agua libre de amoníaco, en un matraz de Kjeldahl conectado a través de una trampa a un condensador, cuyo extremo se sumerge en 10 ml de ácido clorhídrico 0,1 N. Agregar 10 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 10) recientemente hervida al matraz de Kjeldahl y 500 mg de alambre de aluminio, cortado en piezas pequeñas, dejar reposar durante 1 hora, evitando la pérdida de amoníaco y la exposición al mismo. Destilar 35 ml y diluir el destilado con agua a 50 ml. Agregar 2 ml de solución de hidróxido de sodio recientemente hervida (1 en 10), mezclar, agregar 2 ml de iodo-mercuriato de potasio alcalino (SR) y mezclar nuevamente: el color producido no es más oscuro que el de una *Solución control* que contenga la cantidad agregada de N (como cloruro de amonio), especificada en *Procedimiento* del ensayo individual.

FOSFATO EN REACTIVOS

Solución estándar de fosfato - Disolver 143,3 mg de fosfato monobásico de potasio seco, KH_2PO_4 , en agua para obtener 1 litro. Esta solución contiene el equivalente a 0,10 mg de fosfato (PO_4) en cada mililitro.

Reactivo para fosfato A - Disolver 5 g de molibdato de amonio en ácido sulfúrico 1 N para obtener 100 ml.

Reactivo para fosfato B - Disolver 200 mg de p-metilaminofenol sulfato en 100 ml de agua y agregar 20 g de bisulfito de sodio. Almacenar este reactivo en botellas totalmente llenas, tapadas perfectamente y emplear dentro del mes de su preparación.

Procedimiento - [NOTA: los ensayos con la *Solución muestra* y la *Solución control* se hacen en tubos de comparación.] Disolver la cantidad del reactivo especificado en el ensayo o el residuo obtenido después del tratamiento prescrito, en 20 ml de agua, calentando, si fuera necesario. Agregar 2,5 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 7) y diluir con agua a 25 ml. [NOTA: si se prefiere, la muestra o el residuo pueden disolverse en 25 ml de ácido sulfúrico aproximadamente 0,5 N.] Luego agregar 1 ml de *Reactivo para fosfato A* y 1 ml de *Reactivo para fosfato B*, mezclar y dejar reposar a temperatura ambiente durante 2 horas. Comparar el color azul producido con el de una *Solución control* preparada con iguales cantidades de los mismos reactivos que el ensayo con la *Solución muestra* y un volumen de *Solución estándar de fosfato* equivalente a la cantidad de fosfato (PO_4) establecida en las especificaciones del reactivo.

RESIDUO DE IGNICIÓN EN REACTIVOS

Procedimiento - A menos que se indique de otro modo, determinar el residuo de ignición de la siguiente forma: pesar exactamente entre 1 y 2 g de la sustancia a ensayar en un crisol apropiado, el cual previamente se ha sometido a ignición, enfriado y pesado. Someter a ignición la sustancia, suave y lentamente al principio y luego a una velocidad mayor, hasta que se carbonice totalmente, si la sustancia es orgánica, o hasta que se volatilice completamente, si la sustancia es inorgánica. Si se especifica el empleo de ácido sulfúrico, enfriar el crisol, agregar la cantidad especificada de ácido e incinerar el crisol suavemente hasta que no se desprendan más gases. Luego someter a ignición el crisol a 800 ± 25 °C, enfriar en un desecador apropiado y pesar. Si no se especifica el empleo de ácido sulfúrico, el crisol no necesita enfriarse pero se puede someter a ignición directamente a 800 ± 25 °C una vez que se haya carbonizado o volatilizado por completo. Continuar la ignición hasta peso constante, a menos que se especifique de otro modo.

Realizar la ignición en una campana extractora bien ventilada, pero proteger de las corrientes de aire y efectuar la combustión completa del carbono a la menor temperatura posible. Se puede emplear

una mufla pero su empleo se recomienda para la ignición final a 800 ± 25 °C.

SULFATO EN REACTIVOS

Solución estándar de sulfato - Disolver 181,4 mg de sulfato de potasio, previamente secado a 105 °C durante 2 horas, en agua para obtener 1 litro. Esta solución contiene el equivalente a 0,10 mg de sulfato (SO_4) por mililitro.

Procedimiento -

MÉTODO I - Neutralizar una solución de la cantidad del reactivo o residuo indicado en el ensayo en 25 ml de agua, si fuera necesario, o una solución preparada según se indica en el ensayo, con ácido clorhídrico o con amoníaco (SR), empleando papel de tornasol como indicador. Agregar 1 ml de ácido clorhídrico 1 N. Filtrar la solución, si fuera necesario, a través de un papel de filtro previamente lavado con agua y agregar 2 ml de cloruro de bario (SR). Mezclar, dejar reposar durante 10 minutos y comparar la turbidez, si la hubiera, con la producida por una *Solución control* que contiene las mismas cantidades de los mismos reactivos empleados en el ensayo y una cantidad de *Solución estándar de sulfato*, equivalente a la cantidad de sulfato (SO_4) permitida por el ensayo. Ajustar las dos soluciones con agua al mismo volumen antes de agregar el cloruro de bario (SR).

MÉTODO II - Calentar a ebullición la solución preparada según se indica en *Procedimiento* del ensayo individual o el filtrado designado en *Procedimiento*. Agregar 5 ml de cloruro de bario (SR). A continuación digerir la solución en un baño de vapor durante 2 horas y dejar reposar de la noche a la mañana. Si se forma precipitado, filtrar la solución a través de papel de filtro, lavar el residuo con agua caliente, y transferir el papel de filtro que contiene el residuo a un crisol previamente pesado. Carbonizar el papel de filtro, sin quemarlo, y someter a ignición el crisol y su contenido hasta peso constante. Realizar una determinación con un blanco y restar el peso del residuo obtenido para éste del obtenido en la determinación de la muestra para obtener el peso de sulfato de la muestra.

ESPECIFICACIONES DE RECTIVOS

A

Aceite mineral - Emplear *Vaselina liquida*.

Aceite de cedro (para aclarar preparados microscópicos) - Debe emplearse para este fin, aceite seleccionado y destilado de la madera del cedro rojo, *Juniperus virginiana* Linneo (Fam. Pinaceae). Índice de refracción: aproximadamente 1,504 a 20 °C. Para uso con lentes de inmersión homogénea se requiere un aceite especialmente preparado que tiene un índice de refracción de $1,5150 \pm 0,0002$, a 20 °C.

Acetaldehído - CH_3CHO - (PM: 44,1) - Líquido incoloro. Miscible con agua y alcohol.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a 30 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 30 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 150 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico CH_3CHO no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,330 y 1,334, a 20 °C.

Acetanilida - $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}$ - (PM: 135,2) - Cristales blancos, con brillo, generalmente en escamas o polvo cristalino blanco. Es inodoro y estable al aire. Poco soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol y cloroformo; soluble en agua hirviendo, éter y glicerina.

Intervalo de fusión <260> - Entre 114 y 116 °C.

Reacción - Su solución saturada es neutra frente al tornasol.

Pérdida por secado <680> - Secar sobre ácido sulfúrico durante 2 horas: no pierde más de 0,5 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,05 %.

Acetato cobaltoso - (*Acetato de Cobalto*) - $\text{Co}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 249,1) - Cristales rojos en forma de agujas. Soluble en agua y alcohol.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 5 g disueltos en 100ml de agua que contiene 2 ml de ácido acético glacial (0,02 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,1 mg de Cl (0,01 %).

Nitrato - Disolver 500 mg en 10 ml de agua, agregar, con agitación, 10 ml de hidróxido de sodio (SR) y calentar en un baño de vapor durante 30 minutos. Enfriar, diluir a 20 ml con agua, mezclar y filtrar. A 10 ml del filtrado agregar 5 mg de cloruro de sodio, 0,1 ml de índigo carmín (SR) y 10 ml de ácido sulfúrico: el color azul no desaparece por completo en 1 minuto (aproximadamente 0,02 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método II*. El filtrado del ensayo para *Materia insoluble*, excluyendo los lavados, no proporciona más de 2,5 mg de residuo (0,02 %).

Sustancias no precipitadas por sulfuro de hidrógeno - Disolver 2 g en aproximadamente 90 ml de agua y agregar 2 g de cloruro de amonio y suficiente amoníaco (SR) para redissolver el precipitado formado. Hacer pasar sulfuro de hidrógeno a través de esta solución hasta que el cobalto precipite completamente. Diluir con agua a 100,0 ml, mezclar y filtrar. Evaporar 50 ml del filtrado casi hasta sequedad, agregar 0,5 ml de ácido sulfúrico y someter a ignición a 800 ± 25 °C hasta peso constante: el residuo no pesa más de 3 mg (0,3 % como SO_4).

Cobre - Disolver 500 mg en 30 ml de agua y agregar 1 ml de ácido clorhídrico (A). Disolver otros 500 mg en 20 ml de agua y agregar 1 ml de ácido clorhídrico y 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR) (B). No se observa ninguna diferencia en color notoria entre A y B.

Niquel - Disolver 1 g en 200 ml de agua, agregar 1 g de citrato de sodio, calentar a ebullición. Agregar 100 ml de una solución alcohólica de dimetilglioxima (1 en 100) luego agregar 15 ml de amoníaco (SR) y dejar reposar de la noche a la mañana. Filtrar a través de un crisol filtrante previamente pesado, lavar con agua luego con alcohol diluido y secar a 105 °C hasta peso constante: el precipitado no pesa más de 25 mg (0,5 %).

Acetato cúprico - $\text{Cu}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ - (PM:199,7) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetato de amilo - (*Acetato de isoamilo*) - $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{C}_5\text{H}_{11}$ - (PM: 130,2) - Líquido claro, incoloro con olor a esencia de banana. Algo soluble en agua. Miscible con alcohol, alcohol amílico y éter. Densidad relativa: aproximadamente 0,87.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - *Método I.* No menos de 90 % destila entre 137 y 142°C.

Solubilidad en alcohol diluido - 1,0 ml se disuelve en 20 ml de alcohol diluido para formar una solución transparente.

Acidez - Agregar 5,0 ml a 40 ml de alcohol neutralizado y, si se produce color rosado, titular con hidróxido de sodio 0,10 N: no se requieren más de 0,20 ml para restaurar el color rosado (aproximadamente 0,02 % como CH₃COOH).

Agua - 5 ml con 5 ml de disulfuro de carbono proporciona una solución transparente.

Acetato de amonio - NH₄C₂H₃O₂ - (PM: 77,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetato de n-butilo - CH₃COO(CH₂)₃CH₃ - (PM: 116,2) - Líquido transparente, incoloro, de olor característico. Poco soluble en agua; miscible con alcohol. Densidad relativa: aproximadamente 0,88.

Intervalo de destilación <240> - No menos de 95% destila entre 123 y 126 °C.

Acetato de butilo normal - Ver Acetato de n-butilo.

Acetato de cadmio - C₄H₆CdO₄ · 2H₂O - (PM: 266,5) - Cristales incoloros, transparentes a translúcidos. Inodoro o con leve olor a ácido acético. Fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 20 g (0,005 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,01 mg de Cl (0,001 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método II.* Disolver 10 g en 100 ml de agua, agregar 1 ml de ácido clorhídrico y filtrar: el residuo no pesa más de 1,2 mg que el residuo obtenido en un ensayo en blanco (0,005 %).

Sustancias no precipitadas por sulfuro de hidrógeno - Disolver 2 g en una mezcla de 135 ml de agua y 15 ml de ácido sulfúrico 1 N, calentar a ebullición y hacer pasar una corriente rápida de sulfuro de hidrógeno a través de la solución a medida que ésta se enfría. Filtrar y a 75 ml del filtrado transparente agregar 0,25 ml de ácido sulfúrico luego evaporar hasta sequedad y someter a ignición suavemente: el residuo pesa no más de 1 mg (0,1 %).

Acetato de calcio - Ca(C₂H₃O₂)₂ · H₂O - (PM: 176,2) - Polvo cristalino o gránulos de color blanco. Fácilmente soluble en agua; poco soluble en alcohol.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1,0 mg, determinado sobre 10 g (0,010 %).

Alcalinidad y acidez - A una solución de 2,0 g en 25 ml de agua agregar fenolftaleína (SR): no se produce color rosado. Luego agregar hidróxido de sodio 0,10 N hasta que se produzca color rosado después de agitar: no se requieren más de 0,70 ml de álcali (0,2% como CH₃COOH).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,05 mg de Cl (0,005 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I.* 1 g no presenta más de 0,4 mg de SO₄ (0,04 %).

Álcalis y magnesio - Disolver 1 g en 50 ml de agua. Agregar 2 ml de ácido clorhídrico, calentar a ebullición y agregar 35 ml de solución de ácido oxálico (1 en 20). Lentamente neutralizar la solución, mientras se enfría, con agua de amoníaco fuerte luego diluir con agua a 100 ml y dejar reposar durante 4 horas o de la noche a la mañana. Filtrar y a 50 ml del filtrado agregar 5 gotas de ácido sulfúrico, evaporar y someter a ignición hasta peso constante: el residuo no es mayor a 1,5 mg (0,3 % como SO₄).

Bario - Disolver 2 g en 15 ml de agua, agregar 2 gotas de ácido acético glacial, filtrar y agregar al filtrado 0,3 ml de solución de dicromato de potasio (1 en 10): no se produce turbidez dentro de los 10 minutos de preparado (aproximadamente 0,01 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 0,001 %.

Hierro <580> - Disolver 500 mg en 47 ml de agua que contiene 2 ml de ácido clorhídrico. La solución no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,002 %).

Acetato de cinc - Zn(CH₃COO)₂ · 2H₂O - (PM: 219,5) - Cristales incoloros o placas blancas, cristalinas, con leve olor a ácido acético. Fácilmente soluble en agua y moderadamente en alcohol.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - 20 g disueltos en 200 ml de agua y 2 ml de ácido acético glacial no presentan más de 1,0 mg de materia insoluble (0,005 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 2 g no presentan más de 0,01 mg de Cl (5 ppm).

Nitrato - Disolver 1 g en 10 ml de agua y 50 µl de índigo carmín (SR) y luego agregar 10 ml de ácido sulfúrico: el color azul persiste durante 5 minutos (aproximadamente 0,005 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I.* Disolver 20 g en 200 ml de agua, agregar 1 ml de ácido clorhídrico y filtrar: el filtrado, con 10 ml de cloruro de bario (SR), no proporciona más de 1,0 mg de residuo (0,002 % como SO₄).

Metales alcalinos y alcalino térreos - Disolver 2 g en 140 ml de agua, agregar 10 ml de agua de amoníaco fuerte, precipitar completamente el cinc

con sulfuro de hidrógeno y filtrar. A 75 ml del filtrado agregar 5 gotas de ácido sulfúrico, evaporar y someter a ignición: el residuo no pesa más de 1 mg (0,1 %).

Arsénico <540> - Disolver 6 g en agua: no más de 0,5 ppm.

Hierro <580> - Disolver 2 g en 45 ml de agua y agregar 2 ml de ácido clorhídrico: la solución no presenta más de 0,01 mg (5 ppm).

Plomo <600> - Disolver 1 g en 20 ml de agua. A 5 ml de la solución, agregar 0,02 mg de Pb y 12 ml de solución de cianuro de potasio (3 en 20) y diluir con agua a 50 ml (A). A los restantes 15 ml agregar 12 ml de la solución de cianuro de potasio y diluir a 50 ml con agua (B). Luego a cada uno agregar 5 gotas de sulfuro de sodio (SR): B no es más oscuro que A (0,004 %).

Acetato de etilo - $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ - (PM: 88,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetato de estroncio - $\text{Sr}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 214,7) - Polvo blanco, cristalino. Fácilmente soluble agua; poco soluble en alcohol.

Valoración - Someter a ignición aproximadamente 3 g, exactamente pesados, en un crisol de platino. Enfriar, transferir el crisol con el residuo a un vaso de precipitados y agregar 50 ml de agua y 40,0 ml de ácido clorhídrico 1 N (SV). Calentar a ebullición suavemente durante 30 minutos o más, si fuera necesario, filtrar, lavar con agua caliente hasta que los lavados sean neutros, agregar rojo de metilo (SR) y titular el ácido en exceso con hidróxido de sodio 1 N (SV). Cada mililitro de ácido clorhídrico 1 N equivale a 107,4 mg de $\text{Sr}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$. Contiene no menos de 99 %.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 2 mg, determinado sobre 10 g (0,02 %).

Alcali libre o ácido libre - Disolver 3 g en 30 ml de agua y agregar 3 gotas de fenolftaleína (SR): no se produce color rosado. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) hasta color rosado. No se requieren más de 0,30 ml de hidróxido de sodio 0,1 N.

Bario - Disolver 1 g en 10 ml de agua y agregar 1 gota de ácido acético glacial y 5 gotas de solución de dicromato de potasio (1 en 10): no se produce turbidez dentro de los 2 minutos de preparado (aproximadamente 0,02 %).

Calcio - Someter a ignición 1 g hasta carbonizarlo completamente. Calentar el residuo con una mezcla de 3 ml de ácido nítrico y 10 ml de agua, filtrar, lavar con 5 ml de agua y evaporar el filtrado en un baño de vapor hasta sequedad. Pulverizar el residuo y secar a 120 °C durante 3 horas. Calentar a reflujo el polvo seco con 15 ml de

alcohol absoluto durante 10 minutos, enfriar en hielo y filtrar. Repetir la extracción con 10 ml de alcohol absoluto. Evaporar los filtrados combinados hasta sequedad, agregar 0,5 ml de ácido sulfúrico y someter a ignición: el peso del residuo no es mayor de 10 mg (0,3 % de Ca).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no contiene más de 0,1 mg de Cl (0,01 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 0,001 %.

Hierro <580> - Disolver 1,0 g en 45 ml de agua y agregar 2 ml de ácido clorhídrico: la solución no contiene más de 0,01 mg de Fe (0,001 %).

Sales alcalinas - Disolver 2 g en 80 ml de agua y calentar a ebullición. Agregar un exceso de carbonato de amonio (SR) y calentar a ebullición durante 5 minutos. Diluir con agua a 100 ml y filtrar. Evaporar 50 ml del filtrado y someter a ignición: el residuo, después de corregir por el residuo de ignición a partir de la mitad del volumen del carbonato de amonio (SR) transparente empleada anteriormente, no es mayor de 3 mg (0,3 %).

Nitrato - Disolver 1 g en 10 ml de agua, agregar 0,10 ml de índigo carmín (SR) y luego agregar 10 ml de ácido sulfúrico: el color azul persiste durante 5 minutos (aproximadamente 0,01 % de NO_3).

Acetato de isobutilo - $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_2$ - (PM: 116,2) - Líquido transparente, incoloro. Poco soluble en agua. Miscible con alcohol.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 130 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 30 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 180 °C, manteniéndose esa temperatura durante 10 minutos. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico principal no es menor de 99 % del área total.

Densidad relativa <160> - Entre 0,863 y 0,868.

Índice de refracción - Entre 1,3900 y 1,3920, a 20 °C.

Acetato de isoflupredona - (*Acetato de 9- α -Fluoroprednisolona*) - $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{FO}_6$ - (PM: 420,5) - Polvo blanco a blanco amarillento. Insoluble en agua; fácilmente soluble en piridina; soluble en alcohol y dioxano; poco soluble en cloroformo. Funde aproximadamente a 240 °C, con descomposición.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 4 horas: no pierde más de 1,0 % de su peso.

Acetato de magnesio - $Mg(C_2H_3O_2)_2 \cdot 4H_2O$ - (PM: 214,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetato de mentilo - (*Acetato de 2-isopropil-5-metilciclohexilo*) - $C_{12}H_{22}O_2$ - Líquido incoloro. Miscible con alcohol y éter. Poco soluble.

Índice de refracción <230> - Aprox. 1,447 a 20 °C.

Temperatura de ebullición - Aprox. a 225 °C.

Densidad relativa <160> - Aprox. 0,92.

Acetato de metilo - $C_3H_6O_2$ - (PM: 74,1) - Líquido incoloro, de olor característico. Soluble en agua. Miscible con alcohol y éter. Densidad relativa: aproximadamente 0,933.

Índice de refracción - Entre 1,3615 y 1,3625, a 20 °C.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 57 y 58 °C.

Acetato de mercurio (II) - $C_4H_6HgO_4$ - (PM: 318,7) - Cristales blancos, fácilmente solubles en agua, solubles en alcohol.

Acetato de plomo - $Pb(C_2H_3O_2)_2 \cdot 3H_2O$ - (PM: 379,4) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetato de potasio - $KC_2H_3O_2$ - (PM: 98,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetato de sodio - $NaC_2H_3O_2 \cdot 3H_2O$ - (PM: 136,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetato de sodio anhidro - $NaC_2H_3O_2$ - (PM: 82,0) - Masa o polvo blanco grisáceo. Es higroscópico. Fácilmente soluble en agua.

Pérdida por secado <680> - Secar a 120 EC hasta peso constante: no pierde más de 3,0 % de su peso.

Neutralidad - Disolver 5 g en 100 ml de agua, enfriar a 10 EC y agregar fenolftaleína (SR). Si se produce un color rosado, desaparece al agregar no más de 0,50 ml de ácido clorhídrico 0,020 N. Si no se produce color rosado, al agregar 0,50 ml de hidróxido de sodio 0,020 N se produce un color rosado (aproximadamente 0,02 % de álcali como Na_2CO_3 o aproximadamente 0,012 % de ácido como CH_3COOH).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,1 mg de Cl (0,01 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 0,0015 %.

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. 1 g no presenta más de 0,2 mg de SO_4 (0,02 %).

Acetato de uranilo - (*Acetato de uranio*) - $UO_2(C_2H_3O_2)_2 \cdot 2H_2O$ - (PM: 424,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetato de vinilo - $CH_3COOCHCH_2$ - (PM: 86,1) - Líquido.

Valoración - Inyectar un volumen apropiado en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μ m de espesor de goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 100 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 100 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 150 °C. Se emplea helio como gas transportador. La respuesta del pico de $CH_3COOCHCH_2$ no debe ser menor de 99,0 % de la respuesta total.

Acetato mercúrico - $Hg(C_2H_3O_2)_2$ - (PM: 318,7) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetilacetona - (*Pentano-2,4-diona*) - $C_5H_8O_2$ - (PM: 100,1) - Líquido incoloro o amarillento, fácilmente inflamable. Fácilmente soluble en agua; miscible con acetona, alcohol, éter y ácido acético glacial. Densidad relativa: Entre 1,452 y 1,453.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 138 y 140 °C.

Acetona - CH_3COCH_3 - (PM: 58,1) - Emplear *Acetona*.

[NOTA: para determinaciones espectrofotométricas al ultravioleta, emplear acetona grado espectrofotométrico.]

Acetona anhidra - CH_3COCH_3 - (PM: 58,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetonitrilo - (*Cianuro de metilo*) - CH_3CN - (PM: 41,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetonitrilo para cromatografía - Emplear un reactivo analítico apropiado que cumpla además con las siguientes especificaciones:

Pureza mínima - 99,9 %.

Transmitancia mínima - Proceder según se indica en 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*. La transmitancia debe ser de 98 % entre 255 y 420 nm, empleando agua como blanco.

Acetonitrilo para espectrofotometría - Emplear un reactivo analítico apropiado, que cumpla también los requisitos del siguiente ensayo.

Pureza espectral - Medir en una celda de 1 cm entre 250 y 280 nm, con un espectrofotómetro

apropiado, empleando aire como blanco: su absorbancia no es mayor a 0,01.

p-Acetotoluidida - $C_9H_{11}NO$ - (PM: 149,2) - Polvo blanco a casi blanco.

Valoración - Inyectar un volumen apropiado en un cromatógrafo de gases (ver 100.Cromatografía) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m × 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de espesor de goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 230 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 130 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de $C_9H_{11}NO$ no es menor de 98,5 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 145 y 151 °C.

Ácido acético - (*Ácido acético 6 N*) - Emplear *Ácido acético*.

Ácido acético diluido - (*Ácido acético 1 N*) - Diluir 60,0 ml de ácido acético glacial con agua hasta obtener 1 litro.

Residuo de evaporación - Evaporar 50 ml en un baño de vapor y secar el residuo a 105 °C durante 2 horas: el residuo no pesa más de 1 mg (0,002 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 5 ml no presentan más de 0,01 mg de Cl (2 ppm).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. 10 ml no presentan más de 0,5 mg de SO_4 (50 ppm).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - Evaporar 20 ml en un baño de vapor hasta sequedad. Agregar al residuo 2 ml de ácido, diluir con agua a 25 ml y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): cualquier color pardo producido no es más oscuro que el de un control que contiene 0,04 mg de Pb y 2 ml de acético ácido diluido (2 ppm).

Ácido acético glacial - CH_3COOH - (PM: 60,1) - Contiene no menos de 98,0 % p/p de CH_3COOH .

Densidad relativa <160> - Entre 1,052 y 1,053

Intervalo de destilación <240> - Entre 117 y 119°C

Ensayos generales de identificación <410> - Cumple con los requisitos para *Acetato*.

Valoración - Tomar 5,00 g de ácido acético glacial y diluir a 100 ml con agua. Valorar 25 ml de esta solución con hidróxido de sodio 1 N (SV) empleando como indicador 0,5 ml de fenolftaleína (SR).

Sensibilidad - A 20 ml agregar aproximadamente 5 mg de cristal violeta: el color de la solución resultante es púrpura.

Ácido acrílico - $C_3H_4O_2$ - (PM: 72,1) - Líquido incoloro. Miscible con agua, alcohol y éter.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100.Cromatografía) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m × 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 150 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 50 °C, programando un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 200 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico $C_3H_4O_2$ no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,419 y 1,423, a 20 °C.

Ácido adípico - $C_6H_{10}O_4$ - (PM: 146,1) - Polvo cristalino incoloro a blanco. Poco soluble en agua y ciclohexano; soluble en alcohol, metanol y acetona; prácticamente insoluble en éter de petróleo.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 0,3g y disolver en 50 ml de alcohol. Agregar 25 ml de agua, mezclar y titular con hidróxido de sodio 0,5 N (SV) hasta alcanzar un pH de 9,5. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,5 N equivale a 36,54 mg de $C_6H_{10}O_4$. Contiene no menos de 98 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 151 y 155 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 2 °C.

Ácido aminoacético - (*Glicina*) - NH_2CH_2COOH - (PM: 75,1) - Polvo blanco, cristalino. Muy soluble en agua; poco soluble en alcohol.

Compuestos nitrogenados (Ensayo para reactivos) Determinar mediante el método de Kjeldahl, empleando una muestra previamente secada a 105 °C durante 2 horas. Contiene entre 18,4 y 18,8 % de N, correspondiente a no menos de 98,5 % de $C_2H_5NO_2$.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 10 g (0,01 %).

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,05 %.

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,1 mg de Cl (0,01 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. 2 g no presentan más de 0,1 mg de SO_4 (0,005 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 0,001 %, emplear 5 ml de ácido clorhídrico 1N para acidificar la solución muestra.

Hierro <580> - 1 g, disuelto en 47 ml de agua con 3 ml de ácido clorhídrico, no contiene más de 0,01mg de Fe (0,001 %).

Ácido p-aminobenzoico - Ver Ácido paraaminobenzoico.

Ácido 4-amino-2-clorobenzoico -(PM: 171,6) - $C_6H_3Cl(NH_2)(COOH)$ - Cristales blancos o polvo blanco cristalino.

Intervalo de fusión <260> - Entre 208 y 212 °C.

Ácido 7-aminodesacetoxicefalosporánico - (PM: 214,2) - $C_8H_{10}N_2O_3S$ - Polvo amarillo brillante.

Impurezas comunes <510> -

Fase móvil - Cloruro de sodio 0,5 N.

Solución estándar - Emplear hidróxido de amonio 1 N como solvente.

Solución muestra - Emplear hidróxido de amonio 1 N como solvente.

Revelador - 1.

Ácido 4-amino-3-hidroxi-1-naftalensulfónico - $C_{10}H_9NO_4S$ - (PM: 239,3) - Polvo color púrpura brillante.

Solubilidad en hidróxido de amonio - Disolver 50 mg en 1 ml de hidróxido de amonio: la solución es de color marrón oscuro.

Punto de fusión <260> - Aprox. 295 °C, con descomposición.

Ácido 1,2,4-aminonaftolsulfónico - $C_{10}H_9NO_4S$ - (PM:239,3) - Polvo blanco a rosado, algo pardusco. Moderadamente soluble en agua.

Sensibilidad - Disolver 100 mg en 50 ml de solución de bisulfito de sodio recientemente preparada (1 en 5), calentando si fuera necesario para favorecer la disolución y filtrar. Agregar 1 ml del filtrado a una solución preparada agregando 2 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 6) y 1 ml de *Reactivo para fosfato A* (ver *Ensayos para reactivos*) a 20 ml de una dilución 1 en 100 de *Solución estándar de fosfato* (ver *Ensayos para reactivos*): se desarrolla un color azul característico a los 5 minutos.

Solubilidad en solución de carbonato de sodio - Disolver 100 mg en 3 ml de carbonato de sodio (SR) y agregar 17 ml de agua: sólo quedan trazas sin disolver.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - A 1 g agregar 0,5 ml de ácido sulfúrico y someter a ignición a 800 ± 25 °C hasta peso constante: el residuo no pesa más de 5 mg (0,5 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. Calentar 500 mg con una mezcla de 25 ml de agua y 2 gotas de ácido clorhídrico en un baño de vapor durante 10 minutos. Enfriar, diluir con agua a 200 ml y filtrar: 20 ml del filtrado no contienen más de 0,25 mg de SO_4 (0,5 %).

Ácido aminopropiónico - (β -Alanina) - $C_3H_7NO_2$ - (PM: 89,1) - Debe contener no menos

de 99,0 % de $C_3H_7NO_2$. Polvo cristalino blanco, fácilmente soluble en agua, poco soluble en alcohol, prácticamente insoluble en acetona y éter.

Punto de fusión <260> - Aprox. 200 °C, con descomposición.

Ácido 3-aminosalicílico - $C_7H_7NO_3$ - (PM: 153,1) - Polvo color gris.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor

Fase móvil - Butanol, agua y ácido acético (60:25:15).

Procedimiento - Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: se observa una sola mancha, con trazas de impurezas.

Punto de fusión <260> - Aprox. 240 °C, con descomposición.

Ácido benzoico - C_6H_5COOH - (PM: 122,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido 4,4'-bis(4-amino-1-naftilazo)-2,2'-etilbenodisulfónico - $C_{34}H_{26}N_6O_6S_2$ - (PM: 678,7) - Emplear uno de grado apropiado.

Ácido bis(2-etilhexil)fosfórico - [*bis*(2-etilhexil)fosfato.] -

$[CH_3(CH_2)_3CH(C_2H_5)CH_2]_2HPO_4$ - (PM: 322,4) - Líquido amarillo brillante, viscoso. Insoluble en agua; fácilmente soluble en cloroformo y acetato de etilo. Índice de refracción:aproximadamente 1,443. Densidad relativa: aproximadamente 0,997.

Valoración - Disolver aproximadamente 250 mg, exactamente pesados, en 50 ml de dimetilformamida, agregar 3 gotas de solución de azul de timol (1 en 100) en dimetilformamida. Titular con metóxido de sodio 0,1 N (SV) hasta punto final azul. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de metóxido de sodio 0,1 N equivale a 32,24 mg de $(C_8H_{17})_2HPO_4$. Contiene entre 95 y 105 %.

Solubilidad - 1 volumen se disuelve en 9 volúmenes de cloroformo para proporcionar una solución transparente y 1 volumen se disuelve en 9 volúmenes de acetato de etilo para proporcionar una solución transparente.

Color - Una solución (1 en 100) en cloroformo presenta una absortividad no mayor de 0,03, a 420 nm.

Ácido bórico - H_3BO_3 - (PM: 61,8) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido 4-(butilamino)benzoico - $C_{11}H_{15}NO_2$ - (PM: 193,3) - [4740-24-3]. Emplear uno de grado apropiado.

Ácido butírico - $C_4H_8O_2$ - (PM: 88,1) - Líquido transparente, incoloro a débilmente amarillo. Miscible con agua y metanol.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 500 mg, transferir a un recipiente apropiado, agregar 30 ml de agua y mezclar. Agregar 40 ml de agua y mezclar. Agregar fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV). Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 8,81 mg de $C_4H_8O_2$: no debe contener menos de 99,0 % de $C_4H_8O_2$.

Ácido cafeico - (*Ácido (E)-3-(3,4-dihidroxifenil)-2-propenoico*) - $C_9H_8O_4$ - (PM: 180,2) - Cristales o placas blancos o casi blancos, fácilmente solubles en alcohol y agua caliente; solubles en agua fría.

Punto de fusión <260> - Aprox. 225 °C, con descomposición.

Absorción ultravioleta <470> - Una solución de pH 7,6 recientemente preparada presenta dos máximos de absorción a 293 y 329 nm, respectivamente.

Ácido calconacarboxílico - (*Ácido 2-hidroxi-1-(2-hidroxi-4-sulfo-1-naftilazo)-3-naftalenocarboxílico*) - $C_{21}H_{14}N_2O_7S \cdot 3H_2O$ - (PM: 492,5) - Polvo pardo negruzco. Moderadamente soluble en soluciones diluidas de hidróxido de sodio; poco soluble en agua; muy poco soluble en acetona y alcohol.

Ácido dl-10-canforsulfónico - $C_{10}H_{16}O_4S$ - (PM: 232,3) - Cristales o polvo blanco a casi blanco. Es ópticamente inactivo.

Punto de fusión <260> - Aprox. 199 °C, con descomposición.

Ácido cianoacético - $C_3H_3NO_2$ - (PM: 85,1) - Sólido cristalino con un color entre blanco y amarillo claro. Muy soluble en agua.

Valoración - Disolver aproximadamente 300 mg, exactamente pesados, en 25 ml de agua y 25 ml de alcohol. Titular con hidróxido de sodio (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a $C_3H_3NO_2$. Contiene no menos de 99 %.

Ácido (1,2-ciclohexilendinitrilo)tetraacético - (*trans-1,2-diaminociclohexano-N,N,N',N'-tetraacético*) - $C_{14}H_{22}N_2O_8 \cdot H_2O$ - (PM: 364,4) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido cítrico - Emplear la forma monohidratada de *Ácido Cítrico*.

Ácido cítrico anhidro - $C_6H_8O_7$ - (PM: 192,1) - Emplear Ácido cítrico anhidro de grado apropiado.

Ácido clorhídrico - HCl - (PM: 36,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido clorhídrico diluido (10 %) - Preparar mezclando 226 ml de ácido clorhídrico con agua en cantidad suficiente hasta obtener 1 litro.

Ácido clorhídrico libre de plomo - HCl - (PM: 36,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado que cumpla con los siguientes ensayos.

Emisión atómica <440> -

Ácido nítrico - Someter a destilación sin ebullición ácido nítrico.

Soluciones estándar - Emplear Solución de plomo (0,1 ppm) (SL) y diluir con *ácido nítrico*.

Solución muestra - Evaporar 200 g de la muestra en ensayo en un crisol de cuarzo hasta casi sequedad. Recolectar el residuo con 5 ml de *ácido nítrico* y evaporar hasta sequedad. Recolectar el residuo con 5 ml de *ácido nítrico*.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Método 1*, determinando la intensidad de emisión a 220,35 nm. El límite es 20 ppm.

Ácido cloroacético - $C_2H_3ClO_2$ - (PM: 94,5) - Cristales blancos o incoloros, delicuescentes. Muy solubles en agua; solubles en alcohol y éter.

Ácido 2-cloro-4-aminobenzoico - Ver Ácido 4-Amino-2-clorobenzoico.

Ácido 4-clorobenzoico - ClC_6H_4COOH - (PM: 156,6) - Sólido blanco, cristalino.

Valoración - Disolver aproximadamente 700 mg, exactamente pesados, en una mezcla de 100 ml de alcohol caliente y 50 ml de agua. Titular con hidróxido de sodio 0,5 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,5 N equivale a 78,28 mg de ClC_6H_4COOH . Contiene no menos de 98 %.

Solubilidad - 1 g disuelto en 25 ml de hidróxido de sodio 0,5 N proporciona una solución transparente y completa.

Ácido clorogénico - $C_{16}H_{18}O_9$ - (PM: 354,3) - Polvo blanco o casi blanco. Emplear uno de grado apropiado.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para

cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Alcohol butílico, agua y ácido acético (60:25:15).

Procedimiento - Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm.

Ácido cloroplatínico - $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 517,9) - Emplear Ácido cloroplatínico hexahidrato de grado apropiado.

Ácido 5-cloro salicílico - $\text{C}_7\text{H}_5\text{ClO}_3$ - (PM: 172,6) - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Soluble en metanol.

Punto de fusión <260> - Aprox. a 173 °C.

Ácido cromotrópico - (*Ácido 1,8-Dihidroxi-naftaleno-3,6-disulfónico*) - $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_8\text{S}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 356,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido 2,6-diclorofenilacético - $\text{C}_8\text{H}_6\text{Cl}_2\text{O}_2$ - (PM: 205,0) - Polvo blanco.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un ascenso de 10°C por minuto hasta 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de $\text{C}_8\text{H}_6\text{Cl}_2\text{O}_2$ no es menor de 97 % del área total.

Ácido 2,5-dihidroxi-benzoico - $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4$ - (PM: 154,1) - Polvo casi blanco. Fácilmente soluble en alcohol dando una solución transparente de color amarillo muy claro.

Valoración - Disolver aproximadamente 75 mg, exactamente pesados, en 30 ml de metanol. Lentamente agregar 40 ml de agua. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 15,41 mg de $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4$. Contiene no menos de 99 %.

Punto de fusión <260> - Aprox. 207 °C, con descomposición.

Ácido dimercaptosuccínico - (PM: 182,2) - $\text{HO}_2\text{CCH}(\text{SH})\text{CH}(\text{SH})\text{COOH}$ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido esteárico - $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$ - (PM: 284,5) - Cristales duros, blancos o polvo amorfo, blanco.

Fácilmente soluble en cloroformo y éter; soluble en alcohol y éter de petróleo.

Temperatura de solidificación <180> - Entre 67 y 69 °C.

Índice de acidez <480> - Entre 196 y 199.

Índice de yodo <480> - No más de 1.

Índice de saponificación <480> - Entre 197 y 200.

Ácido palmítico - Determinar según se indica en *Valoración de Ácido esteárico*: contiene no más de 5,0 %.

Ácido fluorhídrico - HF - (PM: 20,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido fórmico - HCOOH - (PM: 46,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado, 88 %.

Ácido fórmico anhidro - HCOOH - (PM: 46,0) - Debe contener no menos de 98,0 % de CH_2O_2 . Líquido incoloro, corrosivo, miscible con agua y alcohol.

Densidad relativa <160> - Aprox. 1,22 a 20 °C.

Valoración -

Pesar exactamente una matraz cónico que contenga 10 ml de agua. Agregar 1 ml de ácido fórmico anhidro y pesar nuevamente. Agregar 50 ml de agua y titular con hidróxido de sodio 1 M en presencia de 0,5 ml de fenoftaleína (SR1). Cada ml de hidróxido de sodio 1 M consumido equivale a 46,03 mg de CH_2O_2 .

Ácido fórmico, 96 % - HCOOH - (PM: 46,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado, 96 %.

Ácido fosfomolibdico - (PM: 3.939,5) - Aproximadamente $20\text{MoO}_3 \cdot \text{P}_2\text{O}_5 \cdot 51\text{H}_2\text{O}$ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido fosfórico - H_3PO_4 - (PM: 98,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido fosfórico diluido - Ácido fosfórico al 10 %.

Ácido fosforoso - H_3PO_3 - (PM: 82,0) - Masa cristalina blanca muy higroscópica y delicuescente; se oxida lentamente por el oxígeno (aire) a H_3PO_4 . Cristales ortorrómbicos inestables, solubles en alcohol, agua y una mezcla de éter y alcohol (3:1).

Densidad relativa <160> - Aprox. 1,654.

Punto de fusión <260> - Aprox. 73 °C.

Ácido fosfotúngstico - (PM: 6.624,9) - Aproximadamente $24\text{WO}_3 \cdot \text{P}_2\text{O}_5 \cdot 51\text{H}_2\text{O}$ - Cristales verdes, blancos o amarillentos o polvo cristalino. Soluble en agua, alcohol y éter.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 5 g (0,02 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,3 mg de Cl (0,03 %).

Nitrato - Disolver 500 mg en 10 ml de agua y agregar aproximadamente 10 mg de cloruro de sodio, 0,1 ml de índigo carmín (SR) y 10 ml de ácido sulfúrico: el color azul no desaparece dentro de 1 minuto (aproximadamente 0,01 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. 500mg no presentan más de 0,1 mg de SO₄ (0,02 %).

Ácido ftálico - C₈H₆O₄ - (PM: 166,1) - Polvo cristalino entre incoloro y blanco. Soluble en alcohol y metanol; poco soluble en agua; prácticamente insoluble en cloroformo.

Valoración - Transferir aproximadamente 2,8 g, exactamente pesados, a un erlenmeyer de 250 ml, y agregar 50,0 ml de hidróxido de sodio 1 N (SV). Agregar 25 ml de agua y calentar en una placa calefactora hasta que la disolución se complete. Agregar fenoltaleína (SR) y titular el hidróxido de sodio en exceso con ácido sulfúrico 1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 1 N equivale a 83,06 mg de C₈H₆O₄. Contiene no menos de 98 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 205 y 209 °C, con descomposición, empleando un tubo capilar cerrado.

Ácido gálico - C₆H₂(OH)₃COOH · H₂O - (PM: 188,1) - Cristales o polvo blanco, o casi blanco. Moderadamente soluble en agua fría; muy soluble en agua hirviendo y alcohol.

Distinción con ácido tánico - Su solución fría, saturada, no colorea ni precipita soluciones de sales ferrosas puras y no proporciona precipitado con gelatina (SR).

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - 10 g, disuelta en 300 ml de agua caliente, presentan no más de 1 mg de materia insoluble (0,01 %).

Residuo de ignición - Incinerar 10 g, enfriar, agregar 1 ml de ácido sulfúrico e incinerar nuevamente: el residuo no pesa más de 1 mg (0,01 %).

Sulfato - Disolver 2 g en 50 ml de agua caliente, enfriar en agua con hielo mientras se agita y filtrar. Diluir el filtrado a 50 ml y a 25 ml del filtrado agregar 1 ml de ácido clorhídrico 1 N y 2 ml de cloruro de bario (SR). La turbidez producida en 10 minutos no excede la de un estándar que contiene 0,05 mg de sulfato (SO₄), 1 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 12) y 2 ml de cloruro de bario (SR) (0,005 %).

Ácido glicirrónico - (*Ácido glicirretínico*; *Ácido glicirrético*; *Ácido 12,13-Dideshidro-3β-hidroxi-11-oxo-30-oleanoico*) - C₃₀H₄₆O₄ - (PM: 470,7) - Mezcla de Ácido

α-glicirrónico y *Ácido β-glicirrónico* con predominio del isómero β. Polvo blanco a pardo amarillento; soluble en ácido acético glacial y alcohol, prácticamente insoluble en agua.

Rotación específica <170> - Entre +145° y +155°, determinado sobre una solución de 10,0 g por litro en alcohol.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en placa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia con 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo y metanol (95:5).

Revelador - Anisaldehído (SR1).

Solución muestra - Ácido glicirrónico 5 g por litro en una mezcla de cloroformo y metanol (1:1).

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 5 ml de la *Solución muestra*. Desarrollar el cromatograma hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente la mitad de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, dejar secar y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm: el cromatograma debe presentar una mancha oscura con un valor de *R_f* de aproximadamente 0,3 correspondiente al ácido β-glicirrónico y una mancha más pequeña con un valor de *R_f* de aproximadamente 0,5 correspondiente al ácido α-glicirrónico. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar entre 100 y 105 °C durante de 10 minutos: las dos manchas deben producir coloración violeta. Puede aparecer entre ambas una mancha más pequeña con la misma coloración.

Ácido D-glucónico, 50 % en agua - C₆H₁₂O₇ - (PM: 196,2) - Líquido amarillo pálido.

Valoración - Diluir aproximadamente 200 mg de la solución, exactamente pesada, con 30 ml de agua. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 19,62 mg de C₆H₁₂O₇. Contiene no menos de 49,0 %.

Índice de refracción - Entre 1,4160 y 1,4180, a 20 °C.

Rotación específica <170> - Entre +9,9° y +1,9°, determinado sobre la solución tal cual, a 20 °C.

Ácido p-hidroxibenzoico - C₇H₆O₃ - (PM: 138,1) - Cristales blancos.

Valoración - Transferir aproximadamente 700mg, exactamente pesados a un envase apropiado y disolver en 50 ml de acetona. Agregar 100 ml de agua, mezclar y titular con hidróxido de sodio 0,5 N (SV), determinando el punto final

potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,5 N equivale a 69,06 mg de $C_7H_6O_3$. Contiene no menos de 97 %.

Punto de fusión <260> - 216 °C, con un intervalo de fusión de 2 °C.

Ácido 4-hidroxibenzoico isopropil éster - (PM: 180,2) - $HOC_6H_4COOCH(CH_2)_2$ - Emplear uno de grado apropiado.

Intervalo de fusión <260> - Entre 84 y 87 °C.

Ácido 4-hidroxiisoftálico - $C_8H_6O_4$ - (PM: 182,1) Agujas ramificadas incoloras. Fácilmente soluble en alcohol y éter.

Intervalo de fusión <260> - Entre 308 y 310 °C, con descomposición a una temperatura entre 314 y 315 °C.

Ácido hipofosforoso, 50 % - (*Ácido hipofosforoso*) - HPH_2O_2 - (PM: 66,0) - Líquido incoloro a débilmente amarillo. Miscible con agua y alcohol.

Valoración - Pesar exactamente 4 ml, diluir con 25 ml de agua y agregar rojo de metilo (SR). Titular con hidróxido de sodio 1 N (SV). Cada mililitro de hidróxido de sodio 1 N equivale a 66,00 mg de HPH_2O_2 . Contiene no menos de 48 %.

Cloruro - Agregar 0,2 ml a una mezcla de 10 ml de nitrato de plata (SR) y 5 ml de ácido nítrico y calentar hasta que no se generen gases pardos: cualquier residuo blanco insoluble es mínimo.

Fosfato - Diluir 1 ml con agua a 50 ml, alcalinizar con amoníaco (SR), filtrar si se forma un precipitado y agregar al filtrado 5 ml de mezcla de magnesia (SR): no más que un leve precipitado se forma dentro de los 5 minutos.

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. Diluir 1 ml con agua a 50 ml: 20 ml de solución no presentan más de 0,2 mg de SO_4 .

Ácido iodhídrico - HI - (PM: 127,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado (conteniendo no menos de 47,0 % de HI).

Ácido iódico - HIO_3 - (PM: 175,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido lactobiónico - $C_{12}H_{22}O_{12}$ - (PM: 358,3) - Polvo cristalino blanco. Fácilmente soluble en acetona; prácticamente insoluble en alcohol.

Punto de fusión - Aprox. a 115 °C.

Ácido litocólico - $C_{24}H_{40}O_3$ - (PM: 376,6) - Polvo blanco.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100.

Cromatografía) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno, 1,4-dioxano y ácido acético (15,2:4,2:0,6).

Revelador - Ácido sulfúrico y metanol (1:1).

Procedimiento - Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar a 110 °C durante 20 minutos. Examinar la placa visualmente y bajo luz ultravioleta a 366 nm.

Intervalo de fusión <260> - Entre 184 y 186 °C.

Ácido maleico - $C_4H_4O_4$ - (PM: 116,1) - Polvo blanco, inodoro, cristalino. Fácilmente soluble en agua, alcohol; soluble en éter.

Valoración - Disolver aproximadamente 2 g, exactamente pesados, en 100 ml de agua y titular con hidróxido de sodio 1 N (SV), empleando fenolftaleína (SR) como indicador. Cada mililitro de hidróxido de sodio 1 N equivale a 58,04 mg de $C_4H_4O_4$. Contiene no menos de 99 % de $C_4H_4O_4$, calculado sobre la sustancia seca.

Pérdida por secado - Secar al vacío sobre pentóxido de fósforo durante 2 horas: no pierde más de 1,5 % de su peso.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,1 %.

Ácido metacrílico - Emplear uno de grado apropiado.

Ácido metafosfórico - (*Metafosfato ácido de sodio vítreo*) - HPO_3 - (PM: 80,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido metanosulfónico - CH_3O_3S - (PM: 96,1) - Emplear uno de grado apropiado.

Ácido 5-metoxi-2-metil-3-indolacético - (PM: 219,2) - $C_{12}H_{13}NO_3$ - Polvo casi blanco.

Valoración - Transferir aproximadamente 110 mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados de 100 ml. Agregar 30 ml de metanol y disolver mediante agitación. Agregar 40 ml de agua y mezclar. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 21,92 mg de $C_{12}H_{13}NO_3$. Contiene no menos de 98 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 161 y 168 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 3 °C.

Ácido molibdico - (*Ácido molibdico al 85 %*) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido monocloroacético - $CH_2ClCOOH$ - (PM: 94,5) - Cristales incoloros o blancos, deliquescentes, inodoros en frío. Muy soluble en

agua; soluble en alcohol y éter. Almacenar en envases bien cerrados, en un sitio fresco.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 3 g, transferirlos a un envase apropiado y disolver en 50 ml de agua. Agregar fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 1 N (SV). Cada mililitro de hidróxido de sodio 1 N equivale a 94,50 mg de CH_2ClCOOH . Contiene no menos de 99,0 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 61,0 y 64,0 °C.

Materia insoluble - No más de 1,0 mg, determinado sobre 10 g (0,010 %).

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 5,0 g; el residuo no pesa más de 1,0 mg (0,02 %). [NOTA: retener el residuo.]

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,01 mg de Cl (0,001 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. 1 g no presenta más de 0,2 mg de SO_4 (0,02 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - Ensayar 2,0 g; no más de 0,001 %.

Hierro <580> - Digerir el residuo remanente del ensayo para *Residuo de ignición* con 6 ml de ácido clorhídrico en un baño de vapor hasta disolución completa luego diluir con agua a 150 ml. A 10 ml de la solución agregar 1,5 ml de ácido clorhídrico y diluir con agua a 47 ml: la solución no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,003 %).

Ácido 2-naftalenosulfónico - $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_3\text{S} \cdot \text{H}_2\text{O}$ - (PM: 226,3) - Cristales casi blancos a gris claro. Soluble en agua.

Valoración - Disolver aproximadamente 1 g, exactamente pesado, en 100 ml de agua, agregar fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 22,63 mg de $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_3\text{S} \cdot \text{H}_2\text{O}$. Contiene no menos de 98,0 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 122 y 126 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 2 °C.

Ácido

***N*-(2-hidroxi)etil)piperazina-*N'*-2-etanosulfónico**
- Ver HEPES.

Ácido nicotínico - Emplear *Niacina*.

Ácido nítrico - HNO_3 - (PM: 63,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido nítrico fumante - (*Ácido nítrico al 90 %*)
- HNO_3 - (PM: 63,0) - Emplear Ácido nítrico al 90 %.

Ácido nítrico diluido - (*Ácido nítrico al 10 %*)
- Diluir 105 ml de ácido nítrico con agua a 1 litro.

Ácido nítrico libre de plomo - Emplear un reactivo analítico apropiado.

A 100 g agregar carbonato de sodio anhidro y evaporar a sequedad. Disolver el residuo en agua, calentando suavemente y diluir a 50 ml con el mismo solvente.

Determinar el contenido de plomo por espectrometría de absorción atómica midiendo la absorbancia a 283,3 nm o 217,0 nm, utilizando una lámpara de cátodo hueco y una llama de acetileno e. No debe contener más de 0,0001 % de plomo.

Ácido nitrilotriacético - $\text{N}(\text{CH}_2\text{COOH})_3$ - (PM: 191,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido nonanoico - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido oxálico - $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 126,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido palmítico - (*Ácido hexanodecanoico*) - $\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$ - (PM: 256,4) - Escamas blancas cristalinas. Fácilmente solubles en alcohol caliente y éter; prácticamente insoluble en agua.

Ácido paraaminobenzoico - (*Ácido p-aminobenzoico*) - $\text{H}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{COOH}$ - (PM: 137,1) - Cristales o polvo cristalino blanco o algo amarillo, inodoro, se decolora por exposición al aire o a la luz. Fácilmente soluble en agua hirviendo, alcohol, soluciones de hidróxidos alcalinos y carbonatos; soluble en glicerina caliente; moderadamente soluble en ácido clorhídrico diluido y éter; poco soluble en cloroformo y agua. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto.

Valoración - Pesar con exactamente 300 mg, previamente secados a 105 °C durante 2 horas y transferir a un vaso de precipitados o cristizador. Agregar 5 ml de ácido clorhídrico y 50 ml de agua y agitar hasta disolución. Enfriar a aproximadamente 15 °C, agregar aproximadamente 25 g de hielo molido. Titular lentamente con nitrito de sodio 0,1 M (SV) hasta que una varilla de vidrio sumergida en la solución de titulación produzca inmediatamente un anillo azul cuando toca un papel de yoduro de almidón. Cuando la titulación se completa, el punto final es reproducible después de que la mezcla se ha dejado reposar durante 1 minuto. Cada mililitro de nitrito de sodio 0,1 M equivale a 13,71 mg de $\text{C}_7\text{H}_7\text{NO}_2$. Contiene no menos de 98,5 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 186 y 189 °C.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 2 horas: no pierde más de 0,2 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,1 %.

Ácido perclórico - (*Ácido perclórico al 70 %*) - HClO_4 - (PM: 100,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado (que contenga entre 70,0 y 72,0 % de HClO_4).

Ácido periódico - H_5IO_6 - (PM: 227,9) - Cristales de color blanco a amarillo pálido. Muy soluble en agua. Experimenta descomposición lenta a ácido iódico.

Valoración - Disolver aproximadamente 120 mg, exactamente pesados, en agua. Agregar 5 ml de ácido clorhídrico y 5 g de ioduro de potasio luego agregar 3 ml de almidón (SR) y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 2,849 mg de H_5IO_6 . Contiene no menos de 99 %.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1,0 mg, determinado sobre 10,0 g (0,01 %).

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 2 mg, determinado sobre 10,0 g, someter a ignición durante 10 minutos (0,02 %). [NOTA: retener para el ensayo de *Metales pesados*.]

Sulfato - Pesar exactamente 1 g, agregar de 10 a 20 mg de carbonato de sodio anhidro y evaporar hasta sequedad tres veces con porciones de 5 ml de ácido clorhídrico. Disolver en 25 ml de agua, agregar 1 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 10) luego agregar 1 ml de cloruro de bario (SR) y comparar la turbidez con la *Solución de sulfato estándar* (ver *Sulfato en Reactivos*). 1 g no presenta más de 0,1 mg de SO_4 (0,01 %).

Otros halógenos - Disolver 1,0 g en 100 ml de agua, agregar 1 ml de ácido fosfórico y 5 ml de peróxido de hidrógeno al 30 % y calentar a ebullición para liberar el iodo. Diluir con agua a 100 ml. A una alícuota de 20 ml, agregar 3 ml de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata (SR). Comparar la turbidez con la de una solución preparada en forma similar con *Solución de cloruro estándar* (ver *Cloruro en Reactivos*) que contenga 0,02 mg de cloruro (0,01 %).

Metales pesados - Al *Residuo de ignición* agregar varias gotas de ácido acético y calentar para disolver. Transferir a un tubo de ensayo y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR). Comparar el color con el de *Solución de plomo estándar* (ver 590. *Límite de metales pesados*) que contenga 0,5 mg de Pb (0,005 %).

Hierro - Disolver 1,0 g en 50 ml de agua, agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 2) y 10 ml de solución de clorhidrato de hidroxilamina (1 en 5) y evaporar hasta sequedad para liberar el

iodo. Disolver el residuo en agua, agregar 2 ml de solución de 1,10-fenantrolina (1 en 1000) y 10 ml de solución de acetato de sodio (1 en 5) y comparar el color con el de una solución que contiene 0,03 mg de hierro, tratado en forma similar (0,003 %).

Ácido pícrico - (2, 4, 6-*Trinitrofenol*; *Trinitrofenol*) - $\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})(\text{NO}_2)_3$ -1,2,4,6 - (PM: 229,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido picrolónico - [3-*Metil-4-nitro-1-(p-nitrofenil)-5-pirazolona*.] - $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_5$ - (PM: 264,2) - Polvo cristalino amarillo a amarillo pardusco. Poco soluble en agua; soluble en alcohol, cloroformo, éter y en soluciones de hidróxidos alcalinos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 115 y 117 °C.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 200 mg.

Sensibilidad - Disolver 25 mg en 10 ml de agua caliente que contenga 0,1 ml de ácido acético glacial y filtrar la solución, si fuera necesario. Disolver 100mg de cloruro de calcio en 250 ml de agua y mezclar. Calentar 1 ml de la solución de cloruro de calcio en un tubo de ensayo a aproximadamente 60 °C luego agregar 1 ml de la solución de ácido picrolónico: se forma un precipitado voluminoso en 5 minutos o menos.

Ácido pirúvico - CH_3COCOOH - (PM: 88,1) - Líquido incoloro a amarillo claro. Miscible con agua, alcohol y éter. Índice de refracción: aproximadamente 1,43, a 20 °C.

Valoración - Transferir 1 g, exactamente pesado, a un envase apropiado y agregar 100 ml de agua. Mezclar, agregar fenoltaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,5 N (SV). Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,5 N equivale a 44,03 mg de CH_3COCOOH . Contiene no menos de 98,5 % de CH_3COCOOH .

Ácido quenodesoxicólico - $\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{O}$ - (PM: 92,6) - Polvo de color blanco o casi blanco.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con una mezcla para cromatografía en fase reversa C18 con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Ácido acético 1 N en metanol y ácido acético 1 N (19:1).

Revelador - Ácido sulfúrico y metanol (1:1).

Procedimiento - Pulverizar sobre la placa con *Revelador*, calentar a 110 EC durante 20 minutos. Examinar visualmente y bajo luz ultravioleta a 366 nm: se observa una sola mancha.

Intervalo de fusión <260> - Entre 165 y 168 °C.

Ácido selenioso - (*Ácido selenoso*) - H_2SeO_3 - (PM: 129,0) - Cristales incoloros o blancos, eflorescentes al aire seco e higroscópicos al aire húmedo. Soluble en agua y alcohol.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 100 mg, transferir a un erlenmeyer con tapón de vidrio y disolver en 50 ml de agua. Agregar 10 ml de solución de yoduro de potasio (3 en 10) y 5 ml de ácido clorhídrico, mezclar, insertar el tapón en el erlenmeyer y dejar reposar durante 10 minutos. Diluir con 50 ml de agua, agregar 3 ml de almidón (SR) y titular con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV) hasta que el color ya no disminuya. Luego titular con iodo 0,1 N (SV) hasta color azul. Restar el volumen de solución de iodo 0,1 N del volumen de tiosulfato de sodio 0,1 N para obtener el volumen de tiosulfato 0,1 N equivalente a ácido selenioso. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 3,225 mg de H_2SeO_3 . Contiene no menos de 93 %.

Materia insoluble - Disolver 1 g en 5 ml de agua: la solución es transparente y no presenta residuo.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 1,0 mg, determinado sobre 10 g (0,01 %).

Selenato y sulfato - Disolver 500 mg en 10 ml de agua y agregar 0,1 ml de ácido clorhídrico y 1 ml de cloruro de bario (SR): no se observa turbidez ni precipitado dentro de los 10 minutos de preparación.

Ácido silícico - $SiO_2 \cdot xH_2O$ - (PM: 60,1-anhidro) - Polvo blanco, amorfo. Insoluble en agua y ácido; soluble en soluciones calientes de álcalis fuertes.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No menos de 80,0 %.

Residuo no volátil con ácido fluorhídrico - Calentar 500 mg con 1 ml de ácido sulfúrico y 10 ml de ácido fluorhídrico en un crisol de platino hasta sequedad y someter a ignición hasta peso constante: el peso del residuo no excede 1,0 mg (0,2 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,05 mg de Cl (0,005 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - Calentar a ebullición 2 g con 20 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 40), filtrar, neutralizar el filtrado con amoníaco (SR) y diluir con agua a 20,0 ml. Una alícuota de 10 ml de la solución no presenta más de 0,1 mg de SO_4 (0,01 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - Calentar a ebullición 2,5 g con 50 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 10) durante 5 minutos,

filtrar mientras esté caliente y evaporar el filtrado en un baño de vapor hasta sequedad. Tomar el residuo en 20 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 500), digerir durante 5 minutos, enfriar, agregar agua para obtener 100 ml y filtrar. Agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR) a 40 ml del filtrado: el color que se produzca no debe ser más oscuro que el producido al agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR) a un control que contenga 0,03 mg de Pb (0,003 %).

Hierro <580> - Agregar a 20 ml del filtrado obtenido en el ensayo de *Metales pesados*, 1 ml de ácido clorhídrico y diluir con agua a 47 ml: la solución no presenta más de 0,015 mg de Fe (0,003 %).

Ácido silicotúngstico, n-hidratado - (*Ácido tungstosilícico*) - $H_4Si(W_3O_{10})_4 \cdot nH_2O$ - (PM: 2.878,3 - anhidro) - Polvo verde.

Valoración - Disolver aproximadamente 1 g, exactamente pesado, en 25 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 5). Agregar 50 ml de una solución de 5 g de cinconina en ácido clorhídrico diluido (1 en 2). Calentar en un baño de vapor durante aproximadamente 30 minutos. Enfriar, filtrar a través de un crisol previamente pesado y someter a ignición a 800EC hasta peso constante. El peso del residuo multiplicado por 1,047 es igual al peso de ácido silicotúngstico dihidrato en la muestra tomada. Contiene no menos de 98 %.

Ácido sulfámico - HSO_3NH_2 - (PM: 97,1) - Cristales incoloros o blancos. Soluble en agua; poco soluble en alcohol.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 400 mg, previamente secados sobre ácido sulfúrico durante 2 horas y disolver en 30 ml de agua contenida en un erlenmeyer. Agregar fenoltaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV). Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 9,709 mg de HSO_3NH_2 . Contiene no menos de 99,5 %.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 10 g disueltos en 200 ml de agua (0,01 %).

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 5 g: el residuo no pesa más de 0,5 mg (0,01 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,01 mg de Cl (0,001 %).

Metales pesados <590> - Disolver 4 g en 30 ml de agua, neutralizar con agua de amoníaco fuerte frente al papel de tornasol y diluir con agua a 40 ml. Agregar a 30 ml, 2 ml de ácido acético diluido, diluir con agua a 40 ml y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): cualquier color pardo producido no es más oscuro que el de un control que contenga

los restantes 10 ml de solución muestra y 0,02 mg de Pb (0,001%).

Hierro <580> - 2 g, disueltos en 47 ml de agua que contenga 2 ml de ácido clorhídrico, no presentan más de 0,01 mg de Fe (5 ppm).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. Disolver 1 g en 50 ml de agua: 20 ml de solución no presentan más de 0,2 mg de SO₄ (0,05 %).

Ácido sulfanílico - p-NH₂C₆H₄SO₃H . H₂O - (PM: 191,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido sulfosalicílico - (PM: 254,2) - C₆H₃(COOH)(OH)(SO₃H)-1,2,5 . 2H₂O - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido sulfúrico - H₂SO₄ - (PM: 98,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido sulfúrico diluido (10 %) - Agregar con precaución, 57 ml de ácido sulfúrico a aproximadamente 100 ml de agua, enfriar a temperatura ambiente y diluir a 1 litro con agua.

Ácido sulfúrico fluorométrico - Emplear Ácido sulfúrico grado analítico que cumpla con el siguiente ensayo:

Fluorescencia - Empleando un fluorómetro apropiado que posea un filtro de excitación de corte bien definido de 360 nm y un filtro de excitación de corte bien definido de 415 nm, determinar la fluorescencia del ácido sulfúrico en una cubeta previamente lavada con agua seguida de varias porciones del ácido a ensayar: la fluorescencia no excede la de la solución de sulfato de quinina (1 en 1.600.000.000), medida en forma similar.

Ácido sulfuroso - H₂SO₃ - (PM: 82,1) - Una solución de dióxido de azufre en agua. Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido tánico - (*Tanino*) - Escamas brillantes amarillentas a marrón claro o polvo amorfo. Es inodoro o con olor débil, característico. Muy soluble en agua y alcohol; menos soluble en alcohol absoluto. Soluble en acetona; prácticamente insoluble en cloroformo y éter. Almacenar en envases inactivos.

Solubilidad - Una solución de 2 g en 10 ml de agua es transparente o prácticamente transparente.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 1 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,1 %).

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 3 horas: no pierde más de 12 % de su peso.

Dextrina, goma y sustancias resinosas - Disolver 2 g en 10 ml de agua caliente: la solución es transparente o no más que débilmente turbia. Filtrar si fuera necesario y dividir el filtrado en dos

porciones iguales. Agregar a una porción 10 ml de alcohol. Agregar a la otra porción 10 ml de agua: no se produce turbidez en ninguna de las soluciones.

Metales pesados - Agregar al *Residuo de ignición* 1 ml de ácido clorhídrico y 1 ml de ácido nítrico y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Tomar con 1 ml de ácido clorhídrico 1 N y unos pocos ml de agua caliente, diluir con agua a 40 ml y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): cualquier color pardo producido no es más oscuro que el de un control que contenga 0,02 mg de Pb (0,002 %).

Ácido tartárico - H₂C₄H₄O₆ - (PM: 150,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido 2-tiobarbitúrico - C₄H₄N₂O₂S - (PM: 144,6) - Laminillas blancas. Poco soluble en agua.

Punto de fusión <260> - Aprox. 236 °C, con descomposición.

Ácido tioglicólico - HSCH₂COOH - (PM: 92,1) - Líquido incoloro o casi incoloro, teniendo un olor fuerte, desagradable. Miscible con agua. Soluble en alcohol.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,1 %.

Solubilidad - Una solución de 1 ml en 10 ml de agua es transparente e incolora.

Sensibilidad - Mezclar 1 ml con 2 ml de agua de amoníaco fuerte y diluir con agua a 20 ml. Agregar 1 ml de esta solución a una mezcla de 20 ml de agua y 0,1 ml de cloruro férrico (SR) diluido (1 en 100), agregar luego 5 ml de amoníaco (SR): se produce un color rosado característico.

Ácido p-toluenosulfónico - CH₃C₆H₄SO₃H . H₂O (PM: 190,2) - Cristales higroscópicos o polvo cristalino blanco. Soluble en agua, alcohol y éter.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 5 g, secar previamente sobre ácido sulfúrico durante 18 horas y disolver en aproximadamente 250 ml de agua contenida en un erlenmeyer de 500 ml. Agregar 0,15ml de azul de bromotimol (SR) y titular con hidróxido de sodio 1 N (SV) hasta punto final azul. Cada mililitro de hidróxido de sodio 1 N equivale a 190,2 mg de CH₃C₆H₄SO₃H . H₂O. Contiene no menos de 99 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 104 y 106 °C, cuando la muestra se seca sobre ácido sulfúrico durante 18 horas.

Pérdida por secado <680> - Secar sobre ácido sulfúrico hasta peso constante: no pierde más de 1 % de su peso.

Solubilidad - Porciones separadas de 200 mg se disuelven completamente en 5 ml de alcohol y en 5ml de éter, respectivamente.

Residuo de ignición <270> - Inapreciable, determinado sobre 200 mg.

Sulfato libre - Disolver 500 mg en 10 ml de agua y agregar 1 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 20) y 1 ml de cloruro de bario (SR): cualquier turbidez producida dentro de los 10 minutos no excede la de un control que contenga 0,05 mg de SO₄ (0,01 %).

Ácido p-toluico - CH₃C₆H₄COOH - (PM: 136,2) - Polvo blanco, cristalino. Moderadamente soluble en agua caliente; muy soluble en alcohol, metanol y éter.

Valoración - Transferir aproximadamente 650 mg, exactamente pesados, a un envase apropiado, disolver en 125 ml de alcohol, agregar 25 ml de agua y mezclar. Titular con hidróxido de sodio 0,5 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,5 N equivale a 68,07 mg de C₈H₈O₂. Contiene no menos de 98 %.

Intervalo de fusión <260> - Aprox. 181 ± 2 °C.

Ácido tricloroacético - CCl₃COOH - (PM: 163,4) Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido trifluoroacético - C₂HF₃O₂ - (PM: 114,0) - Líquido incoloro. Miscible con éter, acetona, etanol, tetracloruro de carbono y hexano.

Valoración - Disolver aproximadamente 300 mg, exactamente pesados, en 25 ml de agua y 25 ml de alcohol. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 11,40 mg de C₂HF₃O₂. Contiene no menos de 99 %.

Ácido 2,4,6-trinitrobencenosulfónico - (PM: 347,2) - C₆H₂(NO₂)₃SO₃H · 3H₂O - Cristales de color amarillo pálido a pardo.

Valoración - Disolver aproximadamente 300 mg, exactamente pesados, en una mezcla de 25 ml de agua y 25 ml de alcohol. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando potenciométricamente el punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 29,32 mg de C₆H₂(NO₂)₃SO₃H. Contiene no menos de 98 %.

Ácido valérico - C₅H₁₀O₂ - (PM: 102,1) - Líquido transparente, incoloro.

Valoración - Pesa exactamente alrededor de 500 mg, transferir a un recipiente apropiado, agregar

30 ml de agua y mezclar. Agregar 40 ml de agua y mezclar. Agregar fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV). Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 10,21 mg de C₅H₁₀O₂: no debe contener menos de 99,0 % de C₅H₁₀O₂.

Acrilamida - (*Propenamida*) - C₃H₅NO - (PM: 71,1) - Polvo cristalino blanco o casi blanco, o escamas incoloras o blancas. Muy solubles en agua y metanol; fácilmente solubles en etanol. Punto de fusión: aproximadamente 84 °C.

Acrilato de etilo - Emplear uno de grado apropiado.

Adamantano - C₁₀H₁₆ - (PM: 136,2) -

Intervalo de fusión <260> - Entre 270 y 271 °C.

Agar - Emplear *Agar*. Cuando se emplea para fines bacteriológicos, debe secarse hasta que el contenido de agua no supere el 20 %.

Agarosa para cromatografía - Constituido por perlas hinchadas con un diámetro de 60 a 140 μm y presentado en forma de suspensión de 40 g por litro en agua. Se emplea para el fraccionamiento, por cromatografía de exclusión, de las proteínas de pesos moleculares relativos de 6 × 10⁴ a 20 × 10⁶ y de los poliósidos de pesos moleculares relativos entre 3 × 10⁴ y 5 × 10⁶.

Agarosa para electroforesis - Polisacárido neutro, lineal, cuyo componente principal procede del agar-agar. Polvo blanco o casi blanco. Muy poco soluble en agua caliente; prácticamente insoluble en agua fría.

Agar de sulfito de bismuto - Emplear uno de grado apropiado.

Agente Humectante No Iónico - Emplear un agente tensioactivo anfótero apropiado.

[NOTA: un grado adecuado está disponible comercialmente como Tritón X-100 u Octoxinol 9].

Agua de bromo - Ver *Bromo (SR)*.

Agua desaireada - Ver *Definiciones: Agua, en Consideraciones generales*.

Agua deuterada - Ver Óxido de deuterio.

Agua de alta pureza - Tiene una conductividad no mayor de 0,15 μS por cm medida con una celda en-línea justo antes de la dispensación determinada a 25 °C. Debe asegurarse que este agua no esté contaminada con cobre o sus productos por ej., cañerías de cobre o recipientes. El agua puede prepararse haciendo pasar el agua destilada a través de un cartucho desionizador relleno con un lecho mixto de resina

granular. Luego se la hace pasar a través de una membrana de éster de celulosa de poro no mayor de $0,45 \mu\text{m}^3$. No se debe emplear tuberías de cobre. Enjuagar las líneas de escape antes de que el agua se dispense dentro de los recipientes de ensayo. Cuando no se puede lograr la conductividad especificada, se debe reemplazar el cartucho desionizador.

Agua de amoníaco fuerte - (*Hidróxido de amonio*) - Emplear Hidróxido de amonio grado reactivo.

Agua grado HPLC - H_2O - (PM: 18,0) - Líquido incoloro.

Características de absorción - Determinar la absorbancia ultravioleta en una celda de 1 cm, empleando agua como blanco. Los máximos de absorbancia son 0,01; 0,01 y 0,005 a 190, 200 y entre 400 y 250 nm, respectivamente.

Residuo de evaporación - Evaporar un volumen, exactamente medido, en un baño de vapor hasta sequedad y secar el residuo a 105°C durante 1 hora: no más de 3 ppm.

Alambre de hierro - Fe - (PA: 55,85) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Albúmina bovina - Polvo blanco a amarillo pardusco pálido. Debe contener no menos de 96 % de proteínas totales.

Agua <120> - No más de 3,0 %, determinada sobre 0,800 g.

Cuando es utilizada para valoración biológica de tetracosactida, debe estar libre de patógenos, de actividad proteolítica y de actividad corticosteróide.

Albúmina humana - Seroalbúmina humana. No debe contener menos de 96 % de albúmina.

Alcohol - $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ - (PM: 46,1) - Emplear *Alcohol*.

Alcohol absoluto - (*Alcohol deshidratado*) - $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ - (PM: 46,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Alcohol 70 %, 80 % y 90 % - Preparar mediante la mezcla de alcohol y agua en las proporciones correspondientes, realizando las mediciones a 25°C .

Las proporciones de alcohol y agua tomadas para preparar las soluciones, en % (v/v) se pueden determinar del siguiente modo.

Calcular la cantidad de agua, en ml, que se va a mezclar con 100 ml de alcohol por la fórmula siguiente:

$$[94,9 (d/C) - 0,8096]100$$

en la cual 94,9 es el % v/v de $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ en alcohol, 0,8096 es la densidad relativa de alcohol al 94,9 %,

d es la densidad relativa de la solución que contiene $C\%$ v/v de $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, obtenido a partir de la tabla alcoholimétrica (ver *Determinación de la concentración alcohólica en peso y en volumen de agua, según K. Windisch, en Tablas*) y 100 es el volumen, en ml, de alcohol tomado.

Alcohol amílico - (*Alcohol isoamílico*) - $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{OH}$ (PM: 88,6) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Alcohol ter-amílico - $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{O}$ - (PM: 88,2) - Líquido transparente, incoloro, inflamable, volátil con olor característico. Densidad relativa: aproximadamente 0,81.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 100 y 103°C .

Residuo de evaporación - Evaporar 50 ml (40 g) en un baño de vapor y secar a 105°C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 1,6 mg (0,004 %).

Ácidos y ésteres - Diluir 20 ml con 20 ml de alcohol, agregar 5,0 ml de hidróxido de sodio 0,1 N (SV) y calentar a reflujo suavemente durante 10 minutos. Enfriar, agregar 2 gotas de fenoltaleína (SR) y titular el hidróxido de sodio en exceso con ácido clorhídrico 0,1 N (SV). No se requieren más de 0,75 ml de hidróxido de sodio 0,10 N. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (0,06 % como acetato de amilo).

Aldehídos - Agitar 5 ml con 5 ml de solución de hidróxido de potasio (30 en 100) en una probeta con tapón de vidrio durante 5 minutos y dejar que se separen las fases: no se desarrolla color en cualquiera de las fases.

Alcohol bencílico - $\text{C}_7\text{H}_8\text{O}$ - (PM: 108,1) - Emplear *Alcohol bencílico*.

Alcohol butílico - (*1-Butanol; Alcohol butílico normal*) - $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2\text{OH}$ - (PM: 74,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Alcohol n-butílico - Ver Alcohol butílico.

Alcohol butílico normal - Ver Alcohol butílico.

Alcohol butílico secundario - (*2-Butanol*) - $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ - (PM: 74,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Alcohol butílico terciario - $(\text{CH}_3)_3\text{COH}$ - (PM: 74,1) - Cristales incoloros, tornándose líquido a una temperatura mayor de $25,5^\circ\text{C}$. Tiene un olor semejante al alcanfor. Miscible con agua y solventes orgánicos comunes.

Miscibilidad - Mezclar 5 ml con 15 ml de agua y mezclar otros 5 ml con 15 ml de disulfuro de carbono. Dejar que cada mezcla repose durante

15 minutos: ambas mezclas no son más turbias que un volumen igual del diluyente.

Densidad relativa <160> - No menos de 0,778 y no más de 0,782.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 82,5 y 83,5 °C.

Temperatura de solidificación <180> - No menos de 25 °C.

Residuo de evaporación - Evaporar aproximadamente 20 g, exactamente pesados, en un crisol en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: contiene no más de 0,005 %.

Acidez - Agregar 20 ml a 20 ml de agua previamente neutralizada frente a la fenoltaleína (SR) con hidróxido de sodio 0,02 N, mezclar. Titular con hidróxido de sodio 0,020 N hasta que el color rosado se restaure: se requieren no más de 0,40 ml (aproximadamente 0,003 % como CH₃COOH).

Alcalinidad - Diluir 10 ml con 20 ml de agua y agregar 1 gota de rojo de metilo (SR): si la solución es amarilla, se requiere no más de 0,25 ml de ácido sulfúrico 0,020 N para cambiarla a color rosado (aproximadamente 0,001 % como NH₃).

Alcohol deshidratado - Ver Alcohol absoluto.

Alcohol diluido - Diluir 100 ml de Alcohol con 100 ml de agua.

Alcohol 3,4-dimetoxibencílico - (CH₃O)₂C₆H₃CH₂OH - (PM: 168,2) - Emplear un reactivo analítico de grado apropiado.

Alcohol dodecílico - Ver 1-Dodecanol.

Alcohol etílico - (*Alcohol; Etanol*) - C₂H₅OH - (PM: 46,1) - Ver Alcohol.

Alcohol 2-hidroxibencílico - C₇H₈O₂ - (PM: 124,1) - Escamas casi blancas. Muy soluble en alcohol, cloroformo y éter; soluble en agua.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de 30 m × 0,25 mm, recubierta con una capa de 1 μm de una fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un aumento de 10 °C por minuto hasta alcanzar 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico C₇H₈O₂ no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 83 y 85 °C.

Alcohol isoamílico - Ver Alcohol amílico.

Alcohol isobutílico - (*2-Metil-1-propanol*) - (PM: 74,1) - (CH₃)₂CHCH₂OH - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Alcohol isopropílico - (*2-Propanol*) - (PM: 60,1) - (CH₃)₂CHOH - Emplear un reactivo analítico apropiado.

[NOTA: para valoraciones y ensayos que incluyen espectrofotometría ultravioleta, emplear un reactivo analítico apropiado para espectrofotometría ultravioleta.]

Alcohol isopropílico deshidratado - Emplear Alcohol isopropílico previamente secado agitándolo con un tamiz molecular apropiado capaz de absorber agua y filtrar.

Alcohol libre de aldehído - Disolver 2,5 g de acetato de plomo en 5 ml de agua, agregar la solución a 1 litro de alcohol contenido en una botella con tapón de vidrio y mezclar. Disolver 5 g de hidróxido de potasio en 25 ml de alcohol caliente, enfriar la solución y agregarla lentamente, sin agitar, a la solución alcohólica de acetato de plomo. Luego de 1 hora, agitar la mezcla vigorosamente, dejar que repose durante toda la noche, decantar el líquido transparente y recuperar el alcohol mediante destilación.

Alcohol metílico - Ver Metanol.

Alcohol neutralizado - A una cantidad apropiada de alcohol agregar 2 ó 3 gotas de fenoltaleína (SR) y la cantidad, exacta y suficiente, de hidróxido de sodio 0,1 N ó 0,02 N para producir un color rosado débil. Preparar el alcohol neutralizado antes de emplearlo.

Alcohol 1-nonílico - (*1-Nonanol*) - CH₃(CH₂)₈OH (PM: 144,3) - Líquido incoloro.

Valoración - Emplear un cromatógrafo de gases apropiado equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,83 m × 3,2 mm con fase estacionaria constituida por un compuesto de polietilenglicol al 20 % (p.m.p aproximadamente 15.000 [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido]) sobre soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na₂CO₃ y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido, luego se lava con agua hasta neutralidad, pero no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el inyector, la columna y el detector a aproximadamente 250, 160 y 310 °C, respectivamente. Se emplea helio como gas transportador con un caudal aproximado de

40 ml por minuto. Contiene no menos de 97 % de $C_9H_{20}O$.

Índice de refracción <230> - Entre 1,432 y 1,434, a 20 °C.

Alcohol polivinílico - $(C_2H_4O)_n$ - Polvo blanco. Soluble en agua; insoluble en solventes orgánicos.

pH <250> - Entre 5,0 y 8,0, en una solución (1 en 25).

Pérdida por secado <680> - Secar a 110 °C hasta peso constante: no pierde más de 5 % de su peso.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,75 %.

Alcohol n-propílico - (*1-Propanol*) - (PM: 60,1)- $CH_3CH_2CH_2OH$ - Líquido transparente, incoloro con olor a etanol. Miscible con agua y la mayoría de los solventes orgánicos. Densidad relativa: aproximadamente 0,803.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 95 y 98 °C.

Residuo de evaporación - Evaporar 25 ml (20 g) en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 1 mg (0,005 %).

Acidez - Agregar 0,2 ml de fenoltaleína (SR) a 20 ml de agua y titular con hidróxido de sodio 0,1 N hasta leve color rosado que persiste después de agitar. Agregar 10 ml del alcohol y titular con hidróxido de sodio 0,10 N: no se requiere más de 0,20 ml para restaurar el color rosado (aproximadamente 0,015 % como CH_3COOH).

Alcalinidad - Agregar 2 gotas de rojo de metilo (SR) a una solución de 6 ml en 25 ml de agua y titular con ácido sulfúrico 0,02 N: no se requiere más de 0,3 ml para producir color rojo (aproximadamente 0,002 % como NH_3).

Alcohol terbutílico - (*2-metil-2-propanol*; *1,1-dimetil etanol*) - $C_4H_{10}O$ - (PM: 74,1) - Líquido transparente o masa cristalina, incolora. Miscible con alcohol y éter. Soluble en agua.

Temperatura de solidificación - Aprox. 25 °C.

Intervalo de destilación - No menos del 95 % destila entre 81 y 83 °C.

Aldehído anísico - (*4-Metoxibenzaldehído*) - $C_8H_8O_2$ - (PM: 136,1) - Líquido oleoso. Miscible con alcohol y con éter. Muy poco soluble en agua.

Punto de ebullición (Ensayo para reactivos) - Aprox. 248 °C.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 30 a 60 m x 0,3 mm recubierta con polietilenglicol de peso molecular aproximadamente 20.000. Mantener el inyector entre 180 y 200 °C y el detector entre 220 y 250 °C. La temperatura de la columna se debe mantener a

60 °C durante 4 minutos y se debe programar un aumento de 2 °C por minuto hasta alcanzar 210 °C y se debe mantener a 210 °C durante 15 °C. Se emplea helio como gas transportador. La respuesta del pico principal no debe ser menor de 99 % de la suma de las respuestas totales.

Aldehído cinámico - (*3-Fenilpropenal*; *Cinamaldehído*) - C_9H_8O - (PM: 132,1) - Líquido oleoso de color amarillo o amarillo verdoso; muy soluble en alcohol y éter, poco soluble en agua. Proteger de la luz y el calor excesivo.

Densidad relativa <140> - Entre 1,048 y 1,051.

Índice de refracción <230> - Aprox. 1,620.

Aldehído deshidrogenasa - Emplear uno de grado apropiado.

Aptitud - Cuando se emplea para detectar acetaldehído, determinar si se obtiene un gráfico de absorbancia en función de la concentración de pendiente apropiada mediante el empleo de reactivo acetaldehídico, siendo la absorbancia del blanco de reactivos no mayor a 0,01.

Algodón absorbente - Emplear *Algodón purificado*.

Alizarinsulfonato sódico - (*Alizarina roja S*; *Alizarina sódica monosulfonato*) - $C_{14}H_7NaO_7S \cdot H_2O$ - (PM: 360,3) - Polvo amarillo pardo o amarillo anaranjado. Fácilmente soluble en agua, proporcionando una solución de color amarillo; moderadamente soluble en alcohol.

Sensibilidad - Agregar 3 gotas de una solución (1 en 100) a 100 ml de agua y agregar 0,25 ml de hidróxido de sodio 0,02 N: se produce un color rojo. Agregar 0,25 ml de ácido clorhídrico 0,02 N: retorna el color amarillo original.

Almidón de papa - Es el almidón separado de los tubérculos de *Solanum tuberosum* Linneo (Fam. Solanaceae). Polvo más o menos finamente granular, que cuando se examina al microscopio consiste en granos de almidón de forma y apariencia característica.

Almidón soluble (para iodimetría) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Almidón soluble purificado - Polvo blanco, amorfo; al examinar al microscopio presenta la forma característica del almidón de papa. Soluble en agua caliente; poco soluble en alcohol.

Solución muestra para determinación de pH y sensibilidad - Agitar 2,0 g en 10 ml de agua, agregar agua a ebullición hasta completar 100 ml y llevar a ebullición durante 2 minutos. La solución caliente es casi transparente. Enfriar, la solución puede tornarse opalescente o turbia, pero no se

transforma en gel. Emplear esta solución como la *Solución muestra*.

pH <250> - El pH de la *Solución muestra* está entre 6,0 y 7,5.

Sensibilidad - Mezclar 2,5 ml de la *Solución muestra*, 97,5 ml de agua y 0,50 ml de iodo 0,010 N: se produce un color azul característico que desaparece con el agregado de 0,50 ml de tiosulfato de sodio 0,010 N.

Absorbancia - Preparar una solución reguladora de pH 5,3 disolviendo 43,5 g de acetato de sodio (trihidratado) y 4,5 ml de ácido acético glacial en agua, transferir la solución resultante a un matraz aforado de 250 ml, y completar con agua a volumen y mezclar. Disolver 1,00 g de *Almidón soluble purificado* en 2,5 ml de la solución reguladora por calentamiento, transferir a un matraz aforado de 100 ml, completar con agua a volumen y mezclar. Agregar 0,50 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml que contenga aproximadamente 75 ml de agua, 1 ml de ácido clorhídrico 1N y 1,5 ml de iodo 0,020 N, agitando por rotación el matraz durante el agregado. Completar con agua a volumen, mezclar y dejar reposar en la oscuridad durante 1 hora. La absorbancia de esta solución, medida a 575 nm en una celda de 1 cm contra un blanco, está entre 0,5 y 0,6.

Sustancias reductoras - Agitar 10,0 g con 100 ml de agua durante 15 minutos y dejar reposar aproximadamente 12 horas. Filtrar una porción de la solución sobrenadante a través de un vidrio fino sinterizado. Agregar a 50 ml del filtrado 50 ml de tartrato cúprico alcalino (SR) y calentar a ebullición durante 1 a 2 minutos. Filtrar el óxido cuproso resultante, lavar con agua caliente y luego con alcohol y secar a 105 °C durante 2 horas: no contiene más de 47 mg y corresponde a 0,7 % de azúcares reductores como maltosa.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 2 horas: no pierde más de 10 % de su peso.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,5 %.

Aloína - (*Barbalonina*, *1,8-Dihidroxi-3-hidroximetil-10-β-D-glucopiranosil-10H-9-antracena*) - $C_{21}H_{22}O_9 \cdot H_2O$ - (PM: 436,4) - Polvo cristalino amarillo a amarillo fuerte, o agujas amarillas que se ennegrecen por exposición al aire y a la luz, solubles en acetona, amoníaco y soluciones de hidróxidos alcalinos, bastante solubles en alcohol y agua, muy poco solubles en éter.

Absortividad - Su coeficiente de extinción específica (1%, 1 cm) a 269 nm debe ser 192, a 296 nm debe ser 226 y a 354 nm debe ser 259. [NOTA: preparar las soluciones en metanol y calcular con respecto a la sustancia anhidra.]

Cromatografía -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo, metanol y agua (100:17:13).

Revelador - Disolver 50 g hidróxido de potasio en 1 litro de alcohol al 50 % v/v.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 10 µl de una solución de 2 mg de aloína por ml de alcohol al 70 % v/v. Desarrollar el cromatograma hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente la mitad de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, dejar secar, pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar entre 100 y 105 °C durante 15 minutos. Examinar bajo luz ultravioleta a 365 nm: el cromatograma debe presentar sólo una mancha amarillo pardusca en la parte central.

Alquilfenoxipolietoxietano - Agente tensioactivo no iónico. Emplear uno de grado apropiado.

Alumbre - (*Alumbre de amonio; Sulfato de amonio y aluminio*) - $AlNH_4(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ - (PM: 453,3) - Cristales grandes, incoloros o fragmentos cristalinos o polvo blanco. Fácilmente soluble en agua; muy soluble en agua hirviendo; insoluble en alcohol.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 10 g (0,01 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 2 g no presentan más de 0,02 mg de Cl (0,001 %).

Alcalinos y alcalino térreos - Disolver 2 g en 140 ml de agua, agregar 2 gotas de naranja de metilo (SR) luego agregar amoníaco (SR) en porciones hasta que el color se vuelva amarillo. Calentar a ebullición durante 2 minutos, diluir con agua a 150 ml y filtrar. Evaporar 75 ml del filtrado y someter el residuo a ignición: el residuo no pesa más de 2,5 mg (0,25 %).

Arsénico (Ensayo para reactivos) - La mancha producida por 1 g no excede a la producida por 0,002 mg de As (2 ppm como As).

Metales Pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 0,001 %.

Hierro <580> - Disolver 1,0 g en 40 ml de agua, agregar 4 ml de ácido clorhídrico, mezclar y diluir con agua a 50 ml. Diluir 25 ml de esta solución con agua a 47 ml: la solución no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,002 %).

Alumbre de amonio - Ver Alumbre.

Alumbre de potasio - Emplear *Alumbre de potasio*.

Alúmina - Ver Óxido de aluminio lavado con ácido.

Alúmina anhidra - (*Óxido de aluminio; Alúmina especialmente preparada para uso en análisis cromatográfico*) - Polvo blanco o prácticamente blanco, de 75 a 180 μm . No se ablanda, hincha, o descompone en agua. No está lavada con ácido. Almacenarla en envases bien cerrados.

Alúmina activada - Emplear uno de grado apropiado.

Aluminio - Al - (PA: 26,98) - Emplear un reactivo analítico apropiado, que también cumpla con los requisitos del ensayo se indica a continuación.

Arsénico - Transferir 750 mg a un generador (ver *Arsénico* en *Ensayos parar Reactivos*), omitiendo la torunda de algodón. Agregar 10 ml de agua y 10 ml de solución de hidróxido de sodio (3 en 10) y dejar que la reacción proceda durante 30 minutos: una mancha apenas perceptible se produce en el papel de bromuro mercuríco.

Amalgama de cinc - Agregar 54 g de cinc granular o en granallas a 100 ml de mercurio en un vaso de precipitados. Calentar, con agitación, en una placa calefactora bajo una campana extractora [*Precaución - Los vapores de mercurio son sumamente tóxicos*] hasta que el cinc se disuelva totalmente o prácticamente todo. Dejar enfriar a temperatura ambiente y, si fuera necesario, agregar mercurio suficiente para impedir la solidificación de la amalgama. Transferir la amalgama a una botella con tapón de vidrio y agitar unas pocas veces con ácido clorhídrico diluido (1 en 2), para remover el óxido de cinc formado.

Amarillo de tiazol - $\text{C}_{28}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{Na}_2\text{O}_6\text{S}_4$ - (PM: 695,7) - Polvo pardo amarillento. Soluble en agua y alcohol para proporcionar en cada caso una solución amarilla; soluble en álcali diluido para proporcionar una solución roja pardusca. Almacenar en envases inactínicos.

Solubilidad - 200 mg mezclados con 50 ml de agua no presentan más que una ligera turbidez.

Residuo de ignición - Pesar exactamente alrededor de 1,5 g, previamente secados a 105 °C durante 2 horas, y someter a ignición hasta carbonización completa. Enfriar, agregar 2 ml de ácido nítrico y 2 ml de ácido sulfúrico, someter a ignición suavemente para liberar el exceso de ácido, luego de 600 a 800 °C hasta peso constante: el residuo de sulfato de sodio (Na_2SO_4) está entre 19,8 y 21,5 % del peso de la muestra (el teórico es 20,4 %).

Sensibilidad al magnesio - Agregar 0,2 ml de una solución (1 en 10.000) y 2 ml de hidróxido de sodio 1 N a una mezcla de 9,5 ml de agua y 0,5 ml de una solución preparada al disolver 1,014 g de cristales transparentes de sulfato de magnesio en agua, diluir con agua a 100 ml luego diluir 10 ml de la solución resultante con agua a 1 litro: se produce un color rosado característico dentro de los 10 minutos de preparación.

α -Amilasa - Emplear uno de grado apropiado.

4-Aminoantipirina - $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}$ - (PM: 203,3) - Polvo cristalino amarillo brillante. 500 mg se disuelven completamente en 30 ml de agua, proporcionando una solución transparente.

Intervalo de fusión <260> - Entre 108 y 110 °C.

4-Aminobenzoato de metilo - $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_2$ - (PM: 151,2) - Polvo casi blanco.

Valoración - Disolver aproximadamente 38 mg, exactamente pesados, en 50 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 15,12 mg de $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_2$. Contiene no menos de 99,0 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 108 y 110 °C.

2-Aminobutanol - Líquido oleoso, miscible con agua; soluble en alcohol.

Densidad relativa <160> - Aproximadamente 0,94, a 20 °C.

Índice de refracción <230> - Aproximadamente 1,453, a 20 °C.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 178 y 182 °C.

4-Amino-6-cloro-1,3-bencenodisulfonamida - $\text{C}_6\text{H}_8\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S}_2$ - (PM: 285,7) - Polvo blanco, inodoro. Insoluble en agua y cloroformo; soluble en amoníaco (SR).

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 2 mg, determinado sobre 2 g (0,1 %).

Absorbancia - Una solución (1 en 200.000) en metanol presenta máximos de absorbancia a aproximadamente 223, 265 y 312 nm. Su absorptividad (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) a 265 nm es aproximadamente 64,0.

Aminoclorobenzofenona - (*2-Amino-5-clorobenzofenona*) - $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{ClNO}$ - (PM: 231,7) - Polvo cristalino amarillo; fácilmente soluble en agua, soluble en alcohol, prácticamente insoluble.

Intervalo de fusión <260> - Aproximadamente 97 °C.

2-Aminoetildifenilborinato - $C_{14}H_{16}BNO$
(PM: 225,09) Polvo cristalino blanco. Emplear uno de grado apropiado.

1-(2-Aminoetil)piperazina - $C_6H_{15}N_3$ -
(PM: 129,2) - Líquido viscoso, incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m × 0,25 mm recubierta con goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 280 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 180 °C, se programa un ascenso de 10 °C por minuto y se mantiene a esa temperatura durante 10 minutos. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico principal no es menor de 97 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,4978 y 1,5010, a 20 °C.

2-Aminofenol - C_6H_7NO - (PM: 129,2) - Polvo color casi blanco.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 0,25 mm × 30 m recubierta con una capa de 1 μm de goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 280 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 130 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar los 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de C_6H_7NO no es menor de 97 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 174 y 177 °C.

m-Aminofenol - C_6H_7NO - (PM: 109,1) - Escamas de color crema a amarillo pálido. Moderadamente soluble en agua fría; fácilmente soluble en agua caliente, alcohol y éter.

Valoración - Disolver aproximadamente 1,5 g, exactamente pesados, en 400 ml de agua en un matraz aforado de 500 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 25,0 ml de esta solución a un matraz para iodo, agregar 50,0 ml de bromo 0,1 N (SV), diluir con 50 ml de agua, agregar 5 ml de ácido clorhídrico e insertar el tapón en el matraz de inmediato. Agitar durante 1 minuto, dejar reposar durante 2 minutos y agregar 5 ml de yoduro de potasio (SR) a través del tapón aflojado. Agitar vigorosamente, dejar reposar durante 5 minutos, remover el tapón y lavar éste y el cuello del matraz con 20 ml de agua, agregando el lavado al matraz. Titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. A partir del volumen de tiosulfato

de sodio 0,1 N empleado, calcular el volumen, en ml, de bromo 0,1 N consumido por la muestra. Cada mililitro de bromo 0,1 N equivale a 1,819 mg de C_6H_7NO . Contiene no menos de 99,5 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 121 y 123 °C.

Pérdida por secado <680> - Secar sobre cloruro de calcio durante 4 horas: la pérdida de peso es mínima.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 2 g.

p-Aminofenol - C_6H_7NO - (PM: 109,1) - Polvo fino, amarillento, cristalino. Poco soluble en agua y alcohol.

Intervalo de fusión <260> - Entre 187 y 189 °C.

N-Aminohexametilenimina -
(*N-Aminohomopiperidina*;
1-Aminohomopiperidina) - $C_6H_{14}N_2$ - (PM: 114,2) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m × 0,25 mm recubierta con goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 180 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 80 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 230 °C, manteniéndose a esa temperatura durante 5 minutos. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico principal no es menor de 95 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,4840 y 1,4860, a 20 °C.

Aminonitrobenzofenona -
(*2-Amino-5-nitrobenzofenona*) - $C_{13}H_{10}N_2O_3$ - Polvo cristalino amarillo; soluble en tetrahidrofurano, poco soluble en metanol, prácticamente insoluble en agua.

Punto de fusión - Aprox. 160 °C.

Absorción ultravioleta - Determinar la absorbancia de una solución al 1 % en metanol en una celda de 1 cm a 233 nm con un espectrofotómetro. El coeficiente de absorción debe estar comprendido entre 690 y 720.

Aminopirazolona - (*4-Amino-1-fenil-2,3-dimetil-3-pirazolin-5-ona*) - $C_{11}H_{13}N_3O$ - (PM: 203,2) - Polvo o agujas amarillo pálido. Fácilmente soluble en alcohol; moderadamente soluble en agua; poco soluble en éter.

Punto de fusión - Aprox. 108 °C.

Amoníaco - NH_3 - (PM:17,03) - Contiene no menos de 17 % p/v y no más de 18 % p/v de amoníaco gas NH_3 .

Amoníaco concentrado - NH_3 - (PM: 17,03) - La solución concentrada de amoníaco contiene no menos de 25,0 % p/p y no más de 30,0 % p/p de amoníaco.

Amoníaco diluido - Disolver 41 g de amoníaco concentrado y diluir a 100 ml con agua.

Amonio, formiato de - Ver *formiato de amonio*.

Anetol - (1-Metoxi-4-(1-propenil)benceno) - $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}$ - (PM: 148,2) - Masa blanca cristalina hasta los 20-21 °C. Líquida por encima de los 23°C. Fácilmente soluble en alcohol, soluble en acetato de etilo y éter de petróleo, prácticamente insoluble en agua.

Índice de refracción <230> - Aprox. 1,56.

Punto de ebullición (Ensayo para reactivos) - Aprox. 230 °C.

Para uso en cromatografía de gases, debe cumplir con el siguiente ensayo.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 a 60 m \times 0,3 mm recubierta con una capa de fase estacionaria constituida por polietilenglicol 20.000. Mantener el inyector a una temperatura comprendida entre 180 y 200 °C, y el detector entre 220 y 250 °C. La temperatura de la columna se debe mantener a 60 °C durante 4 minutos, se programa un ascenso de 2 °C por minuto hasta 210 °C, y mantener a esa temperatura durante 15 minutos. Se emplea helio como gas transportador. La respuesta del pico principal correspondiente a *trans*-anetol con un tiempo de retención aproximadamente 41 minutos no debe ser menor de 99 % de la suma de las respuestas de todos los picos.

Anhídrido acético - $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$ - (PM: 102,1) - Contiene no menos de 97,0 % p/p de $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$. Líquido incoloro y transparente.

Intervalo de ebullición - Entre 136 a 142 °C.

Valoración - En un erlenmeyer con boca esmerilada, disolver 2,00 g de anhídrido acético en 50 ml de hidróxido de sodio 1 M y calentar a reflujo durante 1 hora. Valorar con ácido clorhídrico 1 M, empleando como indicador 0,5 ml de fenolftaleína (SR). Calcular el volumen, en ml, de hidróxido de sodio 1 M empleados para 1 g (n_1).

En un erlenmeyer con boca esmerilada, disolver 2,00 g de anhídrido acético en 20 ml de ciclohexano; dejar enfriar en un baño de agua-hielo y agregar una mezcla enfriada de 10 ml de anilina y 20 ml de ciclohexano. Calentar a reflujo durante 1 hora, agregar 50 ml de una solución de hidróxido de sodio 1 N y agitar vigorosamente. Valorar con

ácido clorhídrico 1 N empleando como indicador 0,5 ml de fenolftaleína (SR). Calcular el volumen, en ml, de hidróxido de sodio 1 N empleados para 1 g (n_2). Calcular el contenido porcentual en $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$ empleando la expresión siguiente:

$$10,2 (n_1 - n_2)$$

Anhídrido ftálico - $\text{C}_8\text{H}_4\text{O}_3$ - (PM: 148,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Anhídrido propiónico - $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_3$ - (PM: 130,1) - Líquido incoloro, de olor acre. Se descompone en agua. Soluble en metanol, alcohol, éter y cloroformo.

Valoración - Pesar exactamente 350 mg en un erlenmeyer previamente pesado, con tapón de vidrio que contenga 50 ml de dimetilformamida previamente neutralizada a punto final de azul de timol con metóxido de sodio 0,1 N en metanol (SV). Titular con metóxido de sodio 0,1 N en metanol (SV) al punto final de azul de timol. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de metóxido de sodio 0,1 N equivale a 13,014 mg de $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_3$. Contiene no menos de 97,0%.

Índice de refracción - Entre 1,4035 y 1,4045, a 20 °C.

Anhídrido trifluoroacético - $(\text{F}_3\text{CCO})_2\text{O}$ - (PM: 210,0) - Líquido incoloro. Hierve entre 40 y 42 °C. Sumamente volátil. Evitar la exposición al aire o a la humedad.

Valoración - Transferir aproximadamente 800 mg, exactamente pesados, a un erlenmeyer con tapón de vidrio que contiene 50 ml de metanol. Agregar 500 mg de fenolftaleína y titular con metóxido de sodio 0,1 N (SV) hasta punto final rosado. Calcular *A* por la fórmula siguiente:

$$V/P$$

en la cual *V* es el volumen, en ml, de metóxido de sodio 0,1 N y *P* es el peso, en mg, de muestra. A un segundo erlenmeyer con tapón de vidrio que contiene 50 ml de una mezcla de dimetilformamida y agua (1:1) transferir 400 mg de muestra, exactamente pesados, agregar 500 mg de fenolftaleína y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) hasta punto final rosado. Calcular *B* por la fórmula siguiente:

$$V^1/P^1$$

en la cual V^1 es el volumen, en ml, de hidróxido de sodio 0,1 N y P^1 es el peso de muestra, en mg. Calcular el porcentaje de $(\text{F}_3\text{CCO})_2\text{O}$ por la fórmula siguiente:

$$2100,3(B - A).$$

Contiene no menos de 97 %. Si $2A$ es mayor que B , calcular el porcentaje de F_3CCOOH por la fórmula siguiente:

$$1140,3(2A - B).$$

Anilina - $C_6H_5NH_2$ - (PM: 93,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Anisaldehído - (*4-Metoxibenzaldehído*) - $C_8H_8O_2$ - (PM: 136,1) - Líquido oleoso, muy poco soluble en agua, miscible con alcohol y éter.

Punto de ebullición (Ensayo para reactivos) - Aprox. 248 °C.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 30 a 60 m × 0,3 mm de diámetro interno recubierta con polietilenglicol 20.000. Mantener la temperatura de la columna a 60 °C durante 4 minutos y programar un ascenso de 2 °C por minuto hasta 210 °C y mantener a esta temperatura durante 15 minutos. Mantener la temperatura del inyector entre 180 y 200 °C, y la del detector entre 220 y 250 °C. Emplear helio como gas transportador. La respuesta del pico principal no debe ser menor de 99,0 % de la suma de las respuestas de todos los picos.

Anisol - $CH_3OC_6H_5$ - (PM: 108,1) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada (aproximadamente 0,5 μ l) en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m recubierta con una fase estacionaria constituida por 50 % de fenilsilicona y 50 % de metilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a 140 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene en 70 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 170 °C. Se emplea nitrógeno como gas transportador. El área del pico de anisol no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Aproximadamente 1,5160, a 20 °C.

Antitrombina-III para el ensayo de antifactor X_a - La antitrombina-III es un inhibidor de proteasa de serina obtenida de plasma bovino, que inhibe el Factor X_a de la enzima y otros factores de coagulación sanguínea. Es una glicoproteína que tiene un peso molecular de 58.000. Por electroforesis en gel (ver 300. *Electroforesis*) la proteína principal de interés constituye no menos de 90 % de la cantidad total de zonas proteicas.

Actividad específica - Una solución que contiene 0,25 mg de equivalente proteico y 0,1 UI de Heparina por ml contiene no menos de 4 UI de

Antitrombina-III por mg de proteína en presencia de heparina.

Ausencia de heparina - A una solución que contenga 1 UI de Antitrombina III por ml, agregar 1 μ l de solución de azul de toluidina: no se detecta heparina. [NOTA: en presencia de heparina el color cambia de azul a púrpura.]

Antraceno - $C_{14}H_{10}$ - (PM: 178,2) - Cristales o laminillas blancas o casi blancas. Se oscurece a la luz solar. Insoluble en agua; moderadamente soluble en alcohol, benceno y cloroformo.

Intervalo de fusión <260> - Entre 215 y 218 °C.

Antrona - $C_{14}H_{10}O$ - (PM: 194,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Apigenina - (*4',5,7-Trihidroxiflavona*) - $C_{15}H_{10}O_5$ - (PM: 270,2) - Polvo ligeramente amarillento; moderadamente soluble en alcohol, prácticamente insoluble en agua.

Punto de fusión <260> - Aprox. 310 °C, con descomposición.

Cromatografía - Proceder según se indica en *Flores de Manzanilla*, aplicando 10 μ l de una solución de 0,25 mg de apigenina por ml de metanol. El cromatograma debe presentar en su tercio central una banda principal de fluorescencia verde amarillenta.

Apigenina-7-glucósido - (*7-O-Glucósido de apigenina*) - $C_{21}H_{20}O_{10}$ - (PM: 432,6) - Polvo ligeramente amarillento; moderadamente soluble en alcohol, prácticamente insoluble en agua.

Intervalo de fusión <260> - Entre 198 y 201 °C.

Cromatografía - Proceder según se indica en *Flores de Manzanilla*, aplicando 10 μ l de una solución de 0,25 mg de apigenina-7-glucósido por ml de metanol. El cromatograma debe presentar en su tercio central una banda principal de fluorescencia amarillenta.

Aprobarbital - $C_{10}H_{14}N_2O_3$ - (PM: 210,2) - Polvo fino cristalino blanco. Poco soluble en agua fría; soluble en alcohol, cloroformo y éter.

Valoración - Disolver aproximadamente 200 mg, previamente secados a 105 °C durante 2 horas y exactamente pesados, en 20 ml de dimetilformamida en un erlenmeyer de 100 ml. Agregar 4 gotas de solución azul de timol (1 en 200 en metanol) y titular con metóxido de litio 0,1 N empleando una bureta de 10 ml, un agitador magnético y una cubierta para el erlenmeyer para proteger la solución del dióxido de carbono atmosférico. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de metóxido de litio 0,1 N equivale a 21,02 mg de $C_{10}H_{14}N_2O_3$. Contiene entre 98,5 y 101,0 % de $C_{10}H_{14}N_2O_3$.

Intervalo de fusión <260> - Entre 140 y 143 °C.

L-Arabinitol - (*L-Arabitol*; 1, 2, 3, 4, 5-pentanopentol) - $C_4H_{12}O_5$ - (PM: 152,2) - Cristales blancos o polvo cristalino. Estable en el aire. Fácilmente soluble en agua proporcionando una solución transparente, incolora. Almacenar en sitio fresco o a temperatura ambiente en un área seca.

Intervalo de fusión <260> - Entre 102 y 104 °C.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 0,5 %.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,1 %.

Arbutina - (*Arbutosia*; 4-Hidroxifenil- β -D-glucopiranosido) - $C_{12}H_{16}O_7$ - (PM: 272,3) - Agujas finas blancas brillantes, muy solubles en agua caliente, fácilmente solubles en agua, solubles en alcohol, prácticamente insolubles en éter.

Rotación específica <170> - Aprox. - 64°, determinado sobre una solución de 20 g por litro.

Punto de fusión <260> - Aprox. 200 °C.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia con 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo, agua y ácido fórmico anhidro (88:6:6).

Revelador 1 - Preparar una solución de 10 g dicloroquinonaclorimida por litro en metanol.

Revelador 2 - Preparar una solución de 20 g de carbonato de sodio anhidro por litro.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa una solución de 2,5 mg de arbutina por ml de metanol. Desarrollar el cromatograma hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, secar entre 105 y 110 °C, pulverizar sobre la placa con *Revelador 1*. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 2*: el cromatograma debe presentar sólo una mancha principal.

Para uso en cromatografía de líquidos, debe cumplir con el siguiente ensayo.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un equipo para cromatografía de líquido (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 25 cm \times 4,0 mm recubierta con fase estacionaria constituida por octadecilsilano desactivado para bases de 5 μ m. El caudal debe ser aproximadamente 1,2 ml por minuto con fase móvil constituida por agua y metanol (90:10). El

contenido de arbutina no debe ser menor de 95,0 %, calculado por el procedimiento de normalización.

Arena estándar, 20 a 30 μ m - Arena de sílice, compuesta casi completamente de granos naturalmente redondeados prácticamente de cuarzo puro. Con un tamaño de partícula tal que pasa por un tamiz de 850 μ m (N° 20) (pasando entre 85 y 100 %) y se retiene por un tamiz de 600 μ m (N° 30) (pasando entre 0 y 5 %).

Arena lavada - Puede prepararse del siguiente modo. Digerir arena limpia a temperatura ambiente con una mezcla de 1 parte de ácido clorhídrico y 2 partes de agua (aproximadamente 13 % de HCl) durante varios días o a una temperatura elevada durante varias horas. Recolectar la arena en un filtro y lavar con agua hasta que los lavados sean neutros y proporcionen sólo una leve reacción ante el cloruro y finalmente secar. La arena lavada cumple los siguientes ensayos.

Sustancias solubles en ácido clorhídrico - Digerir 10 g con una mezcla de 10 ml de ácido clorhídrico y 40 ml de agua en un baño de vapor durante 4 horas, reemplazando esporádicamente el agua perdida por evaporación. Filtrar y agregar a 25 ml del filtrado, 5 gotas de ácido sulfúrico, evaporar y someter a ignición hasta peso constante: el residuo no pesa más de 8 mg (0,16 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - Agitar 1 g con 20 ml de agua durante 5 minutos, filtrar y agregar al filtrado 1 ml de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata (SR): cualquier turbidez producida corresponde a no más de 0,03 mg de Cl (0,003 %).

Arginina - Emplear *Arginina*.

Arsenito de sodio - $NaAsO_2$ - (PM: 129,9) - Polvo blanco, cristalino, inodoro. Soluble en agua; poco soluble en alcohol.

Valoración - Transferir aproximadamente 5,5 g, exactamente pesados, a un matraz aforado de 500 ml, disolver en agua, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 25 ml de esta solución a un envase apropiado, agregar 50 ml de agua y 5 g de fosfato dibásico de sodio, agitar por rotación hasta disolver y titular con iodo 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Cada mililitro de iodo 0,1 N equivale a 3,746 mg de As. Contiene entre 57,0 y 60,5 % (equivalente a 98,8 a 104,9 % de $NaAsO_2$).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,10 mg de Cl (0,01 %).

Metales pesados - Disolver 200 mg en 8 ml de ácido clorhídrico diluido (3 en 8) y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Disolver el residuo en 5 ml de ácido clorhídrico diluido (2 en 5) y nuevamente evaporar hasta sequedad. Disolver el

residuo en 10 ml de agua y agregar 2 ml de ácido acético diluido y 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR). Ningún color pardo que se produzca debe ser más oscuro que el de un control que contenga 0,01 mg de Pb (0,005%).

Hierro - Disolver 1 g en 20 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 5) y agregar, gota a gota, un ligero exceso de bromo (SR). Calentar a ebullición la solución para eliminar el exceso de bromo, enfriar, diluir con agua a 40 ml y agregar 10 ml de solución de tiocianato de amonio (3 en 10). Ningún color rojo que se produzca debe ser más oscuro que el de un control que contenga 0,02 mg de Fe (0,02 %).

Sulfuro - Disolver 1 g en 20 ml de agua y agregar 5 gotas de acetato de plomo (SR): no se produce ningún color pardo (aproximadamente 0,0005 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método II*. Disolver 5 g en 100 ml de agua, agregar naranja de metilo (SR), neutralizar con ácido clorhídrico 1 N, agregar 3 ml del ácido en exceso y filtrar: el filtrado proporciona no más de 3 mg de residuo (0,02 %).

Aserrín purificado - Puede prepararse del siguiente modo. Extraer aserrín en un percolador, primero con solución de hidróxido de sodio (1 en 100) y luego con ácido clorhídrico diluido (1 en 100) hasta que el percolado ácido no cumpla el ensayo para alcaloides con yodomercuriato de potasio (SR) o con iodo (SR). Luego lavar con agua hasta eliminar el ácido y las sales solubles y secar. El aserrín purificado cumple el siguiente ensayo.

Alcaloides - Agregar a 5 g de aserrín purificado contenido en un erlenmeyer, 10 ml de amoníaco (SR) y 50 ml de una mezcla de éter y cloroformo (2:1) y agitar frecuentemente durante 2 horas. Decantar 20ml del extracto etéreo-clorofórmico transparente y evaporar hasta sequedad. Disolver el residuo en 2 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 12) y dividir en dos porciones. Agregar a una porción yodomercuriato de potasio (SR) y agregar a la otra iodo (SR): no se produce turbidez en ninguna de las porciones.

Asiaticósido -
(*2\alpha,3\beta*23-trihidróxi-4\alpha-urs-12-en-28-oato-de-O-6-d
esoxi-\alpha-L-manopiranosil-(1\to4)-O-\beta-D-glucopirano
osil(1\to6)-\beta-D-glucopiranosilo) - C₄₈H₇₈O₁₉ -
(PM: 959,0) - Polvo blanco, higroscópico, soluble
en metanol, poco soluble en alcohol, insoluble en
acetónitrilo. Proteger de la humedad.

Punto de fusión <260> - Aprox. 232 °C, con descomposición.

Agua <120> - No más de 6,0 %.

Para uso en cromatografía de líquidos, debe cumplir con los requisitos de *Valoración* en

Centella, hierba. Debe contener no menos de 97,0 %.

L-Asparagina - (*Ácido L-2-Aminosuccinámico*) - COOHCH(NH₂)CH₂CONH₂ . H₂O - (PM: 150,1) - Cristales incoloros, inodoros. Moderadamente soluble en agua; soluble en ácidos y álcalis; insoluble en alcohol y éter. Sus soluciones neutras o alcalinas son levorrotatorias; sus soluciones ácidas son dextrorrotatorias.

Rotación específica <170> - Entre + 31° y + 33°, determinada en una solución en ácido clorhídrico diluido que contiene el equivalente de 5 g (calculado sobre la sustancia anhidra, secada a 105 °C durante 5 horas) en cada 100 ml.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,1 %.

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más que 0,03 mg de Cl (0,003 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. 1 g no presenta más que 0,05 mg de SO₄ (0,005 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 0,002 %.

Determinación de nitrógeno <200> - *Método II*. Contiene entre 18,4 y 18,8 % de N.

Azida de sodio - NaN₃ - (PM: 65,0) - Polvo cristalino blanco o cristales fácilmente solubles en agua, poco solubles en alcohol, prácticamente insoluble en éter.

Azometino **H** -
(*Hidrógeno-4-hidroxi-5-(2-hidroxibencilidenamino)*
-2,7-naftalendisulfonato de sodio) - (PM: 445,4) -
C₁₇H₁₂NNaO₈S₂ - Emplear un reactivo analítico
apropiado.

Azufre - Emplear *Azufre precipitado*.

Azul brillante de Coomassie R-250 -
(PM:826,0) - C₄₅H₄₄N₃O₇S₂Na - Polvo marrón.
(CI 42660).

Azul de anilina - Colorante soluble en agua que consiste en una mezcla de trisulfonatos de trifenilpararosanilina y de difenilrosanilina.

Azul de hidroxinaftol - C₂₀H₁₂N₂O₁₁S₃Na₂ -
(PM: 598,50) - Emplear un reactivo analítico
apropiado.

Azul de metileno - C₁₆H₁₈ClN₃S . 3H₂O -
(PM: 373,9) - Cristales verde oscuro o polvo
cristalino, con brillo de color bronce. Soluble en
agua y cloroformo; moderadamente soluble en
alcohol.

Relación de absortividad - La relación entre la absortividad (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) a 635 y 665 nm, medidas en

una solución diluida del colorante en alcohol diluido, está comprendida entre 0,56 y 0,62.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 10 mg (1 %).

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 18 horas: no pierde más de 15,0 % de su peso.

Azul sulfán - *[[[(4-(Diethyl-amino)fenil](2,4-disulfonato fenil)metilén]-2,5-ciclohexadien-1-ilideno]dietilamonio de sodio.*

$C_{27}H_{31}N_2NaO_6S_2$ - Polvo malva o púrpura, soluble en agua. Las soluciones diluidas del azul sulfán son azules y viran al amarillo por adición de ácido clorhídrico concentrado.

Azul de tetrazolio - *(3,3'-(3,3'-Dimetoxi[1,1'-bifenil]-4,4'-diil)bis[2,5-difenil-2H-tetrazolio]dicloruro)* - $C_{40}H_{32}Cl_2N_8O_2$ - (PM: 727,7) - Cristales amarillo limón. Poco soluble en agua; fácilmente soluble en cloroformo y metanol; insoluble en acetona y éter.

Solubilidad en metanol - Disolver 1 g en 100 ml de metanol: se disuelve completamente proporcionando una solución clara.

Color - Transferir una porción de la solución de metanol obtenida en el ensayo anterior a una celda de 1 cm y determinar su absorbancia a 525 nm, empleando agua como blanco: la absorbancia no excede 0,20.

Absortividad molar <470> - Su absortividad molar en metanol, a 252 nm, no es menor a 50.000.

Ensayo de aptitud -

Solución estándar - Disolver en alcohol una cantidad apropiada de Hidrocortisona SR-FA,

secada previamente a 105 °C durante 3 horas y exactamente pesada y preparar mediante dilución en etapas una solución que contenga aproximadamente 10 µg por ml.

Procedimiento - Transferir porciones de 10, 15 y 20 ml de *Solución estándar* a erlenmeyer separados, con tapón de vidrio, de 50 ml. Agregar 10 ml y 5 ml, respectivamente, de alcohol a los erlenmeyer que contienen 10 y 15 ml de *Solución estándar* y agitar por rotación para mezclar. A cada uno de los erlenmeyer y a un cuarto que contiene 20 ml de alcohol, agregar 2,0 ml de una solución preparada disolviendo 50 mg de azul de tetrazolio en 10 ml de alcohol, mezclar y luego agregar 2,0 ml de una solución preparada al diluir 1 ml de hidróxido tetrametilamonio (SR) con alcohol a 10 ml. Mezclar, dejar los erlenmeyer en la oscuridad durante 90 minutos y determinar las absorbancias de las tres *Soluciones estándar* a 525 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando la solución del cuarto erlenmeyer como blanco. Graficar las absorbancias en la abscisa y la cantidad de hidrocortisona en la ordenada sobre papel milimetrado y trazar la curva que mejor se ajuste: la absorbancia de cada solución es proporcional a la concentración y la absorbancia de la solución que contiene 200 µg de hidrocortisona no es menor de 0,50.

Azul de toluidina - *(Cloruro de 3-amino-7-dime-tilamino-2-metil-5-fenotiazinio)* - $C_{15}H_{16}ClN_3S$ - (PM: 305,8) - Polvo verde oscuro. Soluble en agua; poco soluble en alcohol (CI 52040).

B

Barbaloína - (1,8-Dihidroxi-3-hidroximetil-10- β -gluco-piranosil-10H-9-antracena) - (PM: 436,4) - $C_{21}H_{22}O_9 \cdot H_2O$ - Emplear uno de grado apropiado.

Barbital sódico - $C_8H_{11}N_2NaO_3$ - (PM: 206,2) - Polvo cristalino blanco o cristales incoloros, fácilmente soluble en agua, poco soluble en alcohol, prácticamente insoluble en éter. Debe contener no menos de 98 % de la sal de sodio de la 5,5-dietil-1H,3H,5H-piridina-2,4,6-triona.

Benceno - C_6H_6 - (PM: 78,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Bencenosulfonamida - $C_6H_5SO_2NH_2$ - (PM: 157,2) - Cristales blancos a marrón claro.
Intervalo de fusión <260> - Entre 150 y 153 °C.

Bencenosulfonilo, cloruro de - $C_6H_5SO_2Cl$ - (PM: 176,6) - Líquido oleoso, incoloro. Soluble en alcohol y éter; insoluble en agua fría. Solidifica a 0 °C.

Intervalo de fusión <260> - Entre 14 y 17 °C.
Intervalo de ebullición - Entre 251 y 252 °C.

Bencílico, alcohol - Ver *Alcohol bencílico*.

1-Bencilimidazol - $C_{10}H_{10}N_2$ - (PM: 158,2) - Cristales blancos.

Valoración - Transferir aproximadamente 40 mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados de 100 ml. Disolver en 50 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente empleando un electrodo combinado de calomelplatino. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 15,82 mg de $C_{10}H_{10}N_2$. Contiene no menos de 99 %.

Bencina de petróleo - Ver Éter de petróleo.

Benzaldehído - C_7H_6O - (PM: 106,1) - Líquido incoloro, fuertemente refractivo, tiene un olor que se asemeja al de aceite de almendras amargas. Soluble en agua; miscible con alcohol, éter y aceites fijos y volátiles.

Solución alcohólica de clorhidrato de hidroxilamina - Disolver 34,7 g de clorhidrato de hidroxilamina en 160 ml de agua. Agregar alcohol hasta obtener 1 litro y neutralizar frente al azul de bromofenol mediante el agregado de hidróxido de sodio (SR).

Valoración - Transferir aproximadamente 1 ml a un pesafiltro previamente pesado, con tapa de

vidrio y pesar con exactitud. Aflojar la tapa y transferir el pesafiltro y su contenido a un erlenmeyer de 250 ml que contiene 25 ml de *Solución alcohólica de clorhidrato de hidroxilamina*. Empleando una probeta para medir el volumen, lavar las paredes del erlenmeyer con 50 ml adicionales de esta solución. Dejar la solución en reposo durante 10 minutos, agregar 1 ml de azul de bromofenol (SR) y titular el ácido clorhídrico liberado con hidróxido de sodio 1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 1 N consumido equivale a 106,1 mg de C_7H_6O . Contiene no menos de 98 %.

Densidad relativa <160> - Entre 1,041 y 1,046.

Índice de refracción - Entre 1,5440 y 1,5465, a 20 °C.

Ácido cianhídrico - Agitar 0,5 ml con 5 ml de agua, agregar 0,5 ml de hidróxido de sodio (SR) y 0,1 ml de sulfato ferroso (SR) y calentar la mezcla suavemente. Agregar un leve exceso de ácido clorhídrico: no se observa color azul verdoso o precipitado azul dentro de los 15 minutos.

Benzanilida - $C_{13}H_{11}NO$ - (PM: 197,2) - Polvo casi blanco, gris claro a verde grisáceo. Insoluble en agua; moderadamente soluble en alcohol; poco soluble en éter.

Intervalo de fusión <260> - Entre 162 y 165 °C.

Solubilidad en acetona - 1,0 g se disuelve completamente en 50 ml de acetona obteniéndose una solución transparente.

Benzydrol - (α -Fenilbencenometanol) - $C_{13}H_{12}O$ - (PM: 184,2) - Cristales de color blanco a amarillo pálido. Poco soluble en agua; soluble en alcohol, éter y cloroformo.

Intervalo de fusión <260> - Entre 65 y 67 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 2 °C.

Benzoato de bencilo - Ver *Bencilo, Benzoato de*.

Benzoato de butilo - $C_{11}H_{14}O_2$ - (PM: 178,2) - Líquido espeso, aceitoso, incoloro a amarillo pálido. Prácticamente insoluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Valoración - Analizar por cromatografía gaseosa empleando un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,8 m \times 3 mm con fase estacionaria líquida de 3-cianopropilpolisiloxano sobre soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con

Na_2CO_3 y calcinada a $900\text{ }^\circ\text{C}$ [NOTA: la tierra silíceas se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad, pero no se lava con bases. La tierra silíceas puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector, el detector y la columna a aproximadamente 180 , 280 y $190\text{ }^\circ\text{C}$, respectivamente. Emplear helio como gas transportador. El tiempo de retención es aproximadamente 15 minutos. Presenta una pureza de no menos de 98 %.

Índice de refracción - Entre 1,4980 y 1,5000, a $20\text{ }^\circ\text{C}$.

Benzoato de colesterilo - $\text{C}_{34}\text{H}_{50}\text{O}_2$ - (PM: 490,8)- Emplear uno de grado apropiado.

Benzoato de etilo - $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_2$ - (PM: 150,2) - Líquido transparente, incoloro. Tiene un olor aromático. Prácticamente insoluble en agua; miscible con alcohol, cloroformo y éter.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) empleando una columna de acero inoxidable de $2,4\text{ m} \times 3\text{ mm}$ que contiene una fase estacionaria constituida por un compuesto de polietilenglicol al 20 % (p.m.p aproximadamente 15.000 [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido.]), sobre un soporte constituido por tierra silíceas para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a $900\text{ }^\circ\text{C}$ [NOTA: la tierra silíceas se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad, pero no se lava con bases. La tierra silíceas puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector, la columna y el detector a aproximadamente 180 , 195 y $250\text{ }^\circ\text{C}$, respectivamente. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de benzoato de etilo no es menor de 98 % del área del pico.

Índice de refracción - Entre 1,5048 y 1,5058, a $20\text{ }^\circ\text{C}$.

Benzoato de testosterona - $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{O}_2$ - (PM: 376,5) - Emplear uno de grado apropiado.

Benzofenona - $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{CO}$ - (PM: 182,2) - Polvo blanco, cristalino.

Intervalo de fusión <260> - Entre 47 y $49\text{ }^\circ\text{C}$.

Benzofina - (*2-hidroxi-1,2-difeniletanona*) - $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_2$ - (PM: 212,3) - Cristales ligeramente amarillentos. Fácilmente soluble en acetona; soluble en alcohol caliente; moderadamente soluble en éter; muy poco soluble en agua.

Punto de fusión - Aprox. $137\text{ }^\circ\text{C}$.

p-Benzoquinona - $\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_2$ - (PM: 108,1) - Polvo amarillo oscuro con un tono verdoso. Poco soluble en agua; soluble en alcohol, éter y soluciones de álcalis fijos. Puede oscurecerse con el tiempo. El material oscurecido puede ser purificado mediante sublimación al vacío.

Intervalo de fusión <260> - Entre 113 y $115\text{ }^\circ\text{C}$.

Beta-lactamasa - La beta-lactamasa es una enzima producida por una variedad de bacterias se obtiene generalmente a partir de los filtrados de cultivos de una cepa de *Bacillus cereus*. Tiene la propiedad específica de inactivar penicilinas y cefalosporinas al romper el enlace que vincula el nitrógeno de la tiazolidina con el carbono carbonílico adyacente.

Se presenta en la forma de pequeña piezas o gránulos fácilmente pulverizables de color pardo. Fácilmente soluble en agua, formando una solución algo opalescente que es prácticamente neutra frente al papel de tornasol. Precipita de sus soluciones acuosas en presencia de acetona, alcohol y dioxano y se inactiva por contacto con estos solventes. Es inactivada rápidamente por el acetato de etilo y se destruye irreversiblemente a una temperatura de aproximadamente $80\text{ }^\circ\text{C}$.

La beta-lactamasa es analizada por un procedimiento basado en la determinación de la cantidad de penicilina G potásica o penicilina G sódica destruida a pH 7,0 en una solución de concentración tal que la inactivación procede como una reacción de orden cero.

Betanaftol - Ver 2-Naftol.

Bibencilo - (*Dibencilo*) - $\text{C}_{14}\text{H}_{14}$ - (PM: 182,3) - Cristales incoloros. Fácilmente soluble en cloroformo y éter; moderadamente soluble en alcohol; prácticamente insoluble en agua.

Intervalo de fusión <260> - Entre 53 y $55\text{ }^\circ\text{C}$.

Bicarbonato de aminoguanidina - (PM: 136,1) - $\text{CH}_6\text{N}_4 \cdot \text{H}_2\text{CO}_3$ - Polvo blanco.

Valoración - Disolver aproximadamente 34 mg, exactamente pesados, en 50 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 13,61 mg de $\text{CH}_6\text{N}_4 \cdot \text{H}_2\text{CO}_3$. Contiene no menos de 98,5 % de $\text{CH}_6\text{N}_4 \cdot \text{H}_2\text{CO}_3$.

Punto de fusión <260> - Aprox. $170\text{ }^\circ\text{C}$, con descomposición.

Bicarbonato de potasio - KHCO_3 - (PM: 100,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Bicarbonato de sodio - NaHCO_3 - (PM: 84,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Bifenilo - $\text{C}_{12}\text{H}_{10}$ - (PM: 154,2) - Cristales incoloros o blancos o polvo cristalino, de olor agradable. Insoluble en agua; soluble en alcohol y éter. Hierve aproximadamente a 254 °C.

Intervalo de fusión <260> - Entre 68 y 72 °C.

Biftalato de potasio - (*Ftalato ácido de potasio; Ácido ftálico monopotásico; Ftalato hidrógeno de potasio, estándar acidimétrico*) - $\text{KHC}_6\text{H}_4(\text{COO})_2$ - (PM: 204,2) - Emplear Ftalato ácido de potasio patrón primario.

2,2'-Bipiridina - (α, α' -*Dipiridilo*) - $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2$ - (PM: 156,2) - Polvo blanco o rosado, cristalino. Soluble en agua y alcohol. Funde aproximadamente a 69 °C y hierve aproximadamente a 272 °C.

Sensibilidad - Preparar las siguientes soluciones: (A) Disolver 350 mg de sulfato ferroso amónico en 50 ml de agua que contiene 1 ml de ácido sulfúrico y agregar 500 mg de sulfato de hidracina luego agregar agua hasta obtener 500 ml. Antes de usar, diluir 1 ml de esta solución a 100 ml con agua. (B) Disolver 8,3 g de acetato de sodio y 12 ml de ácido acético glacial en agua para obtener 100 ml. Agregar 1 ml de la solución muestra diluida (1 en 1.000) a una mezcla de 10 ml de agua y 1 ml de cada una de *Soluciones A y B*: se produce un color rosado de inmediato.

Solubilidad - 100 mg se disuelve completamente en 10 ml de agua.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,2 %.

Bisbenzimidazolo - (*Trihidrocloruro de 4-[5-[5-(4-metilpiperazin-1-il)benzimidazol-2-il]benzimidazol-2-il]fenol pentahidrato*) - $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{Cl}_3\text{N}_6\text{O} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 624,0). Emplear un reactivo analítico apropiado.

3,3-bis(3-ter-butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno - $\text{C}_{50}\text{H}_{66}\text{O}_8$ - (PM: 795) - Polvo cristalino, prácticamente insoluble en agua y éter de petróleo; muy soluble en acetona, éter y metanol.

Bismuto, subnitrito de - [$4\text{BiNO}_3(\text{OH})_2, \text{BiO}(\text{OH})$] - (PM: 1.462) - Polvo blanco, prácticamente insoluble en agua.

2,2'-bis(octadeciloxi)-5,5'-espirobi [1,3,2-dioxo-fosforinano] - $\text{C}_{41}\text{H}_{82}\text{O}_6\text{P}_2$ - (PM: 733) - Sólido céreo blanco. Prácticamente insoluble en agua; soluble en hidrocarburos.

Intervalo de fusión - Entre 40 y 70 °C.

Bis(trimetilsilil)acetamida - (*N,O-Bis(trimetilsilil)acetamida; BSA*) - $\text{CH}_3\text{CON}[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]_2$ - (PM: 203,4) - Líquido

transparente, incoloro. Se hidroliza fácilmente cuando es expuesto al aire húmedo. Manipular bajo atmósfera de nitrógeno y almacenar en un sitio fresco.

Valoración - Emplear un cromatógrafo de gases equipado con un detector de conductividad térmica y una columna de acero inoxidable de 1,83 m × 3 mm conteniendo 5 % de fase estacionaria constituida por aceite de dimetilpolisiloxano sobre soporte de tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad, no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector a aproximadamente 160 °C. La temperatura de la columna se mantiene a 90 °C y se programa un ascenso de 4 °C por minuto hasta 160 °C. Se emplea helio como gas transportador. Contiene no menos de 90 % de $\text{CH}_3\text{CON}[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]_2$. El tiempo de retención es de aproximadamente 15 minutos.

Índice de refracción - Entre 1,4150 y 1,4170, a 20 °C.

Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida - (*BSTFA*) - $\text{CF}_3\text{CON}[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]_2$ - (PM: 257,4) - Líquido transparente, incoloro. Se hidroliza fácilmente cuando se expone al aire húmedo. Almacenar en un sitio fresco.

Valoración - Emplear un cromatógrafo de gases equipado con un detector de conductividad térmica y una columna de acero inoxidable de 1,83 m × 3 mm conteniendo 5 % de fase estacionaria constituida por aceite de dimetilpolisiloxano sobre soporte de tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad, no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector a aproximadamente 170 °C. La temperatura de la columna se mantiene a 90 °C y se programa un ascenso de 4 °C por minuto hasta 140 °C. Se emplea helio como gas transportador. Contiene no menos de 98 % de $\text{CF}_3\text{CON}[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]_2$. El tiempo de retención es de aproximadamente 15 minutos.

Índice de refracción - Entre 1,3820 y 1,3860, a 20 °C.

Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida con trimetildiclorosilano - Emplear uno de grado apropiado.

Bisulfato de amonio - NH_4HSO_4 - (PM: 115,1) - Cristales blancos. Fácilmente soluble en agua;

prácticamente insoluble en alcohol, acetona y piridina.

Valoración - Disolver aproximadamente 300 mg, exactamente pesados, en 50 ml de una mezcla de agua y alcohol (25:25). Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 11,51 mg de NH_4HSO_4 . Contiene no menos de 98 %.

Bisulfato de potasio - KHSO_4 - (PM: 136,2) - Masas delicuescentes, blancas fundidas o gránulos. Muy soluble en agua. Cuando se incinera, se generan SO_3 y H_2O , cambiando primero a piro-sulfato de potasio luego a sulfato.

Acidez - Disolver 4 g, exactamente pesados, en 50 ml de agua, agregar fenolftaleína (SR) y titular con álcali 1 N: contiene entre 34 y 36 %, calculado como H_2SO_4 .

Materia insoluble y precipitado de hidróxido de amonio - Disolver 10 g en 100 ml de agua, agregar rojo de metilo (SR), alcalinizar con amoníaco (SR), calentar a ebullición durante 1 minuto y digerir en un baño de vapor durante 1 hora. Filtrar a través de un crisol filtrante previamente pesado, lavar y secar a 105 °C durante 2 horas: el precipitado no pesa más de 1 mg (0,01 %).

Para los siguientes ensayos, preparar una *Solución muestra* del siguiente modo: disolver 6 g en 45 ml de agua, agregar 2 ml de ácido clorhídrico, calentar a ebullición suavemente durante 10 minutos, enfriar y diluir con agua a 60 ml.

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - A 30 ml de *Solución muestra*, agregar fenolftaleína (SR) y neutralizar con amoníaco (SR). Agregar 0,5 ml de ácido acético glacial, diluir con agua a 40 ml y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): cualquier color pardo producido no es más oscuro que el de un control que contiene 10 ml de *Solución muestra* y 0,02 mg de Pb (0,001 %).

Hierro <580> - A 5 ml de *Solución muestra*, agregar 2 ml de ácido clorhídrico y diluir con agua a 47 ml: la solución no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,002 %).

Bisulfato de sodio - Ver *Sulfato ácido de sodio*.

Bisulfato de tetrabutylamonio - (*Sulfato Hidrogenado de Tetrabutylamonio*) - $\text{C}_{16}\text{H}_{37}\text{NO}_4\text{S}$ - (PM: 800) - Polvo cristalino o cristales incoloros. Fácilmente solubles en agua y metanol.

Intervalo de fusión <260> - Entre 169 y 173 °C.

Absorbancia - Preparar una solución de 50 mg de Bisulfato de tetrabutylamonio por ml y medir la

absorbancia entre 240 y 300 nm: no debe ser mayor a 0,05.

Bisulfito de sodio - Emplear *Metabisulfito de sodio*.

Bitartrato de sodio - $\text{NaHC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$ - (PM: 190,1) - Cristales blancos o polvo cristalino. Soluble en agua fría.

Valoración - Disolver aproximadamente 500 mg, exactamente pesados, en 30 ml de agua, agregar fenolftaleína (SR). Titular con hidróxido de sodio 0,1N (SV): cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 19,01 mg de $\text{NaHC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Contiene entre 99 y 100,5 %.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 10 g (0,01 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,2 mg de Cl (0,02 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - Disolver 4 g en 25 ml de agua, agregar 2 gotas de fenolftaleína (SR) y luego agregar amoníaco (SR), gota a gota, hasta que la solución sea algo rosada. Agregar 4 ml de ácido clorhídrico 1 N, diluir con agua a 40 ml y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): ningún color pardo que se produzca debe ser más oscuro que el de un control que contenga 0,04 mg de Pb (0,001%).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. 1 g no presenta más de 0,2 mg de SO_4 (0,02 %).

Boldina

(*1,10-Dimetoxi-6- α -aporfina-2,9-diol*)- $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{NO}_4$ - (PM: 327,1) - Polvo cristalino blanco, soluble en alcohol y soluciones diluidas de ácidos, ligeramente soluble en agua.

Punto de fusión <260> - Aprox. 163 °C.

Rotación específica <170> - Aprox. + 127°, determinado sobre una solución de 1 g por litro en metanol.

Cromatografía -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en placa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía con 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno, dietilamina y metanol (80:10:10).

Revelador 1 - Iodobismutato de potasio (SR2).

Revelador 2 - Preparar una solución de 100 g de nitrato de sodio por litro.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 10 μl de una solución de 0,4 mg de boldina por ml de metanol. Desarrollar el cromatograma hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, dejar secar, pulverizar sobre la placa con *Revelador 1*. Dejar secar y pulverizar

sobre la placa con *Revelador 2*: el cromatograma debe presentar sólo una mancha principal.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un equipo para cromatografía de líquido (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector ultravioleta ajustado a 304 nm y una columna de 250 cm × 4,6 mm recubierta con fase estacionaria constituida por octadecilsilano de 5 µm. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto con fase móvil constituida por una mezcla de 84 volúmenes de una mezcla 99,8 ml de agua y 0,8 ml de dietilamina ajustado a pH 3,0 con ácido fórmico y 16 volúmenes de una solución preparada con 99,8 ml de acetonitrilo y 0,2 ml de dietilamina. La respuesta del pico principal no debe ser menor de 99,0 % de la suma de las respuestas de todos los picos.

Borato de sodio - (*Bórax; Tetraborato de sodio*) - $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 381,4) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Borohidruro de sodio - NaBH_4 - (PM: 37,8) - Sólido blanco, cristalino. Fácilmente soluble en agua; soluble (con reacción) en metanol. Sus soluciones se descomponen rápidamente por calentamiento a ebullición.

Valoración -

Solución de iodato de potasio (0,25 N) - Disolver 8,917 g, previamente secados a 110 °C hasta peso constante y exactamente pesados, en agua para obtener 1 litro.

Procedimiento - Disolver aproximadamente 500 mg, exactamente pesados, en 125 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 25) en un matraz aforado de 250 ml, diluir a volumen con la solución de hidróxido de sodio y mezclar. Transferir 10 ml de la solución a un matraz para iodo de 250 ml, agregar 35,0 ml de *Solución de iodato de potasio* y mezclar. Agregar 2 g de ioduro de potasio, mezclar, agregar 10 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 10), insertar el tapón en el matraz y dejar reposar en la oscuridad durante 3 minutos. Titular la solución con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Calcular la cantidad, en mg, de NaBH_4 en la muestra por la fórmula siguiente:

$$[(35,0)(0,25)] - 0,1V)4,729$$

en la cual *V* es el volumen, en ml, de tiosulfato de sodio 0,1 N empleado en la titulación. Contiene no menos de 98 %.

Bromato de potasio - KBrO_3 - (PM: 167,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Bromo - Br - (PA: 79,90) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

α-Bromo-2-acetonafona - (*Bromometil 2-naftil cetona*) - $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{BrO}$ - (PM: 249,1) - Cristales de color rosado a tostado claro.

Intervalo de fusión <260> - Entre 81 y 83 °C.

p-Bromoanilina - $\text{C}_6\text{H}_6\text{BrN}$ - (PM: 172,0) - Cristales blancos a casi blancos. Insoluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Valoración - Transferir aproximadamente 650 mg, exactamente pesados, a un envase apropiado y disolver en 50 ml de ácido acético glacial (SR). Agregar cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 17,20 mg de $\text{C}_6\text{H}_6\text{BrN}$. Contiene no menos de 98 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 60 y 65 °C, con un intervalo fusión no mayor de 2 °C.

5-Bromo-2'-desoxiuridina - $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{BrN}_2\text{O}_5$ - (PM: 307,1).

Punto de fusión <260> - Aprox. 194 °C.

Cromatografía - Analizar según se indica en *Sustancias relacionadas* para *Idoxiuridina* depositando 5 µl de una solución de 5-iodouracilo de 0,25 mg por ml. El cromatograma sólo presenta una mancha principal.

N-Bromosuccinimida - $\text{C}_4\text{H}_4\text{BrNO}_2$ - (PM: 178,0) - Cristales o polvo de color blanco o casi blanco, de olor débil. Fácilmente soluble en agua, acetona y ácido acético glacial. *Precaución* - *Sumamente irritante a los ojos, piel y mucosas.*

Valoración - Transferir 200 mg, exactamente pesados, a un erlenmeyer, agregar 25 ml de hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N, cubrir con un vidrio de reloj, calentar a ebullición durante 5 minutos. Enfriar, transferir la solución a un vaso de precipitados, lavar el erlenmeyer con agua hasta que el volumen total de solución más los lavados sea de aproximadamente 100 ml y agregar 10 ml de ácido acético glacial. Insertar electrodos apropiados y titular con nitrato de plata 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 17,80 mg de $\text{C}_4\text{H}_4\text{BrNO}_2$. Contiene no menos de 98 %.

Bromuro de amonio - NH_4Br - (PM: 97,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Bromuro de dimidio

Bromuro de 3,8-diamino-5-metil-6-fenilfenantridinium.

$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{BrN}_3$ - (PM: 380,3) - Cristales negros. Levemente soluble en agua a 20 °C; poco soluble en agua a 60 °C y alcohol.

Bromuro de cianógeno - BrCN - (PM: 105,9) - Cristales incoloros. Se volatiliza a temperatura ambiente. Sus vapores son altamente irritantes y muy tóxicos. Funde aproximadamente a 52 °C. Fácilmente soluble en agua y alcohol. Almacenar en envases de cierre perfecto, en un sitio frío.

Solubilidad - Porciones separadas de 1 g se disuelven completamente en 10 ml de agua y en 10 ml de alcohol, respectivamente, produciendo soluciones incoloras.

Bromuro de iodo - IBr - (PM: 206,8) - Cristales negro-azulados o negro-parduscos. Fácilmente soluble en agua, alcohol, éter y ácido acético glacial. Funde aproximadamente a 40 °C. Punto de ebullición: aproximadamente a 116 °C. Conservar en envase inactivo, en un sitio fresco.

Bromuro de *p*-nitrobencilo - NO₂C₆H₄CH₂Br - (PM: 216,0) - Cristales de color casi blanco a amarillo pálido, se oscurece por exposición a la luz. Prácticamente insoluble en agua; fácilmente soluble en alcohol, éter y ácido acético glacial. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto.

Intervalo de fusión <260> - Entre 98 y 100 °C.

Solubilidad - Porciones separadas de 200 mg proporcionan soluciones transparentes en 5 ml de alcohol y en 5 ml de ácido acético glacial.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 200 mg.

Bromuro de potasio - KBr - (PM: 119,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Bromuro de sodio - NaBr - (PM: 102,9) - Cristales cúbicos o polvo granular blanco, inodoro. Soluble en agua; poco soluble en alcohol.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - La materia insoluble a partir de 20 g, disuelta en 150 ml de agua caliente, no pesa más de 1 mg (0,005 %).

pH <250> - Entre 5,5 y 7,5, determinado en una solución (1 en 20).

Bario - Disolver 6 g en 15 ml de agua, agregar 5 ml de ácido acético, 5 ml de peróxido de hidrógeno al 30 % y 1 ml de ácido clorhídrico y digerir en un vaso de precipitados cubierto hasta que cese la reacción. Retirar la cubierta y evaporar hasta sequedad. Disolver el residuo en 15 ml de agua, filtrar si fuera necesario, diluir con agua a 23 ml y agregar 2 ml de solución de dicromato de potasio (1 en 10). Agregar hidróxido de amonio hasta que se haya disipado el color anaranjado y el color amarillo persista luego agregar 25 ml de metanol, agitar vigorosamente y dejar reposar durante 10 minutos: cualquier turbidez que aparezca no excede la de un control que contenga 1,0 g de muestra y 100 µg de ion bario (0,002 %).

Bromato - Disolver 1 g en 10 ml de agua, agregar 100 µl de solución de yoduro de potasio (1 en 10), 1 ml de almidón (SR) y 25 µl de ácido sulfúrico diluido (1 en 36) y dejar reposar a 25 °C: no se produce color azul ni violeta dentro de los 10 minutos (aproximadamente 0,001 %).

Calcio, magnesio y precipitado de R₂O₃ - Agregar al filtrado del ensayo para *Materia insoluble*, 5 ml de oxalato de amonio (SR), 2 ml de fosfato de amonio (SR) y 10 ml de hidróxido de amonio. Dejar reposar durante aproximadamente 16 horas, filtrar, lavar con amoníaco (SR) diluido (1 en 4), someter a ignición y pesar: el peso del residuo no es mayor de 1 mg (0,005%).

Cloruro - Disolver 500 mg en 15 ml de ácido nítrico diluido (1 en 3) en un erlenmeyer apropiado, agregar 3 ml de peróxido de hidrógeno al 30 % y digerir en un baño de vapor hasta que la solución sea incolora. Lavar las paredes del erlenmeyer con agua, digerir durante un periodo adicional de 15 minutos, enfriar y diluir con agua a 200 ml. Diluir una alícuota de 2 ml con agua a 25 ml y agregar 1 ml de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata (SR): si se produce turbidez no excede la de un control que contenga 10 µg de ion cloruro (0,2 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 0,0005 %.

Hierro <580> - 2 g, disueltos en 47 ml de agua que contenga 2 ml de ácido clorhídrico, no presentan más de 0,01 mg de Fe (5 ppm).

Compuestos nitrogenados (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 5 µg de N (0,0005 %).

Potasio (Ensayo para reactivos) -

Solución de ensayo - Disolver 10 g en agua, diluir con agua a 100 ml y mezclar.

Solución muestra - Diluir 10,0 ml de *Solución de ensayo* con agua a 100 ml y mezclar.

Solución control - Agregar a 10,0 ml de *Solución de ensayo*, 50 µg de ion potasio (K), diluir con agua a 100 ml y mezclar. No más de 0,005 %.

Sulfato - Disolver 10 g en 100 ml de agua, filtrar si fuera necesario y agregar 1 ml de ácido clorhídrico: la solución proporciona no más de 1,2 mg de residuo (0,005 %).

Bromuro de tetrabutilamonio - (C₄H₉)₄NBr - (PM: 322,4) - Polvo cristalino blanco.

Valoración - Disolver aproximadamente 34 mg, exactamente pesados, en 50 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido

perclórico 0,1 N equivale a 32,24 mg de $(C_4H_9)_4NBr$. Contiene no menos de 99 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 103 y 105 °C.

Bromuro de tetraheptilamonio - $(C_7H_{15})_4NBr$ - (PM: 490,7) - Polvo blanco, escamoso.

Intervalo de fusión <260> - Entre 89 y 91 °C.

Bromuro de tetrametilamonio - $(CH_3)_4NBr$ - (PM: 154,1) - Cristales incoloros. Soluble en agua; moderadamente soluble en alcohol absoluto; insoluble en cloroformo y éter.

Valoración - Transferir aproximadamente 400mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados, agregar 50 ml de agua y 10 ml de ácido nítrico diluido, agitar por rotación hasta disolver la muestra, agregar 50,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV) y mezclar. Agregar 2 ml de sulfato férrico amónico (SR) y titular el exceso de nitrato de plata con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N consumido equivale a 15,41 mg de $(CH_3)_4NBr$. Contiene no menos de 98 %.

Bromuro mercúrico - $HgBr_2$ - (PM: 360,4) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

1,3-Butanodiol - (*1,3-Butilenglicol*) - $C_4H_{10}O_2$ - (PM: 90,1) - Líquido viscoso, incoloro. Muy higroscópico. Soluble en agua, alcohol, acetona y metil etil cetona; prácticamente insoluble en hidrocarburos alifáticos y tolueno.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,8 m x 3 mm que contiene 20 % de una fase estacionaria constituida por polietilenglicol (p.m.p. aproximadamente 15.000) diepóxido en un soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad, no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector a aproximadamente 265 °C. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un ascenso de 8 °C por minuto hasta 210 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de butanodiol no es menor de 98 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,4390 y 1,4410, a 20 °C.

2,3-Butanodiona - (*Diacetilo*) - $CH_3COCOCH_3$ - (PM: 86,1) - Líquido amarillo brillante a verde amarillento con fuerte olor, acre. Soluble en agua. Miscible con alcohol y éter.

Hierve aproximadamente a 88 °C. Densidad relativa: aproximadamente 0,98.

Valoración -

Solución de clorhidrato de hidroxilamina - Disolver 20 g de clorhidrato de hidroxilamina en 40 ml de agua, y diluir con alcohol a 400 ml. Agregar, con agitación, 300 ml de hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N y filtrar. Descartar después de 2 días.

Procedimiento - Transferir aproximadamente 1 g, exactamente pesado, a un erlenmeyer con tapón de vidrio de 250 ml, agregar 75,0 ml de *Solución de clorhidrato de hidroxilamina*, e insertar el tapón en el erlenmeyer. Calentar a reflujo la mezcla durante 1 hora luego enfriar a temperatura ambiente. Agregar azul de bromofenol (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,5 N (SV) hasta punto final amarillo verdoso. [NOTA: alternativamente, la solución puede titularse potenciométricamente hasta pH 3,4.] Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido clorhídrico 0,5 N equivale a 43,05 mg de $CH_3COCOCH_3$. Contiene no menos de 97 % de $CH_3COCOCH_3$.

Índice de refracción - Entre 1,3935 y 1,3965, a 20 °C.

Intervalo de solidificación <180> - Entre - 2,0 y - 5,5 °C.

Butanol - Ver Alcohol butílico.

2-Butanona - Ver Metil etil cetona.

Butano sulfonato de sodio - (*Sal sódica del ácido 1-butano sulfónico*) - $C_4H_9NaO_3S$ - (PM: 160,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Butilamina normal - Ver *n*-Butilamina.

***n*-Butilamina** - $CH_3CH_2CH_2CH_2NH_2$ - (PM: 73,1) - Líquido incoloro a amarillo pálido, inflamable. Miscible con agua, alcohol y éter. Almacenarlo en envases de cierre perfecto. Densidad relativa: aproximadamente 0,740.

Intervalo de destilación <240> - *Método I*. No menos de 95 % destila entre 76 y 78 °C.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 1,0 %.

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g (1,5 ml) no presenta más que 0,01 mg de Cl (0,001 %).

Impurezas ácidas - A 50 ml, agregar 5 gotas de una solución saturada de azul violeta en benceno y titular rápidamente con metóxido sódico 0,1 N (SV) hasta punto final azul profundo, tomando precauciones para impedir la absorción de dióxido de carbono atmosférico mediante el empleo de una atmósfera de nitrógeno. No más de 1,0 ml de

metóxido sódico 0,1 N se requieren para la neutralización.

4-(Butilamino)benzoico, ácido - Ver *ácido 4-(Butilamino)benzoico*.

4-ter-Butilfenol - $C_{10}H_{14}O$ - (PM: 150,2) - Escamas o agujas blancas, cristalinas. Prácticamente insoluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Intervalo de fusión (260) - Entre 98 y 101 °C.

ter-Butil metil éter - $C_5H_{12}O$ - (PM: 88,2) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m × 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 100 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a temperatura ambiente y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 150 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico $C_5H_{12}O$ no es menor de 99,8 % del área total.

C

Cadmio - Cd - 112,4 - Metal blanco plateado brillante. Prácticamente insoluble en agua. Fácilmente soluble en ácido nítrico y ácido clorhídrico caliente.

Cafeína - Ver *Cafeína*.

Caolín ligero - Silicato de aluminio hidratado natural, purificado con un dispersante apropiado. Polvo blanco, ligero, libre de partículas granulares. Graso al tacto. Prácticamente insoluble en agua y ácidos minerales.

Partículas gruesas - Transferir 5,0 g de Caolín ligero a una probeta con tapón esmerilado, agregar 60 ml de una solución de 10 mg de pirofosfato de sodio por ml, agitar enérgicamente y dejar reposar durante 5 minutos. Con la ayuda de una pipeta, extraer 50 ml, tomados a unos 5 cm por debajo de la superficie. Agregar 50 ml de agua, agitar y dejar reposar durante 5 minutos. Repetir esta operación hasta que se hayan retirado 400 ml. Transferir la suspensión restante a una cápsula, evaporar a sequedad en un baño de agua y secar el residuo a una temperatura comprendida entre 100 y 105 °C hasta peso constante. El peso del residuo no debe ser mayor a 25 mg (0,5 %).

Partículas finas - Dispersar 5,0 g de Caolín ligero en 250 ml de agua, agitar enérgicamente durante 2 minutos y transferir a una probeta. Con la ayuda de una pipeta, transferir 20 ml de la suspensión a una cápsula, evaporar a sequedad en un baño de agua y secar el residuo a una temperatura comprendida entre 100 y 105 °C hasta peso constante. Dejar el resto de la suspensión en reposo a 20 °C durante 4 horas y con la ayuda de una pipeta transferir 20 ml tomados exactamente a 5 cm por debajo de la superficie de la suspensión, a una cápsula. Evaporar a sequedad en un baño de agua y secar el residuo a una temperatura comprendida entre 100 y 105 °C hasta peso constante. El peso del residuo de la segunda extracción no debe ser menor al 70 % del peso del residuo obtenido en la primera extracción.

Carbamato de metilo - C₂H₅NO₂ - (PM: 75,1) - Cristales blancos. Fácilmente soluble en agua.

Intervalo de fusión <260> - Entre 54 y 56 °C.

Carbazol - C₁₂H₉N - (PM: 167,21) - Polvo casi blanco a canela.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un equipo para cromatografía de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m

× 0,25 mm recubierta con una capa de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpoliloxano de 1 µm. Mantener el inyector, el detector y la columna a aproximadamente 280, 300 y 280 °C, respectivamente. Se debe emplear helio como gas transportador. La respuesta del pico de C₁₂H₉N no debe ser menor de 95,5 % de la respuesta total.

Carbón vegetal activado - (*Carbón activado; Carbón decolorante*) - Polvo fino, negro, inodoro, es el residuo de la destilación destructiva de diversos materiales orgánicos, tratado para aumentar su alta capacidad de adsorción de sustancias orgánicas coloreadas, así como bases nitrogenadas.

Poder adsorbente - Disolver 100 mg de sulfato de estriquina en 50 ml de agua, agregar 1 g de muestra, agitar durante 5 minutos y filtrar a través de un filtro seco, descartando los primeros 10 ml del filtrado. A 10 ml del filtrado, agregar 1 gota de ácido clorhídrico y 5 gotas de ioduro mercúrico (SR): no se produce turbidez.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - El residuo no pesa más de 20 mg, determinado sobre 500 mg (4,0 %).

Reacción - Calentar a ebullición 2 g con 50 ml de agua durante 5 minutos, dejar enfriar, restaurar el volumen original agregando cantidad suficiente de agua y filtrar: el filtrado es incoloro y es neutro al papel de tornasol.

Sustancias solubles en ácidos - Calentar a ebullición 1,0 g con 25 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 5) durante 5 minutos, filtrar a través de un crisol de porcelana previamente pesado y lavar el residuo con 10 ml de agua caliente. Combinar los lavados y el filtrado, agregar 1 ml de ácido sulfúrico, evaporar hasta sequedad e incinerar hasta peso constante: el residuo no pesa más de 35 mg (3,5 %).

Sustancias solubles en alcohol - Calentar a ebullición 2 g con 40 ml de alcohol durante 5 minutos bajo un condensador a reflujo y filtrar. Evaporar 20 ml del filtrado en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 2 mg (0,2%).

Elementos constitutivos no carbonizados - A 250 mg agregar 10 ml de hidróxido de sodio (SR), calentar a ebullición y filtrar: el filtrado es incoloro.

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 5 ml del filtrado obtenido en el ensayo para *Reacción* no presenta más de 0,04 mg de Cl (0,02 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I.* 5 ml del filtrado obtenido en el ensayo de *Reacción* no presenta más de 0,3 mg de SO_4 (0,15 %).

Sulfuro - Colocar 1 g en un erlenmeyer pequeño con un cuello estrecho, agregar 35 ml de agua y 5 ml de ácido clorhídrico y calentar a ebullición suavemente: los vapores que se desprenden no oscurecen un papel humedecido con acetato de plomo (SR).

Carbonato de amonio - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Carbonato de calcio - CaCO_3 - (PM: 100,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Carbonato de calcio, estándar para quelatometría - CaCO_3 - (PM: 100,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Carbonato de calcio precipitado - Emplear *Carbonato de calcio precipitado*.

Carbonato de potasio - Ver Carbonato de potasio anhidro.

Carbonato de potasio anhidro - K_2CO_3 - (PM: 138,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Carbonato de sodio - Emplear Carbonato de sodio anhidro.

Carbonato de sodio anhidro - Na_2CO_3 - (PM: 106,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Carbonato sódico hidrogenado - Ver Bicarbonato de sodio.

Caseína - Polvo blanco o algo amarillo, inodoro, granular. Insoluble en agua y otros solventes neutros; fácilmente soluble en amoníaco (SR) y soluciones de hidróxidos de álcali, generalmente forma una solución turbia.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - El residuo no pesa más de 20 mg, determinado sobre 2 g (1,0 %).

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 10,0 % de su peso.

Alcalinidad - Agitar 1 g con 20 ml de agua durante 10 minutos y filtrar: el filtrado no es alcalino frente al papel de tornasol rojo.

Sustancias solubles - Evaporar el filtrado del ensayo de *Alcalinidad* y secarlo a 105 °C, el residuo no pesa más de 1 mg (0,1 %).

Grasas - Disolver 1 g en una mezcla de 10 ml de agua y 5 ml de amoníaco alcohólico (SR) y agitar con dos porciones de 20 ml de éter de petróleo. Evaporar el éter de petróleo a temperatura

baja y secar a 80 °C: el peso del residuo no excede 5 mg (0,5 %).

Determinación de nitrógeno <200> - *Método I.* Contiene entre 15,2 y 16,0 % de N, sobre la sustancia anhidra.

Cuando se requiera caseína libre de vitaminas, emplear caseína que se ha liberado de su contenido de vitaminas liposolubles mediante extracción continua con alcohol caliente durante 48 horas seguido de secado al aire para remover el solvente.

Caseinato de calcio - Polvo blanco o algo amarillo, casi inodoro. Insoluble en agua fría, pero forma una solución lechosa cuando es suspendido en agua, agitado y calentado.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 5 g a 550 °C: el residuo pesa entre 150 y 300 mg (3,0 a 6,0 %).

Calcio - Tratar el residuo del ensayo anterior con 10 ml de ácido clorhídrico diluido, filtrar, y al filtrado transparente agregarle 5 ml de oxalato de amonio (SR): en reposo aparece un precipitado blanco.

Pérdida por secado <680> - Secar al vacío a 70 °C hasta peso constante: no pierde más de 7,0 % de su peso.

Grasa - Suspender 1,0 g en 5 ml de alcohol en un matraz de Mojonnier, agregar 0,8 ml de agua de amoníaco fuerte y 9 ml de agua y agitar. Agregar una segunda porción de 5 ml de alcohol luego agregar porciones sucesivas de 25 ml cada una de éter de petróleo, agitando después de cada agregado invirtiendo el matraz 30 veces. Centrifugar, decantar la fase orgánica, evaporar a temperatura baja y secar en un baño de vapor: el residuo pesa no más de 20 mg (2,0 %).

Determinación de nitrógeno <200> - *Método I.* Contiene entre 12,5 y 14,3 % de N, calculado sobre la sustancia anhidra.

Suspendibilidad en agua - Colocar 2 g en un vaso de precipitados y agregar agua fresca lentamente con agitación hasta formar una pasta delgada, suave. Completar con agua hasta obtener 100 ml. Agitar, y calentar a 80 °C: se forma una suspensión lechosa que no sedimenta después de 2 horas de reposo.

Catalizador de níquel-aluminio - Emplear uno de grado apropiado.

Catecol - (*o*-Dihidroxibenceno) - $\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2$ - (PM: 110,1) - Cristales blancos, que se decoloran por exposición al aire y luz. Fácilmente soluble en agua, alcohol, éter, cloroformo y piridina, formando soluciones claras.

Intervalo de fusión <260> - Entre 104 y 105 °C.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 500 mg con 5 gotas de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,2 %).

Cefelina - (*Dihidrocloreuro de (R)-1-[(2S,3R,11bS)-3-etil-1,3,4,6,7,11b-hexahidro-9,10-dimetoxi-2H-benzo[α]quinolín-2-ilmetil]-1,2,3,4-tetrahidro-7-metoxi-6-isoquinolínol heptahidrato; Desmetilemetina*) - $C_{28}H_{40}Cl_2N_2O_4 \cdot 7H_2O$ - (PM: 666) - Polvo cristalino blanco o amarillento. Fácilmente soluble en agua, soluble en acetona y alcohol.

Rotación específica <170> - +25 °, determinada a 20 °C en una solución que contenga 20 mg por ml.

Celulosa con indicador de fluorescencia para cromatografía - Mezcla de celulosa con una sustancia fluorescente apropiada.

Celulosa microcristalina - Emplear *Celulosa microcristalina*.

Celulosa para cromatografía - Emplear uno de grado apropiado.

Cerebro de buey desecado con acetona, polvo de - Cortar en trozos pequeños un cerebro de buey fresco, libre de tejidos vasculares y conjuntivos. Deshidratar el material sumergiéndolo en acetona. Triturar 30 g en un mortero para completar la deshidratación y agregar porciones sucesivas de 75 ml de acetona hasta obtener un polvo seco luego de filtrar. Secar a 37 °C durante 2 horas o hasta que el olor a acetona desaparezca.

Cetrimida - (*Bromuro de alquiltrimetilamonio*) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cianoacetato de etilo - $CNCH_2COOC_2H_5$ - (PM: 113,1) - Líquido incoloro a amarillo pálido, de olor agradable. Poco soluble en agua. Miscible con alcohol y éter. Intervalo de ebullición: entre 205 y 209°C, con descomposición. A una presión de 10 mm de Hg destila aproximadamente a 90 °C.

Densidad relativa <160> - Entre 1,057 y 1,062.

Acidez - Disolver 2 ml en 25 ml de alcohol neutralizado, agregar fenoltaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,10 N: no se requieren más de 1,5 ml para producir color rosado.

Cianoguanidina - (*Diciandiamida; 1-cianoguanina*) - $C_2H_4N_4$ - (PM: 84,1) - Polvo blanco cristalino. Moderadamente soluble en alcohol; prácticamente insoluble en cloroformo y cloruro de metileno. Funde a proximadamente a 210 °C.

Cianuro de potasio - KCN - (PM: 65,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cianuro de sodio - NaCN - (PM: 49,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ciclohexano - C_6H_{12} - (PM: 84,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ciclohexanol - $C_6H_{12}O$ - (PM: 100,2) - Líquido transparente de olor alcanforáceo. Fácilmente soluble en agua. Miscible con alcohol, acetato de etilo e hidrocarburos aromáticos. Punto de fusión: aproximadamente a 23 °C. Densidad relativa: aproximadamente 0,962, a 20 °C.

Valoración - Cuando se analiza por cromatografía gas-líquido, empleando un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) y condiciones apropiadas, presenta una pureza no menor al 98 %.

Cinamato de bencilo - (*3-Fenilprop-2-enoato de bencilo*) - $C_{16}H_{14}O_2$ - (PM: 238,3) - Cristales amarillentos o incoloros. Prácticamente insoluble en agua, soluble en alcohol y éter. Punto de fusión: aproximadamente a 39 °C.

Cromatografía - Analizar según se especifica en la monografía de *Bálsamo de Perú*, aplicando sobre la placa 20 μ l de una solución al 0,3 % en acetato de etilo. Luego de pulverizar la placa y calentar, el cromatograma presenta una mancha principal cuyo R_f es aproximadamente 0,6.

Cinc - Zn - (PA: 65,39) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cinconidina - $C_{19}H_{22}N_2O$ - (PM: 294,4) - Cristales, polvo cristalino o granular color blanco. Soluble en alcohol y cloroformo; prácticamente insoluble en agua.

Valoración - Disolver aproximadamente 125 mg, exactamente pesados, en 50 ml de ácido acético glacial. Agregar unas gotas de *p*-naftolbenceína (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 14,72 mg de $C_{19}H_{22}N_2O$. Contiene no menos de 99,0 %.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 1,0 % de su peso.

Intervalo de fusión <260> - Entre 200 y 205 °C.

Rotación específica <170> - Entre -105° y -115°, calculado sobre la sustancia seca, determinada en una solución alcohólica que contiene 10 mg por ml.

Cinconina - $C_{19}H_{22}N_2O$ - (PM: 294,4) - Cristales, polvo cristalino o granular color blanco. Poco soluble en cloroformo; moderadamente soluble en alcohol; prácticamente insoluble en agua.

Valoración - Disolver aproximadamente 125 mg, exactamente pesados, en 50 ml de ácido acético glacial. Agregar unas pocas gotas de *p*-naftolbenceína (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 14,72 mg de $C_{19}H_{22}N_2O$. Contiene no menos de 99,0 %.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 1,0 % de su peso.

Intervalo de fusión <260> - Entre 255 y 261 °C.

Rotación específica <170> - Entre +219° y +229°, calculado sobre la sustancia seca, determinada en una solución alcohólica que contiene 50 mg por 10 ml.

Cineol - (*Eucaliptol*; 1,8-*Cineol*; 1,8-*Epoxi-p-mentano*) - $C_{10}H_{18}O$ - (PM: 154,3) - Líquido incoloro, miscible en alcohol y éter; prácticamente insoluble en agua.

Densidad relativa <160> - Entre 0,922 y 0,927.

Índice de refracción <230> - Entre 1,456 y 1,459.

Punto de solidificación <180> - Entre 0 y 1 °C.

Intervalo de destilación <240> - Entre 174 y 177 °C.

Fenol - Agitar 1 g de Cineol con 20 ml de agua. Dejar reposar. Separar 10 ml de la fase acuosa y agregar 0,1 ml de cloruro férrico (SR): no debe producirse coloración violeta.

Escencia de trementina - Disolver 1 g de Cineol en 5 ml de alcohol. Agregar gota a gota agua de bromo, recientemente preparada: el viraje al amarillo de persistir durante 30 minutos y no se requieren más de 0,5 ml de agua de bromo.

Residuo de evaporación - A 10 ml de Cineol agregar 25 ml de agua, evaporar en un baño de agua y secar el residuo entre 100 y 105 °C hasta peso constante: no debe contener más de 0,05 %.

Para uso en cromatografía de gases, debe cumplir con el siguiente ensayo.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 60 m × 0,25 mm recubierta con una capa de fase estacionaria constituida por goma de polietilenglicol 20.000. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 220 °C. La temperatura de la columna se debe mantener a 60 °C durante 10 minutos, se programa un ascenso de 2 °C por minuto hasta 180 °C, y mantener a esta temperatura durante 5 minutos. Se emplea helio como gas transportador, el caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto. La respuesta

del pico principal no debe ser menor de 98,0 % de la suma de las respuestas de todos los picos.

Circonilo, nitrato de - $ZrO(NO_2)_2 \cdot 2H_2O$ - Polvo blanco o cristales higroscópicos. Soluble en agua. La solución acuosa debe ser transparente o ligeramente opalescente. Conservar en envases herméticos.

L-Cistina - (PM: 240,3) - $HOOC(NH_2)CHCH_2S-SCH_2CH(NH_2)COOH$ - Polvo blanco, cristalino. Muy poco soluble en agua; soluble en ácidos minerales diluidos y en soluciones de hidróxidos alcalinos; insoluble en alcohol y en otros solventes orgánicos.

Rotación específica <170> - Entre -215° y -225°, determinada en una solución (2 en 100) de la muestra, secada previamente sobre gel de sílice durante 4 horas, en ácido clorhídrico diluido (1 en 10), a 20 °C.

Pérdida por secado <680> - Secar sobre gel de sílice durante 4 horas: no pierde más de 0,2 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,1 %.

Citral - $C_{10}H_{16}O$ - (PM: 152,2) - Mezcla de (2*E*)- y (2*Z*)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal. Líquido amarillo claro, miscible con alcohol, éter y glicerina, prácticamente insoluble en agua.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en placa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia con 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno y acetato de etilo (85:15).

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 10 µl de una solución de citral en tolueno de 1 g por litro. Desarrollar el cromatograma hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, dejar secar y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm: el cromatograma debe presentar sólo una mancha principal.

Para uso en cromatografía de gases, debe cumplir con el siguiente ensayo.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 60 m × 0,25 mm recubierta con una capa de fase estacionaria constituida por goma de polietilenglicol 20.000 de 0,2 µm. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 260 °C. La temperatura de la columna se debe mantener a 80 °C durante 2 minutos, se programa un ascenso de 3 °C por

minuto hasta 150 °C, luego un ascenso de 2,2 C por minuto hasta 185 °C y luego se programa un ascenso de 9,3 °C por minuto hasta 250 °C. Se emplea helio como gas transportador, el caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto. El contenido de citral (neral + geranial) no debe ser menor de 95,0 %, calculado por el procedimiento de normalización.

Citrato cúprico - (*[Citrato(4-)]dicobre*) - (PM: 315,2) - $\text{Cu}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_7$ - Emplear uno de grado apropiado.

Citrato de sodio - Emplear *Citrato de sodio*.

Citrato de calcio - $\text{Ca}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 570,5) - Polvo blanco, inodoro, cristalino. Poco soluble en agua; fácilmente soluble en ácido clorhídrico 3 N y ácido nítrico 2 N; insoluble en alcohol. A 15 ml de ácido sulfúrico 2 N caliente agregar, en porciones y con agitación, aproximadamente 500 mg de citrato de calcio. Calentar a ebullición la mezcla durante 5 minutos y filtrar en caliente: el filtrado enfriado responde al ensayo de identificación para *Citrato* (ver 410. *Ensayos generales de identificación*).

Valoración - Pesar exactamente 400 mg de la sal, previamente secada a 150 °C hasta peso constante, y transferir a un vaso de precipitados de 250 ml. Disolver la muestra en 150 ml de agua que contiene 2 ml de ácido clorhídrico 3 N, agregar 15 ml de hidróxido de sodio 1 N y 250 mg de azul hidroxinaftol. Titular con edetato disódico 0,05 M (SV) hasta que la solución se torna de color azul profundo. Cada mililitro de edetato disódico 0,05 M equivale a 8,307 mg de $\text{Ca}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2$. Contiene entre 97,5 y 101 %.

Óxido de calcio y carbonato - Triturar 1 g de citrato de calcio con 5 ml de agua durante 1 minuto: la mezcla no colorea de rojo el papel de tornasol azul. Luego agregar 5 ml de ácido clorhídrico 3 N caliente: sólo se desprenden unas pocas burbujas aisladas.

Materia insoluble en ácido clorhídrico - Disolver 5 g calentando con una mezcla de 10 ml de ácido clorhídrico y 50 ml de agua durante 30 minutos: se obtiene no más de 2,5 mg de residuo insoluble (0,05%).

Pérdida por secado <680> - Secar a 150 °C hasta peso constante: pierde entre 12,2 y 13,3 % de su peso.

Límite de arsénico <540> - Proceder según se indica para compuestos orgánicos, empleando 0,50 g (6 ppm de As).

Metales pesados <590> - *Método I*. No más de 0,002 %.

Citrato dibásico de amonio - $(\text{NH}_4)_2\text{HC}_6\text{H}_5\text{O}_7$ - (PM: 226,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Citrato férrico amónico - Escamas delgadas, transparentes, de color rojo granate o gránulos o polvo amarillo pardusco, inodoro o con un ligero olor a amoníaco. Es delicuescente y sensible a la luz. Muy soluble en agua; insoluble en alcohol.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 1 g y transferir a un erlenmeyer con tapón de vidrio. Disolver en 25 ml de agua, agregar 5 ml de ácido clorhídrico y 4 g de ioduro de potasio, colocar el tapón en el erlenmeyer y dejar reposar en la oscuridad durante 15 minutos. Agregar 100 ml de agua y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 5,585 mg de Fe. Contiene entre 16,5 y 18,5 %.

Citrato férrico - A 250 mg disueltos en 25 ml de agua, agregar 1 ml de ferrocianuro de potasio (SR): no se forma precipitado azul.

Tartrato - Disolver 1 g en 10 ml de agua, agregar 1 ml de hidróxido de potasio (SR), calentar a ebullición para coagular el hidróxido férrico, agregando más hidróxido de potasio (SR), si fuera necesario, para precipitar todo el hierro, filtrar y acidificar levemente el filtrado con ácido acético glacial. Agregar 2 ml de ácido acético glacial y dejar reposar durante 24 horas: no se forma precipitado blanco cristalino.

Plomo <600> - Disolver 1,0 g en 30 ml de agua, agregar 5 ml de ácido nítrico diluido (1 en 21), calentar a ebullición suavemente durante 5 minutos, enfriar y diluir con agua a 50 ml: 20 ml de solución no presentan más de 0,008 mg de Pb (0,002 %).

Citronelal - (*3,7-Dimetil-6-octenal*) - $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$ - (PM: 154,3) - Soluble en alcoholes, muy poco soluble en agua.

Densidad relativa <160> - Entre 0,848 y 0,856.

Índice de refracción <230> - Aprox. 1,446.

Rotación específica <170> - Aprox. + 11,50°.

Para uso en cromatografía de gases, debe cumplir con el siguiente ensayo.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 60 m × 0,25 mm recubierta con una capa de fase estacionaria constituida por goma de polietilenglicol 20.000 de 0,2 µm. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 260 °C. La temperatura de la columna se debe mantener a 80 °C durante 2 minutos, se programa un ascenso de 3 °C por

minuto hasta 150 °C, luego un ascenso de 2,2 C por minuto hasta 185 °C y luego se programa un ascenso de 9,3 °C por minuto hasta 250 °C. Se emplea helio como gas transportador, el caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto. El contenido de citronelal no debe ser menor de 95,0 %, calculado por el procedimiento de normalización.

Cloramina T - (*p*-Toluensulfocloramida) - (PM: 281,7) - $C_7H_7ClNNaO_2S \cdot 3H_2O$ - Cristales o polvo cristalino blanco o débilmente amarillo, con un leve olor a cloro. Fácilmente soluble en agua y agua hirviendo; soluble en alcohol, con descomposición; insoluble en cloroformo y éter. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto, en un sitio frío.

Valoración - Pesar exactamente 400 mg y disolver en 50 ml de agua. Agregar, en el siguiente orden, 10 ml de ioduro de potasio (SR) y 5 ml de ácido sulfúrico diluido. Dejar reposar durante 10 minutos y titular el yodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV). Cada mililitro de solución de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 14,1 mg de $C_7H_7ClNNaO_2S \cdot 3H_2O$. Contiene entre 98,0 y 103,0 % de $C_7H_7ClNNaO_2S \cdot 3H_2O$.

Compuesto orto - Calentar a ebullición 2,0 g con una mezcla de 10 ml de agua y 1,0 g de metabisulfito de sodio, enfriar en hielo y filtrar rápidamente: el residuo, luego de lavarse con tres porciones de 5 ml de hielo-agua fría y secado al vacío sobre pentóxido de fósforo, funde a una temperatura mayor o igual a 134 °C.

Cloruro de sodio - Pesar exactamente 1 g, agitar con 15 ml de alcohol absoluto, filtrar, lavar el residuo con dos porciones de 5 ml de alcohol absoluto y secar a 105 °C hasta peso constante: el residuo representa no más de 1,5 % del peso tomado.

Clorato de potasio - $KClO_3$ - (PM: 122,6) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Clorhidrato de alprenolol - $C_{15}H_{23}NO_2 \cdot HCl$ - (PM: 285,8) - Emplear uno de grado apropiado.

Clorhidrato de clortetraciclina - Emplear *Clorhidrato de clortetraciclina*.

Clorhidrato de 3,3'-diaminobencidina - (PM: 360,1) - $(NH_2)_2C_6H_3C_6H_3(NH_2)_2 \cdot 4HCl$ - Cristales en forma de aguja, de color blanco a canela amarillento (ocasionalmente púrpura). Soluble en agua. Estable en solventes orgánicos pero inestable en solución acuosa a temperatura ambiente. Almacenar las soluciones acuosas en un refrigerador.

Materia insoluble - Disolver 2 g en 100 ml de agua sin calentar y filtrar de inmediato: el residuo insoluble no es mayor de 1 mg (0,05 %).

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 2 g (0,05 %).

Ensayo de aptitud para la detección de selenio - Disolver 1,633 g de ácido selenioso (H_2SeO_3) en agua y diluir con agua a 1 litro. Diluir 10 ml de esta solución con agua a 1 litro, hasta obtener una solución que contenga 0,010 mg de Se por ml (*Solución de selenio estándar*). Transferir 1 ml de la solución resultante a un vaso de precipitados de 100 ml, agregar 2 ml de solución de ácido fórmico (1 en 7) y diluir con agua a 50 ml. Agregar 2 ml de solución de clorhidrato de 3,3'-diaminobencidina (1 en 200) y dejar reposar durante 30 a 50 minutos. Ajustar con hidróxido de amonio 6 N a pH entre 6 y 7. Transferir a una ampolla de decantación de 125 ml, agregar 10,0 ml de tolueno y agitar vigorosamente durante 30 segundos: se produce un color amarillo característico en la fase de tolueno. Un blanco conteniendo clorhidrato de diaminobencidina pero no *Solución de selenio estándar*, tratado de la misma manera, no presenta color en la fase de tolueno.

Clorhidrato de 2-etilaminopropiofenona - (PM: 213,7) - $C_6H_5COCH(CH_3)NHC_2H_5 \cdot HCl$ - Emplear uno de grado apropiado.

Clorhidrato p-fenilendiamina - (*Diclorhidrato de 1,4-diaminobenceno*) - $C_6H_8N_2 \cdot 2HCl$ - (PM: 181,1) - Cristales de color entre blanco y canela pálido o polvo cristalino, que se torna de color rojo por exposición al aire. Fácilmente soluble en agua; algo soluble en alcohol y éter. Conservar en envases inactivos de cierre perfecto.

Materia insoluble - Disolver 1 g en 10 ml de agua: la solución es clara y completa.

Absortividad molar (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) - Disolver 60 mg en 100,0 ml de agua y mezclar. Transferir 2 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con solución reguladora pH 7 y mezclar. La absortividad molar de esta solución, a 239 nm, no es menor de 9000.

Clorhidrato de fenilhidracina - (PM: 144,6) - $C_6H_5NHNH_2 \cdot HCl$ - Cristales o polvo blanco o amarillento. Soluble en agua y alcohol. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto.

Intervalo de fusión <260> - Entre 242 y 246 °C, con un leve oscurecimiento.

Solubilidad - Disolver porciones separadas de 500 mg en 10 ml de agua y en 10 ml de alcohol, respectivamente, para obtener soluciones completas y transparentes o prácticamente transparentes.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,1 %).

Clorhidrato de fenoxibenzamina - [N-(2-Cloroetil)-N-(1-metil-2-fenoxietil)bencilamina clorhidrato] - $C_{18}H_{22}ClNO$. HCl - (PM: 340,3) - Polvo blanco, cristalino.

Intervalo de fusión <260> - Entre 137 y 140 °C.

Absortividad - Su absortividad (1 %, 1 cm) en el intervalo de 272 a 290 nm, en solución de cloroformo es aproximadamente 178.

Clorhidrato de guanidina - CH_5N_3 . HCl - (PM: 95,5) - Polvo cristalino blanco. Fácilmente soluble en agua y alcohol.

Intervalo de fusión <260> - Entre 178 y 189 °C.

Contenido de cloruro - Disolver aproximadamente 400 mg, exactamente pesados, en 5 ml de agua. Agregar 5 ml de ácido acético glacial, 50 ml de metanol y 1 gota de eosina (SR). Titular con nitrato de plata 0,1N (SV). Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 3,545 mg de Cl. Contiene no menos de 36,1 % y no más de 37,1 %, calculado sobre la sustancia anhidra.

Clorhidrato de guanina - $C_5H_5N_5O$. HCl . H_2O - (PM: 205,6) - Polvo blanco, cristalino. Funde por encima de 250 °C, con descomposición. Poco soluble en agua y alcohol; soluble en agua acidulada e hidróxido de sodio (SR). Sus soluciones no son precipitadas por yodo (SR) o por yoduro de potasio (SR) pero forman un precipitado con trinitrofenol (SR).

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 100 mg.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 10,0 % de su peso.

Clorhidrato de hidroxilamina - NH_2OH . HCl - (PM: 69,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Clorhidrato de metafenilendiamina - (Diclorhidrato de metafenilendiamina) - $C_6H_4(NH_2)_2$. $2HCl$ - (PM: 181,1) - Polvo cristalino blanco o algo rojizo. Fácilmente soluble en agua. Expuesto a la luz adquiere un color rojizo. Almacenar en envases inactivos.

Solubilidad - Una solución de 1 g en 200 ml de agua es incolora.

[NOTA: la solución de clorhidrato de metafenilendiamina puede ser decolorada mediante tratamiento con una pequeña cantidad de carbón activado.]

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,1 %).

Clorhidrato de metilbenzotiazolona-hidrazona - Ver Metilbenzotiazolona-hidrazona, clorhidrato de.

Clorhidrato de 1-naftilamina - $C_{10}H_7NH_2$. HCl (PM: 179,7) - Polvo blanco, cristalino que se torna azulado por exposición a la luz y al aire. Soluble en agua, alcohol y éter.

Una solución (1 en 100) acidificada con ácido acético, da un color violeta con 5 gotas de cloruro férrico (SR). Una solución (1 en 40) en ácido acético diluido es incolora y sólo algo opalescente.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 200 mg con unas pocas gotas de ácido sulfúrico: el peso del residuo es mínimo.

Clorhidrato de N-(1-naftil)etilendiamina - $C_{12}H_{14}N_2$. HCl - (PM: 259,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Clorhidrato del éster metílico de p-toluensulfonil-L-arginina - $C_{14}H_{22}N_4O_4S$. HCl - (PM: 378,9) - Determinar su aptitud según se especifica en el ensayo *Límite de tripsina en Quimotripsina*.

Clorhidrato del éster etílico de N-benzoil-L-arginina - $C_{15}H_{22}N_4O_3$. HCl - (PM: 342,8) - Determinar si es apropiado para emplear como sustrato según se especifica en *Tripsina cristalizada*.

Clorhidrato de piridoxal - $C_8H_9NO_3$. HCl - (PM: 203,6) - Cristales o polvo cristalino de un color entre blanco a ligeramente amarillo. Se oscurece gradualmente por exposición al aire o a la luz solar. Fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol; insoluble en acetona, cloroformo y éter. Sus soluciones son ácidas (aproximadamente pH 3).

Intervalo de fusión <260> - Entre 171 y 175 °C, con descomposición.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,1 %.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 2 horas: no pierde más de 0,5 % de su peso.

Contenido de nitrógeno (Ensayo para reactivos) - Determinar por el método de Kjeldahl, empleando una muestra secada previamente a 105 °C durante 2 horas: contiene entre 6,7 y 7,1 % de N.

Contenido de cloruro - Pesar exactamente 500 mg, previamente secados a 105 °C durante 2 horas, y disolver en 50 ml de agua. Agregar 3 ml de ácido nítrico y 50,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV) luego agregar 5 ml de nitrobenzoceno, agitar durante aproximadamente 2 minutos, agregar sulfato férrico amónico (SR) y titular el nitrato de plata en exceso con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N

equivale a 3,545 mg de Cl. Contiene entre 17,2 y 17,7 %.

Cloro - Cl₂ - (PM: 70,9) - Gas amarillo verdoso. Grado de alta pureza comercialmente disponible por la mayoría de los proveedores de gases de la especialidad.

m-Cloroacetanilida - C₈H₈ClNO - (PM: 169,6) - Gránulos de color beige a casi blanco.

Valoración -

Fase móvil - Acetonitrilo y agua (22:3).

Procedimiento - Inyectar aproximadamente 20 µl en un cromatógrafo de líquidos (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector a 254 nm y una columna de 15 cm x 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice porosa de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal es de aproximadamente 1,5 ml por minuto. El área del pico de C₈H₈ClNO no es menor de 99,9 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 79 y 80 °C.

p-Cloroacetanilida - C₈H₈ClNO - (PM: 169,6) - Cristales o polvo cristalino en forma de agujas, blanco o amarillo pálido. Insoluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Solubilidad - 1 g se disuelve en 30 ml de alcohol para formar una solución transparente.

Intervalo de fusión <260> - Entre 178 y 181 °C.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,1 %.

1-Cloroadamantano - C₁₀H₁₅Cl - (PM: 170,7) - Sólido cristalino de color blanco.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m x 0,25 mm recubierta con una capa de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano de 1 µm. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de C₁₀H₁₅Cl no es menor de 97,5 % del área total.

3-Cloroanilina - C₆H₆ClN - (PM: 127,6) - Líquido incoloro a pardo claro. Soluble en ácido y en la mayoría de los solventes orgánicos; prácticamente insoluble en agua.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m x 0,25 mm recubierta con una capa de 1 µm de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano.

Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de C₆H₆ClN no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,592 y 1,596, a 20 °C.

Clorobenceno - C₆H₅Cl - (PM: 112,6) - Líquido transparente, incoloro de olor característico. Insoluble en agua; soluble en alcohol, cloroformo y éter.

Densidad relativa <160> - Entre 1,100 y 1,111.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 129 y 131 °C.

Acidez - A 200 ml de metanol agregar rojo de metilo (SR) y neutralizar con hidróxido de sodio 0,1 N, sin tener en cuenta la cantidad de álcali consumido. Disolver 23 ml de muestra en el metanol neutralizado y titular con hidróxido de sodio 0,10 N: no se requiere más de 1,0 ml para neutralizar la muestra (aproximadamente 0,015 % como HCl).

Residuo de evaporación - Evaporar 91 ml en una placa calefactora y secar a 105 °C durante 30 minutos: el residuo no pesa más de 10 mg (aproximadamente 0,010 %).

4-Clorobenzofenona - C₁₃H₉ClO - (PM: 216,7) - Emplear uno de grado apropiado.

1-Clorobutano - Ver Cloruro de n-butilo.

Clorobutanol - (1,1,1-tricloro-2-metil-2-propanol) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

2-Cloroetilamina monoclóhidrato - (PM: 116,0) - C₂H₆ClN . HCl - Polvo casi blanco.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m x 0,25 mm recubierta con una capa de 1 µm de fase estacionaria que consiste en 14 % de cianopropilfenil y 86 % de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 150 °C y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a aproximadamente 50 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 200 °C. Se empleando helio como gas transportador. El área del pico de C₂H₆ClN . HCl no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 150 y 246 °C.

p-Clorofenol - C₆H₅ClO - (PM: 128,6) - Sólido cristalino blanco a amarillo pálido, de olor

característico. Moderadamente soluble en agua; muy soluble en acetona, éter y metanol.

Valoración - Transferir aproximadamente 200 mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados de 100 ml, agregar 25 ml de agua, agitar por rotación hasta disolver y agregar gota a gota, suficiente solución de hidróxido de sodio para asegurar la completa disolución de la muestra. Transferir la solución a un erlenmeyer con tapón de vidrio de 500 ml, emplear agua para lavar el vaso de precipitados y diluir con agua a aproximadamente 100 ml. Agregar 25,0 ml de bromurobromato de potasio 0,1 N (SV) y 10 ml de ácido clorhídrico, inmediatamente insertar el tapón en el erlenmeyer y agitar por rotación vigorosamente durante 2 a 3 minutos. Remover el tapón, agregar rápidamente 5 ml de solución de yoduro de potasio (1 en 5), teniendo cuidado de evitar pérdida de bromo, insertar de inmediato el tapón y agitar vigorosamente durante aproximadamente 1 minuto. Lavar el tapón y el cuello del erlenmeyer con agua. Titular con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Cada mililitro de bromuro-bromato de potasio 0,1 N equivale a 6,43 mg de C_6H_5OCl . Contiene no menos de 99 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 42 y 44 °C.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 90 % destila entre 218,5 y 221,5 °C.

Cloroformo - $CHCl_3$ - (PM: 119,4) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloroformo libre de alcohol - Emplear uno de grado apropiado.

Cloroformo, metil - Ver Metilcloroformo.

1-Cloronaftaleno - (*Alfacloronaftaleno*) - (PM: 162,6) - $C_{10}H_7Cl$ - Líquido incoloro a amarillo claro.

Valoración - Emplear un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,83 m × 3,2 mm con una fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano al 7 % sobre soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad, pero no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y 310 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se programa para que aumente 10 °C por minuto de 50

a 250 °C. Contiene no menos de 98 % de $C_{10}H_7Cl$, siendo 2-cloronaftaleno no más de 2 %.

Índice de refracción - Entre 1,6320 y 1,6340, a 20 °C.

2-Cloro-4-nitroanilina - $C_6H_5ClN_2O_2$ - (PM: 172,6) - Polvo cristalino amarillo. Fácilmente soluble en metanol. Funde aproximadamente a 107 °C. Conservar en envases inactivos.

Cloroplatinato de potasio - K_2PtCl_6 - (PM: 486,0) - Polvo pesado, amarillo. Soluble en ácido clorhídrico y ácido nítrico.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 300 mg, transferirlos a un vaso de precipitados de 600 ml, agregar 20 ml de ácido clorhídrico y calentar suavemente, si fuera necesario, para lograr la disolución completa. Agregar granallas de cinc, lentamente, hasta que no se disuelvan más. Agregar 2 ml de ácido clorhídrico y digerir durante 1 hora en un baño de vapor para coagular el platino reducido. Agregar más ácido, si fuera necesario, para asegurar que se haya disuelto todo el cinc. Filtrar a través de papel, lavando el vaso de precipitados con ácido clorhídrico diluido hasta que todo el precipitado sea transferido al filtro luego lavar con varias porciones de agua. Incinerar el filtro en un crisol previamente pesado a 800 ± 25 °C hasta peso constante. Cada miligramo de residuo equivale a 1,0 mg de platino. Contiene no menos de 40 %.

5-Cloro salicílico, ácido - Ver ácido 5-cloro salicílico.

Clorotrimetilsilano - C_3H_9ClSi - (PM: 108,6) - Líquido transparente, incoloro a amarillo claro. Emite gases cuando se expone al aire húmedo.

Precaución - *Reacciona violentamente con agua, alcoholes y otros dadores de hidrógeno. Almacenar en envases de vidrio de cierre perfecto.*

Índice de refracción - Entre 1,3850 y 1,3890, a 20 °C.

Cloruro cobaltoso - (*Cloruro de cobalto*) - (PM: 237,9) - $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro cúprico - $CuCl_2 \cdot H_2O$ - (PM: 170,5) - Cristales deliquescentes verde azulados. Fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol; poco soluble en éter.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1,0 mg, determinado sobre 10 g (0,010 %). Retener el filtrado y los lavados combinados para el ensayo de *Sulfato*.

Nitrato - Disolver 500 mg en 30 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 30). Lentamente agregar la solución, con agitación constante, a 20 ml de

solución de hidróxido de sodio (1 en 10) y digerir en un baño de vapor durante 15 minutos. Enfriar, diluir con agua a 50 ml y filtrar. A 10 ml del filtrado transparente, agregar 0,05 ml de índigo carmín (SR) seguido de 10ml de ácido sulfúrico: el color azul no desaparece completamente dentro de 5 minutos (aproximadamente 0,15 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método II*. El filtrado y los lavados combinados retenidos del ensayo para *Materia insoluble* no producen más de 1,2 mg de residuo (0,005 %).

Sustancias no precipitadas por sulfuro de hidrógeno - Disolver 2 g en 100 ml de agua, agregar 1 ml de ácido sulfúrico, calentar la solución a 70 °C y pasar sulfuro de hidrógeno a través de la solución hasta que el cobre precipite completamente. Dejar que el precipitado sedimente y filtrar sin lavar. Transferir 50,0 ml del filtrado a un cristizador previamente pesado y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Suavemente calcinar el cristizador sobre una llama y luego a 800 ± 25 °C hasta peso constante. Enfriar y pesar: el residuo no pesa más de 1,0 mg (0,1%). Retener el residuo para el ensayo de *Hierro*.

Hierro <580> - Al residuo retenido del ensayo anterior, agregar 2 ml de ácido clorhídrico, 2 ml de agua y 0,05 ml de ácido nítrico. Evaporar lentamente en un baño de vapor hasta sequedad luego tomar el residuo en 1 ml de ácido clorhídrico y 10 ml de agua. Diluir con agua a 100 ml y mezclar. A 20 ml de la dilución agregar 10 ml de agua y mezclar: 10 ml de esta solución no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,015 %). Retener la dilución del residuo para el ensayo de *Otros metales*.

Otros metales - A 20 ml de la solución del residuo retenida del ensayo para *Hierro* agregar un leve exceso de hidróxido de amonio, calentar a ebullición la solución durante 1 minuto, filtrar y lavar el residuo con agua hasta que el filtrado y los lavados combinados midan 20 ml. Neutralizar el filtrado con ácido clorhídrico diluido, diluir con agua a 25 ml y agregar 0,15 ml de hidróxido de amonio y 1 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): cualquier color producido no es más oscuro que el de un control que contiene, en el mismo volumen, 0,15 ml de hidróxido de amonio, 1 ml de sulfuro de hidrógeno (SR) y 0,02 mg de Ni (0,01 % como Ni).

Cloruro de acetilcolina - (PM: 181,7) - $[\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)]\text{Cl}$ - Polvo blanco cristalino, inodoro o casi inodoro. Muy deliquescente. Muy soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol.

Intervalo de fusión <260> - Cuando se seca previamente a 110 °C en un tubo capilar durante 1 hora, funde entre 149 y 152 °C.

Reacción - Una solución 1 en 10 es neutra frente al tornasol.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 200 mg.

Solubilidad en alcohol - Una solución de 500 mg en 5 ml de alcohol es completa e incolora.

Porcentaje de acetilo (CH_3CO) - Pesar exactamente 400 mg, previamente secados a 105 °C durante 3 horas, y disolver en 15 ml de agua en un erlenmeyer con tapón de vidrio. Agregar 40,0 ml de hidróxido de sodio 0,1 N (SV), calentar en un baño de vapor durante 30 minutos. Insertar el tapón, dejar enfriar, agregar fenoltaleína (SR) y titular el exceso de álcali con ácido sulfúrico 0,1 N (SV). Determinar la normalidad exacta del hidróxido de sodio 0,1 N titulando 40,0 ml, una vez tratados de la misma manera que en el ensayo. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 4,305 mg de CH_3CO . Contiene entre 23,2 y 24,2 %.

Porcentaje de cloro (Cl) - Pesar exactamente 400 mg, previamente secados a 105 °C durante 3 horas, y disolver en 50 ml de agua en un erlenmeyer de 125 ml con tapón de vidrio. Agregar mediante agitación 30,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV), a continuación agregar 5 ml de ácido nítrico y 5 ml de nitrobenzono, agitar, agregar 2 ml de sulfato férrico amónico (SR) y titular el nitrato de plata en exceso con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N (SV) equivale a 3,545 mg de Cl. Contiene entre 19,3 y 19,8 % de Cl.

Cloruro de acetilo - CH_3COCl - (PM: 78,5) - Líquido transparente, incoloro, de fuerte olor acre. Se descompone en presencia de agua y alcohol. Miscible con cloroformo. Densidad relativa: aprox. 1,1.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 94 % destila entre 49 y 53 °C.

Residuo de evaporación - Evaporar 10 ml en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 2,5 mg (aproximadamente 0,02 %).

Miscibilidad con cloroformo - Porciones separadas de 5 ml proporcionan soluciones claras con 20 ml de cloroformo.

Solubilidad - Colocar 5 ml en una probeta de 50 ml y agregar con cuidado, gota a gota, aproximadamente 3 ml de agua, agitando luego de cada agregado hasta que la reacción se complete, luego diluir con agua a 50 ml: la solución es transparente.

Compuestos fosforados (Ensayo para reactivos)
- Agregar 3 ml de ácido nítrico a 5 ml de la solución obtenida en el ensayo para *Solubilidad* y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. El residuo, disuelto en 20 ml de agua, no presenta más de 0,03 mg de PO_4 (0,02 % como P).

Metales pesados - Diluir 10 ml de la solución obtenida en el ensayo para *Solubilidad* con 30 ml de agua, agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR) y alcalinizar con amoníaco (SR): no se produce ningún cambio notorio en el color.

Cloruro de amonio - NH_4Cl - (PM: 53,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de bario - $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 244,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de bario anhidro - BaCl_2 - (PM: 208,2) - Puede obtenerse secando cloruro de bario en capas delgadas a 125 °C hasta que la pérdida de peso entre dos periodos de secado de 3 horas sucesivos no sea mayor de 1 %.

Cloruro de bario dihidrato - Emplear cloruro de bario.

Cloruro de bencenosulfonilo - $\text{C}_6\text{H}_5\text{SO}_2\text{Cl}$ - (PM: 176,6) - Líquido incoloro, aceitoso. Insoluble en agua fría; soluble en alcohol y éter. Solidifica a 0 °C.

Intervalo de fusión <260> - Entre 14 y 17 °C.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 251 y 252 °C.

Cloruro de benciltrimetilamonio - (PM: 185,7) $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{Cl}$ - Disponible como una solución acuosa al 60 %. Esta solución es transparente e incolora o algo amarillenta y tiene un leve olor a amina.

Valoración - Transferir 2 ml a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con agua. Transferir 20 ml de la solución en un erlenmeyer de 125 ml, agregar aproximadamente 30 ml de agua, luego agregar 0,25 ml de diclorofluoresceína (SR) y titular con nitrato de plata 0,1 N (SV).

Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 18,57 mg de $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{Cl}$. Contiene entre 59,5 y 60,5 %.

Cloruro de benzalconio - Emplear *Cloruro de benzalconio*.

Cloruro de benzoilo - $\text{C}_6\text{H}_5\text{COCl}$ - (PM: 140,6) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de cobalto - $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 237,9) - Polvo cristalino rojo o cristales rojo oscuro. Muy soluble en agua; soluble en alcohol.

Cloruro de *n*-butilo - (*1-Clorobutano*) - $\text{C}_4\text{H}_9\text{Cl}$ - (PM: 92,6) - Líquido transparente, incoloro, volátil, de olor leve, característico. Altamente inflamable. Prácticamente insoluble en agua. Miscible con alcohol y éter.

Valoración - Analizar por cromatografía gas-líquido empleando un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,8 m × 3 mm con una fase estacionaria de polietilenglicol (p.m.p aproximadamente 15.000 [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido]) sobre soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad, pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el detector y el inyector a aproximadamente 310 y 230 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se programa para aumentar 10 °C por minuto de 35 a 150 °C. Se emplea helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 40 ml por minuto. Presenta una pureza de no menos de 98 %.

Intervalo de ebullición <240> - Entre 76 y 80 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 2 °C.

Índice de refracción - Entre 1,4015 y 1,4035, a 20 °C.

Acidez - Agregar fenolftaleína (SR) a 75 ml y titular con hidróxido de potasio 0,1 N en metanol hasta color rosado débil persistente, con agitación, durante 1,5 segundos: no se requieren más de 0,91 ml (aproximadamente 0,005 % como HCl).

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 0,02 %.

Residuo después de la evaporación - Evaporar aproximadamente 60 ml (50 g), exactamente pesados, en una cápsula de platino, previamente pesada, en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: no contiene más de 0,005 %.

Cloruro de calcio - $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 147,0) - Emplear cloruro de calcio dihidrato de grado apropiado.

Cloruro de calcio anhidro (para secado) - CaCl_2 - (PM: 111,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de cesio - CsCl - (PM: 168,4) - Polvo blanco. Muy soluble en agua; fácilmente soluble en metanol; prácticamente insoluble en acetona.

Cloruro de cetiltrimetilamonio al 25 % en agua - $C_{19}H_{42}ClN$ - (PM: 320,0) - Emplear uno de grado apropiado.

Cloruro de cinc anhidro pulverizado - Emplear *Cloruro de cinc* secado y pulverizado.

Cloruro de colina - $HOCH_2CH_2N(CH_3)_3Cl$ - (PM: 139,6) - Cristales blancos o polvo cristalino. Muy soluble en agua. Es higroscópico. Almacenar en envases de cierre perfecto.

Valoración - Transferir aproximadamente 100 mg, previamente secados a 105 °C durante 2 horas y exactamente pesados, a un vaso de precipitados, agregar 20 ml de agua y 1 gota de solución de cloruro de aluminio (1 en 10) y mezclar. Agregar lentamente 20 ml de una solución de tetrafenilborato de sodio recientemente preparada y filtrada (1 en 50) y dejar la mezcla en reposo durante 30 minutos agitando ocasionalmente por rotación. Filtrar a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media y lavar el vaso de precipitados y el precipitado con cuatro porciones de 10 ml de agua. El peso del precipitado, determinado luego de secar a 105 °C durante 2 horas y multiplicado por 0,3298, da el peso equivalente de $C_5H_{14}ClNO$. Contiene no menos de 99,5 %.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,1 %.

Cloruro de dimetiletil(3-hidroxifenil)amonio - Emplear *Cloruro de edrofonio*.

Cloruro de 3,5-dinitrobenzoilo - (PM: 230,6) - $(NO_2)_2C_6H_3COCl$ - Polvo cristalino amarillo pálido. Fácilmente soluble en soluciones de hidróxido de sodio diluidas; soluble en alcohol.

Intervalo de fusión <260> - Entre 67 y 69 °C.

Solubilidad en hidróxido de sodio - Una solución de 500 mg en 25 ml de hidróxido de sodio 1 N es transparente o no más que débilmente turbia.

Residuo de ignición - Someter a ignición 1 g con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,1 %).

Cloruro de etileno - (*1,2-Dicloroetano*) - $C_2H_4Cl_2$ - (PM: 99,0) - Líquido transparente e incoloro: Miscible con éter. Soluble en 120 partes de agua aproximadamente; soluble en 2 partes de alcohol.

Densidad relativa <160> - Aprox. 1,250.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 82 y 84 °C.

Cloruro de 3-hidroxifenildimetiletil amonio - [*Cloruro de dimetiletil(3-hidroxifenil)amonio*] - Emplear *Cloruro de edrofonio*.

Cloruro de lantano - $LaCl_3$ - (PM: 245,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de litio - $LiCl$ - (PM: 42,4) - Cristales o gránulos blancos, delicuescentes. Fácilmente soluble en agua; soluble en acetona, alcohol, alcohol amílico y éter. Conservar en envases de cierre perfecto.

Valoración - Disolver aproximadamente 1,3 g, previamente secados a 120 °C durante 1 hora y exactamente pesados, en agua para obtener 50,0 ml. Transferir 5 ml de la solución a un erlenmeyer de 250 ml y agregar 5 ml de ácido acético glacial, 50 ml de metanol y 2 gotas de eosina (SR). Titular lentamente con nitrato de plata 0,1 N (SV), agregándolo gota a gota hacia el final, hasta que se torne de un color rojo intenso algo fluorescente. Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 4,239 mg de $LiCl$. Contiene no menos de 98 %.

Neutralidad - Disolver 2 g en 20 ml de agua y agregar 1 gota de rojo de metilo (SR): cualquier color rojo producido vira al amarillo con el agregado de no más de 0,30 ml de hidróxido de sodio 0,020 N. Cualquier color amarillo producido vira a rosado con el agregado de no más de 0,30 ml de ácido clorhídrico 0,020 N.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1,0 mg, determinado sobre 10 g (0,010 %).

Nitrato (Ensayo para reactivos) - 1 g disuelto en 2 ml de agua no presenta más color que el que se observa en 1,0 ml de *Solución de nitrato estándar* (0,001 %).

Fosfato (Ensayo para reactivos) - 2 g no presentan más de 0,02 mg de PO_4 (0,001 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. 1 g presenta no más de 0,2 mg de SO_4 (0,02 %).

Amonio -

Solución de amonio estándar - Disolver 296 mg de cloruro de amonio en agua para obtener 1 litro. Esta solución contiene el equivalente de 0,1 mg de amonio (NH_4) por ml.

Procedimiento - A una solución de 900 mg en 50 ml de agua, agregar 1 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 10) y 2 ml de iodomercuriato de potasio alcalino (SR): no se produce más color que el producido por 0,3 ml de *Solución de amonio estándar*, diluido con agua a 50 ml y tratado en forma similar (0,003 %).

Bario - Disolver 2 g en 20 ml de agua, filtrar y fraccionar el filtrado en dos porciones iguales. A una porción agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido y al otro agregar 1 ml de agua: luego de 2 horas, las dos porciones están igualmente claras.

Calcio (Ensayo para reactivos) - Disolver 2,50 g en agua para obtener 100 ml (*Solución muestra*). Disolver otros 2,50 g en una mezcla de 5,00 ml de *Solución de calcio estándar* y agua para obtener 100ml (*Solución control*). Determinar el calcio según se indica en *Espectrofotometría de absorción*

y emisión atómica para reactivos (Ensayo para reactivos) (0,02%).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 0,001 %.

Hierro <580> - Una solución de 500 mg en 47 ml de agua que contiene 2 ml de ácido clorhídrico no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,002 %).

Magnesio -

Solución de magnesio estándar - Disolver 1,014 g de cristales transparentes no eflorecidos de sulfato de magnesio en agua para obtener 1 litro. Esta solución contiene el equivalente de 0,1 mg de magnesio (Mg) por ml.

Procedimiento - A una solución de 1 g en 45 ml de agua, agregar 0,5 ml de solución de amarillo de tiazol (1 en 10.000) y 5 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 10): el color rosado que se produce no es más intenso que el producido por 1 ml de *Solución de magnesio estándar*, diluida con agua a 45 ml y tratada en forma similar (0,1 %).

Potasio (Ensayo para reactivos) - Disolver 5,0 g en agua para obtener 100 ml (*Solución muestra*). Disolver otros 5,0 g en una mezcla de 1,00 ml de *Solución de potasio estándar* y agua para obtener 100 ml (*Solución control*). Determinar el potasio según se indica en *Fotometría de llama para reactivos* (Ensayo para reactivos) (0,01 %).

Sodio (Ensayo para reactivos) - Disolver 200 mg en agua para obtener 100 ml (*Solución muestra*). Disolver otros 200 mg en una mezcla de 20 ml de *Solución de sodio estándar* y agua para obtener 100 ml (*Solución control*). Determinar el sodio según se indica en *Fotometría de llama para reactivos* (Ensayo para reactivos) (0,1 %).

Cloruro de magnesio - $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ - (PM: 203,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de metileno - (*Diclorometano*) - CH_2Cl_2 - (PM: 84,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de nitrobenzoilo - $C_7H_4ClNO_3$ - (PM: 185,6) - Masa cristalizada o cristales amarillos que se descomponen en el aire húmedo. Muy soluble en soluciones de hidróxido de sodio dando una solución amarilla-anaranjada.

Punto de fusión - Aprox. 72 °C.

Cloruro de oro - (*Ácido cloráurico*) - $HAuCl_4 \cdot 3H_2O$ - (PM: 393,8) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de paladio - $PdCl_2$ - (PM: 177,3) - Polvo cristalino marrón. Soluble en agua, alcohol, acetona y ácido clorhídrico diluido.

Valoración - Disolver 80 mg, exactamente pesados, en 10 ml de ácido clorhídrico diluido, diluir con agua a 50 ml y agregar 25 ml de una solución 1 en 100 de dimetilglioxima en alcohol. Dejar reposar durante 1 hora y filtrar. Controlar la completa precipitación con la solución de dimetilglioxima. Incinerar el precipitado en un crisol de platino, previamente pesado, a 850 °C durante 2 horas, enfriar y pesar el paladio. El peso del residuo no es menor de 59,0 % del peso de la muestra.

Cloruro de potasio - KCl - (PM: 74,6) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de sodio - NaCl - (PM: 58,4) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de tetrametilamonio - $(CH_3)_4NCl$ - (PM: 109,6) - Cristales incoloros. Soluble en agua y alcohol; insoluble en cloroformo.

Valoración - Transferir aproximadamente 200 mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados, agregar 50 ml de agua y 10 ml de ácido nítrico diluido, agitar por rotación hasta disolver la muestra, agregar 50,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV) y mezclar. Agregar 2 ml de sulfato férrico amónico (SR) y 5 ml de nitrobenzono, agitar y titular el exceso de nitrato de plata con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 10,96 mg de $(CH_3)_4NCl$. Contiene no menos de 98 %.

Cloruro de trifeniltetrazolio - $C_{19}H_{15}ClN_4$ - (PM: 334,8) - Polvo cristalino blanco a amarillento. Fácilmente soluble en agua y alcohol; poco soluble en acetona; insoluble en éter. Contiene generalmente solvente de cristalización y cuando se seca a 105 °C funde aproximadamente a 240 °C, con descomposición.

Solubilidad - Porciones separadas de 100 mg se disuelven completamente en 10 ml de agua y en 10 ml de alcohol, respectivamente, dando soluciones transparentes o prácticamente transparentes.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 5,0 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 100 mg.

Sensibilidad - Disolver 10 mg en 10 ml de alcohol absoluto (A). Luego disolver 10 mg de dextrosa en 20 ml de alcohol absoluto (B). A 0,2 ml de B agregar 1 ml de alcohol absoluto y 0,5 ml de hidróxido de tetrametilamonio (SR) diluido (1 volumen se diluye con 9 volúmenes de alcohol absoluto) luego agregar 0,2 ml de A: un color rojo intenso se desarrolla dentro de los 10 minutos.

Cloruro de trifluorvinilo (polímero) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de vinilo - C_2H_3Cl - (PM: 62,5) - Gas incoloro. Poco soluble en solventes orgánicos.

Cloruro de trimetilacetohidrazida amonio - (*Cloruro de betaín hidracida; Reactivo de Girard T*) $[(CH_3)_3N^+CH_2CONHNH_2]Cl^-$ - (PM: 167,6) - Cristales incoloros o blancos. Fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol; insoluble en cloroformo y éter. Higroscópico.

Intervalo de fusión <260> - Entre 185 y 192 °C, determinado luego de recristalización de alcohol caliente, si fuera necesario.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 10 mg (1 %).

Cloruro estañoso - $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ - (PM: 225,7) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro férrico - $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ - (PM: 270,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro mercuríco - $HgCl_2$ - (PM: 271,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro platínico - (*Ácido cloroplatínico*) - $H_2PtCl_6 \cdot 6H_2O$ - (PM: 517,9) - Emplear Ácido cloroplatínico de grado apropiado.

Cloruro talioso - $TiCl_4$ - (PM: 239,8) - Polvo fino, blanco, cristalino. Poco soluble en agua fría; moderadamente soluble en agua en ebullición; insoluble en alcohol. *Precaución - Venenoso; emplear con ventilación apropiada.*

Valoración - Disolver aproximadamente 500 mg, exactamente pesados, en una mezcla de 80 ml de agua y 0,5 ml de ácido sulfúrico. Cuando la disolución es completa, agregar 20 ml de ácido clorhídrico. Calentar a 60 °C y mantener esta temperatura mientras se titula con sulfato cérico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente, empleando electrodos de plata-cloruro de plata y platino. Cada mililitro de sulfato cérico 0,1 N equivale a 11,99 mg de $TiCl_4$. Contiene no menos de 99 %.

Cobaltinitrito de sodio - $Na_3Co(NO_2)_6$ - (PM: 403,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cobalto, cloruro de - Ver Cloruro de cobalto.

Cobre - Cu - (PA: 63,55) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Colectano - $C_{27}H_{48}$ - (PM: 372,7) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Colesterilo, n-heptilato - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cortisona - $C_{21}H_{28}O_5$ - (PM: 360,4) - Polvo blanco, cristalino. Prácticamente insoluble en agua; moderadamente soluble en alcohol y acetona. Funde aproximadamente a 220 °C, con descomposición.

Máximo de absorción - El espectro de absorción ultravioleta de una solución 1 en 100.000 en alcohol presenta un máximo aproximadamente a 238 nm.

Rotación específica <170> - Aproximadamente + 209°, determinada en una solución 1 en 100 en alcohol.

Cromato de potasio - K_2CrO_4 - (PM: 194,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cromatografía, celulosa con indicador de fluorescencia para - Ver Celulosa con indicador de fluorescencia para cromatografía.

Cromatografía, éter de petróleo para - Ver Éter de petróleo para cromatografía.

Cromatografía, gel de sílice para - Ver Gel de sílice para cromatografía.

Cromatografía, gel de sílice con indicador de fluorescencia para - Ver Gel de sílice con indicador de fluorescencia para cromatografía.

Cromatografía, n-heptano para - Ver n-Heptano para cromatografía.

Cromatografía, óxido de magnesio para - Ver Óxido de magnesio para cromatografía.

Cromatografía, tierra de Fuller para - Ver Tierra de Fuller para cromatografía.

Cromatografía, tierra silícea para - Ver Tierra silícea para cromatografía.

Cromatografía, tierra silícea silanizada para - Ver Tierra silícea silanizada para cromatografía.

Cromazurol - $(5-[(3-Carboxilato-5-metil-4-oxociclohexa-2,5-dien-1-ilideno)(2,6-dicloro-3-sulfonatofenil)metil]-2-hidroxil-3-metilbenzoato de trisodio)$ - $C_{23}H_{13}Cl_2Na_3O_9S$ - (PM: 605,0) - Polvo negro pardusco, soluble en agua, poco soluble en alcohol.

Cromotropato de sodio - Ver Ácido cromotrópico.

Cromotropato disódico - (*Sal disódica del ácido 4,5-dihidroxi-2,7-naftalenodisulfónico*) - $C_{10}H_6O_8S_2Na_2 \cdot 2H_2O$ - (PM: 400,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

D

Dantrón - (1,8-Dihidroxiantraquinona) - $C_{14}H_8O_4$ (PM: 240,2) - Emplear uno de grado apropiado.

Decanol - (Alcohol *n*-decílico) - $C_{10}H_{22}O$ - (PM: 158,3) - Líquido transparente, viscoso. Densidad relativa: aproximadamente 0,83, a 20 °C. Solidifica aproximadamente a 6,5 °C. Insoluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Valoración - Cuando se analiza por cromatografía gas-líquido (ver 100. *Cromatografía*) empleando un cromatógrafo de gases y condiciones apropiadas, presenta una pureza no menor a 99 %.

1-Decanosulfonato de sodio - Emplear uno de grado apropiado.

Decilsulfato de sodio - $C_{10}H_{21}NaO_4S$ - (PM: 260,3) - Sólido blanco, cristalino.

Valoración - Transferir aproximadamente 1 g, exactamente pesado, a un crisol apropiado, previamente pesado, humedecer con unas gotas de ácido sulfúrico y someter a ignición suavemente hasta peso constante. Cada miligramo de residuo equivale a 3,662 mg de $C_{10}H_{21}NaO_4S$. Contiene no menos de 95%.

Desoxicolato de sodio - Ver Sales biliares.

2'-Desoxiuridina - $C_9H_{12}N_2O_5$ - (PM:228,2).

Punto de fusión <260> - Aprox. 165 °C.

Cromatografía - Analizar según se indica en el ensayo para *Sustancias relacionadas* en *Idoxiuridina* aplicando 5 μ l de una solución de 5-iodouracilo que contenga 0,25 mg por ml. El cromatograma sólo presenta una mancha principal.

Deuterocloroformo - $CDCl_3$ - (PM: 120,4) - Emplear uno de grado apropiado.

Dextrina - $(C_6H_{10}O_5)_n \cdot xH_2O$ - Polvo amorfo blanco. Lentamente soluble en agua fría; más fácilmente soluble en agua caliente; insoluble en alcohol.

Materia insoluble - Calentar a ebullición 1 g con 30 ml de agua en un matraz apropiado: la solución es incolora y transparente o débilmente no opalescente.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 10,0 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 5 mg (0,5 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - Disolver 3 g en 75 ml de agua hirviendo, enfriar, diluir con agua

a 75 ml y filtrar si fuera necesario. A 25 ml del filtrado agregar 2 ml de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata (SR) y dejar reposar durante 5 minutos: cualquier turbidez producida no es mayor que la de un control que contiene 0,02 mg de Cl (0,002 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I.* A una porción de 25 ml del filtrado del ensayo anterior, agregar 0,5 ml de ácido clorhídrico diluido y 2 ml de cloruro de bario (SR) y dejar reposar durante 10 minutos: cualquier turbidez producida no es mayor que la de un control que contiene 0,2 mg de SO_4 (0,02 %).

Sustancias solubles en alcohol - Calentar a ebullición 1 g con 20 ml de alcohol durante 5 minutos bajo un refrigerante y filtrar en caliente. Evaporar 10 ml del filtrado en un baño de vapor y secar a 105 °C: el residuo no pesa más de 5 mg (1 %).

Azúcares reductores - Agitar 2 g con 100 ml de agua durante 10 minutos y filtrar hasta clarificar. A 50 ml del filtrado, agregar 50 ml de tartrato cúprico alcalino (SR) y calentar a ebullición durante 3 minutos. Filtrar a través de un crisol filtrante, previamente pesado, lavar con agua luego con alcohol y finalmente con éter y secar a 105 °C durante 2 horas: el precipitado de óxido cuproso no pesa más de 115 mg (correspondiente a aproximadamente 5 % de azúcares reductores como dextrosa).

Dextro pantotenato de calcio - Emplear *Pantotenato de calcio*.

Dextrosa anhidra - $C_6H_{12}O_6$ - (PM: 180,2) - Emplear *D*-glucosa anhidra de grado apropiado.

Diacetilo - Ver 2,3-Butanodiona.

2,3-Diaminonaftaleno - $C_{10}H_{10}N_2$ - (PM: 158,2) - Emplear uno de grado apropiado.

Diaveridina - $C_{13}H_{16}N_4O_2$ - (PM: 260,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Dibencilo - Ver Bibencilo.

2,6-Dibromoquinona-clorimida - (2,6-Dibromo-*N*-cloro-*p*-benzoquinonaimina; reactivo *DBQ*) - $O:C_6H_2Br_2:NCl$ - (PM: 299,4) - Polvo amarillo, cristalino. Insoluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones de hidróxidos alcalinos diluidos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 82 y 84 °C.

Solubilidad en alcohol - Una solución de 100 mg en 10 ml de alcohol presenta sólo una leve turbidez.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 500 mg con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,2 %).

Sensibilidad - A 10 ml de una solución en agua que contiene 0,01 mg de fenol agregar 0,3 ml de una solución reguladora de borato de sodio (preparada disolviendo 2,84 g de borato de sodio cristalizado en 90 ml de agua caliente, agregando 8,2 ml de hidróxido de sodio 1 N y diluyendo con agua a 100 ml) y 0,1 ml de una solución de 10 mg de la muestra en 20 ml de alcohol: se desarrolla un color azul característico dentro de los 10 minutos.

Dibutilamina - $C_8H_{19}N$ - (PM: 129,3) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μ m de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a 200 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 100 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 200 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico $C_8H_{19}N$ no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,415 y 1,419, a 20 °C.

Diciclohexilamina - $(C_6H_{11})_2NH$ - (PM: 181,3) - Líquido transparente, fuertemente alcalino, con débil olor a pescado. Moderadamente soluble en agua. Miscible con solventes orgánicos comunes. Densidad: 0,9104. Solidifica a + 0,1 °C; funde aproximadamente a 20 °C.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 400mg en un pesafiltro previamente pesado. Transferir el pesafiltro tapado a un vaso de precipitados de 250 ml, agregar ácido acético glacial (SR) suficiente para cubrir el pesafiltro y abrirlo bajo la superficie del ácido. Agregar cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV). Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 18,13 mg de $(C_6H_{11})_2NH$. Contiene no menos de 98 %.

Densidad relativa <160> - Entre 0,911 y 0,917.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 255 y 257 °C.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 0,5 %.

Diciclohexilo - (*Biciclohexilo*) - $C_{12}H_{22}$ - (PM: 166,3).

Punto de ebullición - Aprox. 227 °C.

Punto de fusión <260> - Aprox. 4 °C.

Diciclohexilurea - (*1,3-Diciclohexilurea*) - $(C_{13}H_{24}N_2O)$ - (PM: 222,4) - Polvo cristalino blanco.

Punto de fusión <260> - Aprox. 232 °C.

N,N-Diclorhidrato de dimetil-p-fenilendiamina - $(CH_3)_2NC_6H_4NH_2 \cdot 2HCl$ - (PM: 209,1) - Sólido fino cristalino casi blanco, higroscópico, puede tener un tinte rosado. Fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol.

Valoración - Transferir aproximadamente 400 mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados de 250 ml y disolver en aproximadamente 75 ml de agua. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) determinando el punto final potenciométricamente. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 10,46 mg de $C_8H_{12}N_2 \cdot 2HCl$. Contiene no menos de 98 %.

Solubilidad - Una solución de 1 g en 10 ml de agua no produce más que una leve turbidez.

Diclorhidrato de o-fenilendiamina - (PM: 181,1) $C_6H_8N_2 \cdot 2HCl$ - Polvo blanco.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Alcohol butílico, agua y ácido acético (12:5:3).

Procedimiento - Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: se observa una sola mancha, con trazas de impurezas.

Diclorhidrato de p-fenilendiamina - Ver Clorhidrato de p-fenilendiamina.

Diclorhidrato de hidracina - $(NH_2)_2 \cdot 2HCl$ - (PM: 105,0) - Polvo blanco.

Valoración - Disolver aproximadamente 34 mg, exactamente pesados, en 50 ml de agua. Agregar cuidadosamente con agitación, 1 g de bicarbonato de sodio. *Precaución* - *Se puede producir una rápida liberación de dióxido de carbono*. Titular con solución de iodo 0,1 N determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de solución de iodo 0,1 N equivale a 2,63 mg de $(NH_2)_2 \cdot 2HCl$. Contiene no menos de 98 %.

Diclorhidrato de N-(1-Naftil)etilendiamina - $C_{10}H_7NH(CH_2)_2NH_2 \cdot 2HCl$ - (PM: 259,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Diclorhidrato de piridoxamina - (PM: 241,1) $C_8H_{12}N_2O_2 \cdot 2HCl$ - Cristales o polvo

crystalino de color blanco o amarillo. Se oscurece gradualmente por exposición al aire o luz solar. 1 g se disuelve en aproximadamente 1 ml de agua y en aproximadamente 60 ml de alcohol. Insoluble en cloroformo y éter. Sus soluciones son ácidas.

Intervalo de fusión <260> - Entre 225 y 230 °C, con descomposición.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,15 %.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105°C durante 2 horas: no pierde más de 0,5 % de su peso.

Contenido de nitrógeno (Ensayo para reactivos) - Determinar por el método de Kjeldahl, empleando una muestra previamente secada a 105 °C durante 2 horas. Contiene entre 11,3 y 11,8 % de N.

Contenido de cloruro - Proceder según se indica en el ensayo para *Contenido de cloruro en Clorhidrato de piridoxal*. Contiene entre 29,1 y 29,6 % de Cl.

2,5-Dicloroanilina - $\text{Cl}_2\text{C}_6\text{H}_3\text{NH}_2$ - (PM: 162,0) - Cristales blancos en forma de agujas. Poco soluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Intervalo de fusión <260> - *Método I*. Entre 49 y 50 °C.

2,6-Dicloroanilina - $\text{C}_6\text{H}_5\text{Cl}_2\text{N}$ - (PM: 162,0) - Polvo casi blanco.

Intervalo de fusión <260> - Entre 38 y 41 °C.

o-Diclorobenceno - $\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl}_2$ - (PM: 147,0) - Líquido transparente, de color pardo amarillento claro y olor aromático. Prácticamente insoluble en agua. Miscible con alcohol y éter. Hierve aproximadamente a 180 °C.

Valoración - Cuando se analiza por cromatografía gas-líquido (ver 100. *Cromatografía*) empleando un cromatógrafo de gases y condiciones apropiadas, presenta una pureza no menor a 98 %.

Densidad relativa <160> - Entre 1,299 y 1,301.

Índice de refracción - Entre 1,548 y 1,550, a 25°C.

Residuo de evaporación - Evaporar 80 ml en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 50 mg (0,005 %).

Acidez - Agregar fenoltaleína (SR) a 25 ml de metanol y titular con hidróxido de potasio alcohólico 0,02 N (SV) hasta un color rosado suave persistente durante 15 segundos. Transferir 25 ml de muestra a la solución, mezclar, evitar la exposición a la atmósfera y titular con hidróxido de potasio alcohólico 0,02 N (SV). No se requieren más de 2,2 ml para restaurar el color rosado (aproximadamente 0,005 %).

1,2-Dicloroetano - Ver Dicloruro de etileno.

2,6-Diclorofenol-indofenol sódico - (2,6-Dicloroindofenol sódico) - $\text{O}:\text{C}_6\text{H}_2\text{Cl}_2:\text{NC}_6\text{H}_4\text{ONa}$

con aproximadamente $2\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 290,1, anhidro) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Diclorofluoresceína - $\text{C}_{20}\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{O}_5$ - (PM: 401,2) - [NOTA: esta especificación es tanto para el isómero 4,5 como para el 2,7 de diclorofluoresceína; el que sea apropiado para la preparación de diclorofluoresceína (SR).] Polvo cristalino de color anaranjado débil. Moderadamente soluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones de hidróxidos alcalinos.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 200 mg con 5 gotas de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,5 %).

Sensibilidad - Disolver 100 mg en 60 ml de alcohol, agregar 2,5 ml de hidróxido de sodio 0,1 N y diluir con agua a 100 ml. Agregar 1 ml de esta solución a una solución de yoduro de potasio preparada disolviendo 100 mg de yoduro de potasio, previamente secados a 105 °C hasta peso constante y exactamente pesados, en 50 ml de agua que contienen 1 ml de ácido acético glacial y titular con nitrato de plata 0,1 N (SV) hasta que el color del precipitado cambie de anaranjado amarillento pálido a rosado. El volumen de nitrato de plata 0,1 N consumido no es más de 0,10 ml mayor que el volumen calculado en base al contenido de KI de la muestra seca determinado en la *Valoración en Yoduro de potasio*.

Diclorofluorometano - CHCl_2F - (PM: 102,9) - Gas incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de conductividad térmica y una columna capilar de 30 m × 0,53 mm recubierta con una capa de 5 μm de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a 200 °C. La temperatura de la columna se mantiene a 0 °C y se programa un ascenso de 5 °C por minuto hasta alcanzar 40 °C y luego un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 180 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de CHCl_2F no es menor de 98 % del área total.

Diclorometano - Ver Cloruro de metileno.

2,4-Dicloro-1-naftol - $\text{C}_{10}\text{H}_6\text{OCl}_2$ - (PM: 213,1) Polvo color pardo brillante.

Intervalo de fusión <260> - Entre 103 y 107 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 2 °C.

2,6-Dicloroquinona-clorimida - (2,6-Dicloro-N-cloro-p-benzoquinona imina) -

O:C₆H₂Cl₂:NCl - (PM: 210,4) - Polvo cristalino amarillo pálido. Insoluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones de hidróxidos alcalinos diluidos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 65 y 67 °C.

Solubilidad en alcohol - Una solución de 100 mg en 10 ml de alcohol es completa y transparente.

Residuo de ignición - Someter a ignición 500 mg con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,2 %).

Sensibilidad - Cumple con los requisitos del ensayo para *Sensibilidad* en 2,6-Dibromoquinonaclorimida.

Dicloruro de etileno - (1,2-Dicloroetano) - (PM: 99,0) - C₂H₄Cl₂ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Dicromato de potasio - K₂Cr₂O₇ - (PM: 294,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Dicromato de sodio - (Para la preparación de mezcla sulfocrómica para limpieza de materiales de vidrio) - Na₂Cr₂O₇ · 2H₂O - (PM: 298,0) - Cristales o gránulos de color rojo anaranjado. Muy soluble en agua; insoluble en alcohol.

Dietilacetil de dimetilformamida - C₇H₁₇NO₂ - (PM: 147,2) - *N,N*-dimetilformamida-dietilacetil. Punto de ebullición entre 128 y 130 °C. Índice de refracción: aproximadamente 1,40.

Dietilamina - (C₂H₅)₂NH - (PM: 73,1) - Líquido incoloro, inflamable, altamente alcalino. Miscible con agua y alcohol. Forma un hidrato con agua. *Precaución* - Puede ser irritante para la piel y mucosas. Almacenar en envases bien cerrados.

Valoración - A 50 ml de agua agregar 6 a 8 gotas de un indicador recientemente preparado (mezclando 5 partes de una solución (1 en 1000) de verde de bromocresol en metanol con 1 parte de una solución (1 en 1000) de rojo de metilo en metanol) y neutralizar con ácido clorhídrico 0,1 N hasta la desaparición del color verde. Transferir aproximadamente 2 g de muestra, exactamente pesados, a un erlenmeyer con tapón de vidrio, previamente pesado, de 250 ml que contiene un pocos ml del agua neutralizada. Agregar el resto del agua neutralizada y titular con ácido clorhídrico 1 N (SV) hasta la desaparición del color verde. Cada mililitro de ácido clorhídrico 1 N equivale a 73,1 mg de (C₂H₅)₂NH. Contiene no menos de 99,0%.

Densidad relativa <160> - Entre 0,700 y 0,705.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 55 y 58 °C.

Residuo después de la evaporación - Evaporar 14 ml (10 g) en un cristizador en un baño de vapor hasta sequedad, secar a 105 °C durante 1 hora,

enfriar y pesar: el peso del residuo no es mayor de 1,0 mg (0,010 %).

Sustancias insolubles en agua - Transferir 25 ml a un erlenmeyer de 125 ml y agregar 25 ml de agua en porciones de 5 ml, agitando bien luego de cada agregado. Agregar otros 25 ml de muestra a 25 ml de agua de la misma manera. En ningún caso se produce oscurecimiento o turbidez.

***N,N*-Dietilnilina** - C₆H₅N(C₂H₅)₂ - (PM: 149,2) - Líquido amarillo claro a ámbar.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada (aproximadamente 0,2 µl) en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,8 m × 3 mm recubierta por una fase estacionaria constituida por un compuesto de polietilenglicol al 20 % (p.m.p aproximadamente 15.000 [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido]) sobre un soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases, la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na₂CO₃ y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector y el detector a 250 y 310 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 140 °C y se programa un ascenso de 6 °C por minuto hasta alcanzar 200 °C. Se emplea helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 40 ml por minuto. El tiempo de retención para la *N,N*-dietilnilina es de aproximadamente 4,9 minutos y el área del pico no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,5405 y 1,5425, a 20 °C.

Dietilditiocarbamato de plata - (C₂H₅)₂NCS₂Ag (PM: 256,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Dietilditiocarbamato de sodio - (PM:225,3) (C₂H₅)₂NCS₂Na · 3H₂O - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Dietilenglicol - C₄H₁₀O₃ - (PM: 106,1) - Líquido incoloro a débilmente amarillo, viscoso e higroscópico, con olor leve. Miscible con agua, alcohol, éter y acetona. Insoluble en tetracloruro de carbono.

Densidad relativa <160> - Entre 1,117 y 1,120, a 20 °C.

Intervalo de destilación <240> - Entre 240 y 250 °C.

Acidez - Transferir 54 ml (60 g) a un erlenmeyer de 250 ml, agregar fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de potasio alcohólico 0,02 N (SV) hasta color rosado estable durante no menos de 15 segundos. No se requieren más de 2,5 ml (0,005 % como CH₃COOH).

Agua <120> - No más de 0,2 %.

Residuo de ignición <270> - Transferir 50 g a una cápsula de platino, previamente pesada, calentar la cápsula suavemente hasta que los vapores se enciendan y la muestra se queme completamente. Someter a ignición el residuo a 800 ± 25 °C, enfriar y pesar: el residuo no pesa más de 2,5 mg (0,005 %).

Dietilenglicol succinato poliéster - (OCH₂CH₂OCH₂CH₂OOCCH₂CH₂COO)_n - Líquido transparente, viscoso. Soluble en cloroformo. Es estabilizado mediante modificación del poliéster succinato de dietilenglicol, haciéndolo apropiado para emplear en cromatografía gas-líquido a una temperatura de 200 °C.

Dietilentriamina - C₄H₁₃N₃ - (PM: 103,2) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m × 0,25 mm recubierta con una fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a 200 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 100 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 250 °C, manteniendo esta temperatura durante 5 minutos. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico principal no es menor de 95 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,4815 y 1,4845, a 20 °C.

Di(2-etilhexil)ftalato - (*Bis (2-etilhexil) ftalato*) - C₂₄H₃₈O₄ - (PM: 390,6) - Emplear uno de grado apropiado.

Difenilamina - (C₆H₅)₂NH - (PM: 169,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Difenilantraceno - (*9,10-Difenilantraceno*) - C₂₆H₁₈ - (PM: 330,4) - Polvo cristalino, amarillo o amarillento. Fácilmente soluble en éter; prácticamente insoluble en agua.

Punto de fusión <260> - Aprox. a 248 °C.

Difenilborinato de 2-aminoetilo - (Aminoetil-difenilborinato) - C₁₄H₁₆BNO - (PM: 225,1) - Polvo cristalino blanco.

Intervalo de fusión <260> - Entre 192 y 194 °C.

Difenilcarbazida - (C₆H₅NHNH)₂CO - (PM: 242,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Difenilcarbazona - (*Difenilcarbazona con s-difenilcarbazida (1:1)*) - (PM: 482,6) - C₆H₅NHNHCON:NC₆H₅.C₆H₅NHNHCONHNHC₆H₅ Emplear un reactivo analítico apropiado.

Difenil éter - (*Éter de fenilo*) - (C₆H₅)₂O - (PM: 170,2) - Líquido incoloro. Insoluble en agua; soluble en ácido acético glacial y la mayoría de los solventes orgánicos. Hierve aproximadamente a 259 °C.

Intervalo de fusión <260> - Entre 26 y 28 °C.

2,2-Difenilglicina - C₁₄H₁₃NO₂ - (PM: 227,3) - Polvo casi blanco. Funde aproximadamente a 244 °C, con descomposición.

Valoración - Disolver aproximadamente 115 mg, exactamente pesados, en 30 ml de metanol. Lentamente agregar aproximadamente 20 ml de agua, calentando suavemente, si fuera necesario, para disolver completamente. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 22,73 mg de C₁₄H₁₃NO₂. Contiene no menos de 98,0 %.

Digerido pancreático de caseína (peptona bacteriológica) - (*Triptona*) - Polvo amarillo grisáceo, de olor característico pero no pútrido. Fácilmente soluble en agua; insoluble en alcohol y en éter. La caseína empleada en la preparación de este digerido debe reunir las siguientes especificaciones:

Residuo de ignición - No más de 2,5 %.

Pérdida por secado - No más de 8 %.

Ácido libre (como ácido láctico) - No más de 0,25 %.

Grasa - No más de 0,5 %.

Azúcares reductores - Trazas.

Finura - Todo debe pasar a través de un tamiz N° 20.

Grado de digestión - Disolver 1 g en 10 ml de agua y emplear esta solución para los siguientes ensayos:

(a) Cubrir 1 ml de la solución de digestión con 0,5 ml de una solución de 1 ml de ácido acético glacial en 10 ml de alcohol diluido: ningún anillo o precipitado se forma en la unión de los dos líquidos y cuando se agita no se produce turbidez

(indicando la ausencia de caseína no digerida).

(b) Mezclar 1 ml de solución de digestión con 4 ml de una solución saturada de sulfato de cinc: se forma una cantidad moderada de precipitado (indicando la presencia de proteosas). Filtrar y retener el filtrado.

(c) A 1 ml del filtrado del ensayo anterior, agregar 3 ml de agua y a continuación 1 gota de bromo (SR): se produce un color rojo violeta (indicando de la presencia de triptofano).

Compuestos nitrogenados (Ensayo para reactivos) - Determinar por el método de Kjeldahl, empleando una muestra previamente secada a 105 °C hasta peso constante. Contiene no menos de 10,0 %.

Pérdida por secado <680> - Secar a 100 °C hasta peso constante: no pierde más de 7,0 % de su peso.

Residuo de ignición <270> - Someter a ignición 500 mg con 1 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 75 mg (15 %).

Nitrito - A 5 ml de una solución del digerido (1 en 50) agregar 0,5 ml de sulfanílico- α -naftilamina (SR), mezclar y dejar reposar durante 15 minutos: no se desarrolla color rosado o rojo.

Contenido microbiano - Disolver 1 g en 10 ml de agua. Difundir 0,01 ml en 1 cm² de un portaobjetos de vidrio. Teñir por el método de Gram y examinar con una lente de inmersión en aceite: no más de un total de 50 microorganismos o agregados, son visibles en 10 campos consecutivos.

Ensayo bacteriológico - El digerido cumple con los siguientes ensayos para propiedades de nutrientes bacterianos. Preparar medios de las siguientes composiciones:

(a) 2 % de digerido, en agua;

(b) 0,1 % de digerido, en agua;

(c) 1 % de digerido, 0,5 % de cloruro de sodio, 0,5 % de dextrosa, en agua;

(d) 1 % de digerido, en agua;

(e) 2 % de digerido, 0,5 % de cloruro de sodio, 1,5% de agar, en agua.

Ajustar todos los medios a pH 7,2 a 7,4.

Ausencia de carbohidratos fermentables - Al medio (a) agregar rojo de fenol (SR) suficiente para dar un color apreciable, colocar en tubos de fermentación de Durham y esterilizar en autoclave. Inocular con un cultivo de 24 horas de *Escherichia coli*: no se produce ácido o sólo una traza en la recámara y no se produce ningún gas durante la incubación por 48 horas.

Producción de indol - Inocular 5 ml del medio (b) con *Escherichia coli*, incubar durante 24 horas y agregar aproximadamente 0,5 ml de *p*-dimetilaminobenzaldehído (SR): se observa un

color rosado o rojo característico que es soluble en cloroformo.

Producción de acetilmetilcarbinol - Inocular 5 ml del medio (c) con *Aerobacter aerogenes* e incubar durante 24 horas. Agregar al cultivo un volumen igual de solución de hidróxido de sodio (1 en 10), agitar y dejar reposar a temperatura ambiente durante varias horas: la aparición de color rosado indica la presencia de acetilmetilcarbinol.

Producción de sulfuro de hidrógeno - Inocular 5 ml de medio (d) con *Salmonella typhosa*. Mantener una tira de papel de acetato de plomo entre el tapón de algodón y la boca del tubo de ensayo para que cuelgue aproximadamente 5 cm encima del medio. Luego de incubar durante 24 horas, la punta inferior del papel de acetato de plomo presenta poco o ningún oscurecimiento. Luego de 48 horas, presenta una cantidad apreciable de ennegrecimiento pardusco (que indica la formación de sulfuro de plomo).

Propiedades que favorecen el crecimiento - En los ensayos previos los medios producen buen desarrollo de *Escherichia coli*, *Aerobacter aerogenes* y *Salmonella typhosa*. El medio (e) inoculado por picadura con un cultivo madre *Brucella abortus* presenta buen desarrollo en la línea de siembra luego de 48 horas de incubación. El medio (e) preparado en forma inclinada, inoculado con *Escherichia coli*, *Aerobacter aerogenes*, *Salmonella typhosa*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus albus*, presenta desarrollo característico luego de incubar durante 24 horas. El medio (e) al que se le ha agregado aproximadamente 5 % de sangre de ovino o sangre de conejo y que se ha inoculado y vertido en placas de petri, presenta zonas características alfa o beta cerca de las colonias de *neumococos* y *estreptococo beta hemolítico* (grupos serológicos A y B) reconocible dentro de 24 horas y plenamente desarrollado luego de incubar durante 48 horas. El medio (e) al que se le ha agregado aproximadamente 10 % de sangre y el cual luego ha sido calentado de 80 a 90 °C hasta que la sangre se torna de color chocolate pardo, permite el crecimiento de colonias de *gonococos* dentro de 48 horas cuando se incuba en una atmósfera conteniendo aproximadamente 10 % de dióxido de carbono.

Digerido papáinico de harina de soja - Material nutritivo soluble preparado por la acción de la enzima papaína sobre la harina de soja seguido de purificación y concentración apropiada. Cumple las especificaciones dadas en *Digerido pancreático de caseína*, excepto en lo que se refiere a *Compuestos nitrogenados* y en

que presenta cantidades importantes de azúcares reductores. Contiene carbohidratos fermentables y da positivo el ensayo para indol, acetilmetilcarbinol y sulfuro con inoculación e incubación con los microorganismos especificados.

Compuestos nitrogenados (Ensayo para reactivos) Determinar por el método Kjeldahl, empleando una muestra previamente secada a 105 °C hasta peso constante. Contiene no menos de 8,5 %.

Digerido péptico de tejido animal (peptona bacteriológica) - Polvo color pardo, de olor característico pero no pútrido. Soluble en agua; insoluble en alcohol y éter. Una solución (2 en 100) esterilizada en autoclave es transparente y posee reacción neutra o casi neutra.

Grado de digestión - Disolver 1 g en 10 ml de agua y emplear esta solución para los siguientes ensayos:

- (a) Cubrir 1 ml de la solución digerida con 0,5 ml de una solución de 1 ml de ácido acético glacial en 10 ml de alcohol diluido: no se forma ningún anillo precipitado en la unión de los dos líquidos y al agitar no se produce turbidez (indicando la ausencia de proteína no digerida).
- (b) Mezclar 1 ml de la solución digerida con 4 ml de sulfato de cinc saturado: se forma una cantidad pequeña de precipitado (indicando la presencia de proteosas). Filtrar y retener el filtrado.
- (c) A 1 ml del filtrado anterior agregar 1 gota de bromo (SR): el cambio de color amarillo claro a rojo pardo indica la presencia de triptofano.

Compuestos nitrogenados, Pérdida por secado, Residuo de ignición y Nitrito - Proceder según se indica en *Digerido pancreático de caseína*.

Contenido microbiano - Disolver 1 g en 10 ml de agua. Difundir 0,01 ml en 1 cm² de un portaobjetos de vidrio. Teñir por el método de Gram y examinar con una lente de inmersión en aceite: no más de 50 microorganismos o agregados, son visibles en 10 campos consecutivos.

Ensayo bacteriológico - Cumple los siguientes ensayos para propiedades de nutriente bacteriano. Preparar medios de las siguientes composiciones:

- (a) 2 % de digerido y rojo de fenol (SR) suficiente para dar un color perceptible en agua;
- (b) 0,1 % de digerido en agua;
- (c) 0,1 % de digerido y 0,5 % de dextrosa en agua;
- (d) 1 % de digerido en agua.

Ajustar todos los medios a pH de 7,2 a 7,4. Transferir 5 ml de (a) a tubos de fermentación de Durham y 5 ml de (b), (c) y (d) a tubos de ensayo. Esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minu-

tos. Luego de 24 horas en reposo todos los medios permanecen transparentes.

Presencia de carbohidratos fermentables - Inocular medio (a) con *Escherichia coli* y con *Streptococcus liquefaciens*: el ácido es producido por *E. coli* pero no por *S. liquefaciens* luego de incubar durante 24 horas.

Producción de indol - Inocular medio (b) con *Escherichia coli* y con *Aerobacter aerogenes* e incubar durante 24 horas. Agregar aproximadamente 0,5 ml de *p*-dimetilaminobenzaldehído (SR): la aparición de un color rosado o rojo (soluble en cloroformo) indica la producción de indol por *E. coli*. El cultivo de *A. aerogenes* da resultado negativo.

Producción de acetilmetilcarbinol - Inocular medio (c) con *Escherichia coli* y con *Aerobacter aerogenes* e incubar durante 24 horas. Agregar al cultivo un volumen igual de solución de hidróxido de sodio (1 en 10), agitar y dejar reposar a temperatura ambiente durante varias horas: la aparición de un color rosado indica la producción de acetilmetilcarbinol por *A. aerogenes*. El cultivo de *E. coli* da resultado negativo.

Producción de sulfuro de hidrógeno - Inocular medio (d) con *Salmonella typhosa*. Colocar una tira de papel de acetato de plomo entre el tapón de algodón y la boca del tubo de ensayo para que cuelgue aproximadamente 5 cm encima del medio. Luego incubar durante 24 horas: la parte inferior del papel de acetato de plomo presenta un ennegrecimiento apreciable (indica la formación de sulfuro de plomo).

Digitonina - C₅₆H₉₂O₂₉ - (PM: 1.229,3) - Polvo blanco, cristalino. Practicamente insoluble en agua; soluble en alcohol caliente, ácido acético glacial y ácido acético al 75 %; insoluble en cloroformo y éter. Funde aproximadamente a 230 °C, con descomposición.

Rotación específica <170> - Entre - 47° y - 49°, determinado en una solución de ácido acético al 75 % conteniendo 100 mg por ml.

Solubilidad en alcohol - Una solución de 500 mg en 20 ml de alcohol caliente es incolora y completa.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 6 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,3 %.

Digoxigenina - C₂₃H₃₄O₅ - (PM: 390,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

10,11-Dihidrocarbamepina - C₁₅H₁₄N₂O - (PM: 238,3) - Cristales blancos.

Valoración - Cuando es ensayada por cromatografía en capa delgada, con el empleo de placas recubiertas con gel de sílice para cromatografía, con el uso de una fase móvil preparada con tolueno y metanol (80:20) y es examinada visualmente bajo luz ultravioleta a 366 nm: es observada una única mancha.

Diiodofluoresceína - $C_{20}H_{10}I_2O_5$ - (PM: 584,1) - Polvo inodoro rojo anaranjado. Poco soluble en agua; soluble en alcohol y soluciones de hidróxidos alcalinos.

Residuo de ignición - Someter a ignición 200 mg con 5 gotas de ácido sulfúrico: el peso del residuo no es mayor a 1,0 mg (0,5 %).

Sensibilidad - Disolver aproximadamente 100 mg de ioduro de potasio, exactamente pesados y previamente secados a 105 °C hasta peso constante, en 50 ml de agua. Agregar 1 ml de solución de diiodofluoresceína (SR) preparada con la muestra y 1 ml de ácido acético glacial y titular con nitrato de plata 0,1 N (SV) hasta que el precipitado cambie de color rojo pardusco a rojo azulado. El volumen de nitrato de plata 0,1 N consumido no es más de 0,10 ml mayor del volumen calculado en base al contenido de KI del ioduro de potasio seco determinado del siguiente modo. Disolver aproximadamente 500 mg de ioduro de potasio, exactamente pesados, en aproximadamente 10 ml de agua y agregar 35 ml de ácido clorhídrico y 5 ml de cloroformo. Titular con iodato de potasio 0,05 M (SV) hasta que el color púrpura del yodo desaparezca del cloroformo. Agregar las últimas porciones de la solución de iodato, gota a gota, agitando en forma vigorosa y continua. Luego que se haya decolorado el cloroformo, dejar reposar la mezcla durante 5 minutos. Si el cloroformo desarrolla un color púrpura, continuar titulando con la solución de iodato. Cada ml de iodato de potasio 0,05 M equivale a 16,60 mg de KI.

Diisodecil ftalato - (*Bis (isodecil) ftalato*) - $C_{28}H_{46}O_4$ - (PM: 446,7) - Emplear uno de grado apropiado.

Diisopropilamina - $[(CH_3)_2CH]_2NH$ - (PM: 101,2) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,83 m × 3,2 mm con un soporte de poliestireno entrecruzado. Mantener el inyector y el detector a 250 y 310 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se programa para aumentar 10 °C por minuto de 50 a 220 °C. Contiene no menos de 98 % de $C_6H_{15}N$.

Índice de refracción - Entre 1,3915 y 1,3935, a 20 °C.

Diisopropil éter (Éter isopropílico) - (PM: 102,2) $[(CH_3)_2CH]_2O$ - Líquido incoloro, móvil. Poco soluble en agua. Miscible con alcohol y éter.

Precaución - Altamente inflamable. No evaporar hasta sequedad, ya que tiende a formar peróxidos explosivos.

Densidad relativa - Entre 0,716 y 0,720.

Intervalo de destilación <240> - Método II. No menos de 95 % destila entre 65 y 70 °C.

Peróxidos - A 10 ml, contenidos en una probeta limpia, con tapón de vidrio previamente lavada con una porción del éter bajo ensayo, agregar 1 ml de solución de ioduro de potasio recientemente preparada (1 en 10). Agitar y dejar reposar durante 1 minuto: no se observa color amarillo en ninguna de las fases (aproximadamente 0,001 % como H_2O_2).

Residuo de evaporación - [NOTA: si hay peróxidos presentes, no llevar a cabo este procedimiento.] Evaporar 14 ml (10 g) en un cristallizador, previamente pesado, y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 1 mg (0,01 %).

Acidez - Agregar 2 gotas de azul de bromotimol (SR) a 10 ml de agua en un erlenmeyer de 50 ml con tapón de vidrio y titular con hidróxido de sodio 0,010 N hasta que el color azul persista luego de agitar vigorosamente. Agregar 5 ml de diisopropil éter y titular con hidróxido de sodio 0,010 N. No se requieren más de 0,30 ml para restaurar el color azul (0,005 % como CH_3COOH).

[NOTA: para determinaciones espectrofotométricas, emplear diisopropil éter que cumple con el siguiente requisito adicional:

Absorbancia - La absorbancia a 255 nm, en una celda de cuarzo de 10 mm, empleando agua como blanco, no es mayor de 0,2]

Diisopropiletilamina - (PM: 129,2) - $C_8H_{19}N$ - (*N,N-Diisopropiletilamina*) - Líquido transparente, incoloro. Soluble en ácido acético glacial.

Valoración - Disolver aproximadamente 500 mg, exactamente pesados, en 50 ml de ácido acético glacial, mezclar, agregar cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV). Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 12,92 mg de $C_8H_{19}N$. Contiene no menos de 98 %.

Índice de refracción - Entre 1,4125 y 1,4145, a 20 °C.

N,N-Diisopropiletildiamina - (*N-Etildiisopropilamina*) - (PM: 129,3) -

$[(\text{CH}_3)_2\text{CH}]_2\text{NC}_2\text{H}_5$ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

***N,N*-Dimetilacetamida** - $\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}$ - (PM: 87,1) - Líquido transparente, incoloro. Miscible con agua y solventes orgánicos.

Valoración - Cuando se analiza por cromatografía gas-líquido (ver 100. *Cromatografía*) empleando un cromatógrafo de gases y condiciones apropiadas, presenta una pureza no menor a 99 %.

Intervalo de destilación <240> - Entre 164,5 y 167,5 °C.

Residuo de evaporación - Evaporar 215 ml en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 2 mg (0,001 %).

pH de una solución al 20 % - Transferir 20 g, exactamente pesados, a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua: la solución presenta un pH entre 4,0 y 7,0.

Absorbancia ultravioleta - Determinar la absorbancia en una celda de 1 cm, entre 270 y 400 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando agua como blanco: la absorbancia no es mayor de 1,00 a 270 nm; 0,30 a 280 nm; 0,15 a 290 nm; 0,05 a 310 nm; 0,03 a 320 nm y 0,01 de 360 a 400 nm.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 0,05 %.

***p*-Dimetilaminoazobenceno** - (*Amarillo de metilo*) - $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}:\text{NC}_6\text{H}_4\text{N}(\text{CH}_3)_2$ - (PM: 225,3) - Escamas amarillas o polvo cristalino amarillo. Insoluble en agua; moderadamente soluble en cloroformo, éter y aceites grasos.

Solubilidad - Disolver 100 mg en 20 ml de alcohol: la disolución es completa o prácticamente completa y la solución resultante es transparente.

Intervalo de fusión <260> - Entre 115 y 117 °C.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,1 %.

Sensibilidad - Agregar 0,05 ml de una solución de alcohol (1 en 200) y 2 g de cloruro de amonio a 25 ml de agua: el color amarillo limón de la solución cambia a anaranjado por el agregado de 0,05 ml de ácido clorhídrico 0,1 N y se restaura por el agregado posterior de 0,05 ml de hidróxido de sodio 0,1 N.

***p*-Dimetilaminobenzaldehído** - (PM: 149,2) - $(\text{CH}_3)_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{CHO}$ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

***p*-Dimetilaminocinamaldehído** - (PM: 175,2) - $(\text{CH}_3)_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{CH}:\text{CHCHO}$ - Polvo amarillo anaranjado. Soluble en acetona y alcohol.

Intervalo de fusión <260> - Entre 132 y 136 °C.

Dimetilaminofenol (isómero meta) - $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}$ - (PM: 137,2) - Sólido cristalino de color negro, púrpura, gris o canela.

Intervalo de fusión <260> - Entre 83 y 85 °C.

2,6-Dimetilanilina - $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{N}$ - (PM: 121,2) - Líquido amarillo.

Índice de refracción <230> - 1,560, a 20 °C.

***N,N*-Dimetilnilina** - $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}(\text{CH}_3)_2$ - (PM: 121,2) Líquido amarillo brillante, transparente e incoloro cuando está recientemente destilado pero luego adquiere un color rojizo a pardo rojizo. Densidad relativa: aproximadamente 0,960. Punto de congelación: aproximadamente 2 °C. Insoluble en agua; soluble en alcohol, cloroformo, éter y ácidos minerales diluidos.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada (aproximadamente 0,2 μl) en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,8 m \times 3 mm con fase estacionaria constituida por un compuesto de polietilenglicol al 20 % (p.m.p aproximadamente 15.000 [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido]) sobre soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el inyector y el detector a 250 y 310 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 50 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 200 °C. Se emplea helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 40 ml por minuto. El tiempo de retención para la *N,N*-Dimetilnilina es de aproximadamente 11,5 minutos y el área del pico no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,5571 y 1,5591, a 20 °C.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Destilar 100 ml: la diferencia entre las temperaturas observadas cuando han destilado 1 ml y 95 ml, no es mayor de 2,5 °C. La temperatura de ebullición a una presión de 760 mm Hg es 194,2 °C.

Hidrocarburos - Disolver 5 ml en una mezcla de 10 ml de ácido clorhídrico y 15 ml de agua: se obtiene una solución transparente que permanece así cuando se enfría cerca de 10 °C.

Anilina o monometilanilina - Transferir 5 ml a un erlenmeyer con tapón de vidrio, agregar 5 ml de una solución de anhídrido acético en benceno (1 en 10), mezclar y dejar reposar durante 30 minutos. Agregar 30,0 ml de hidróxido de sodio 0,5 N (SV), agitar la mezcla, agregar fe-

nolftaleína (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,5 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. No se requieren más de 0,30 ml de hidróxido de sodio 0,5 N.

3,4-Dimetilbenzofenona - $C_{15}H_{14}O$ - (PM: 210,3) - Trozos blancos que funden a 45 °C.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m × 0,25 mm recubierta con fase estacionaria constituida por aceite de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a 300 °C. La temperatura de la columna se mantiene a 180 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 280 °C y se mantiene a esa temperatura durante 10 minutos. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico principal no es menor de 99 % del área total.

5,5-Dimetil-1,3-ciclohexanodiona - $C_8H_{12}O_2$ - (PM: 140,2) - Sólido blanco, cristalino. Poco soluble en agua; soluble en alcohol, metanol, cloroformo y ácido acético.

Intervalo de fusión <260> - Entre 148 y 150 °C.

Dimetil estearilamida - $C_{20}H_{41}NO$ - (PM: 327,5) - (*N,N*-Dimetil estearilamida) - Masa sólida, blanca o casi blanca. Soluble en numerosos solventes orgánico, incluyendo acetona. Punto de fusión: aproximadamente 51 °C.

1,1-Dimetiletilamina - $C_2H_5N(CH_3)_2$ - (PM: 73,1). Emplear un reactivo analítico apropiado.

2,6-Dimetilfenol - $(CH_3)_2C_6H_3OH$ - (PM: 122,2) Sólido cristalino blanco a amarillo pálido.

Valoración - Inyectar una solución (1 en 3) en xileno en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,83m × 3,2 mm con una fase estacionaria constituida por un compuesto de polietilenglicol TPA al 10 % [NOTA: un compuesto de alto peso molecular de un polietilenglicol y un diepóxido que se esterifica con ácido tereftálico], sobre un soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C. [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 250 y 310 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se

programa para aumentar 8 °C por minuto de 100 a 200 °C. Se emplea helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 40 ml por minuto. En forma similar inyectar una alícuota de xileno. El área del pico $C_8H_{10}O$ no es menor de 98 % del área total corregida por el pico de xileno.

Intervalo de fusión <260> - Entre 44 y 46 °C.

Dimetilformamida - (*N,N*-dimetilformamida) - $HCON(CH_3)_2$ - (PM: 73,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Dimetilglioxima - (*2,3-Butanodiona dioxima*) - $C_4H_8N_2O_2$ - (PM: 116,1) - Polvo cristalino blanco o cristales incoloros, solubles en alcohol y éter, muy poco solubles en agua en ebullición, prácticamente insolubles en agua fría.

Punto de fusión <260> - Aprox. a 240 °C, con descomposición.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,05 %.

***N,N*-Dimetil-1-naftilamina** - $C_{12}H_{13}N$ - (PM: 171,2) - Líquido amarillo pálido a amarillo, aromático. Soluble en alcohol y éter.

Valoración - Transferir aproximadamente 250 mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados, agregar 100 ml de ácido acético glacial y disolver mediante agitación. Cuando la disolución sea completa, titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 17,12 mg de $C_{12}H_{13}N$. Contiene no menos de 98 %.

Índice de refracción - Entre 1,6210 y 1,6230, a 20 °C, empleando luz de sodio.

Ensayo de sulfanilamida - Disolver 20 mg de *Sulfanilamida SR-FA* en 100 ml de agua para obtener la *Solución de sulfanilamida*. Transferir a dos vasos de precipitados de 150 ml, 1,0 ml y 2,5 ml de la *Solución de sulfanilamida*, respectivamente. Diluir con agua a 90 ml. Transferir 90 ml de agua a un tercer vaso de precipitados que se empleará como blanco. A cada vaso de precipitados agregar 8,0 ml de solución de ácido tricloroacético (3 en 20) y 1,0 ml de solución de nitrito de sodio (1 en 1000). Agitar las soluciones durante 5 minutos, agregar 10 ml de solución reguladora de acetato (SR) y 1,0 ml de una solución (1 en 1.000) de *N,N*-dimetil-1-naftilamina en alcohol. El pH es aproximadamente de 5 a 6, empleando papel de pH. Agitar durante un periodo adicional de 5 minutos y agregar 20 ml de ácido acético glacial. El pH es

aproximadamente de 3 a 4, empleando papel de pH. Comparando con el blanco, el vaso de precipitados que contiene 1,0 ml de la *Solución de sulfanilamida* presenta color rosado, mientras que el otro vaso de precipitados presenta un color rosa profundo a rojo.

***N,N*-Dimetiloctilamina** - $C_{10}H_{23}N$ - (PM: 157,3) - Líquido incoloro.

Índice de refracción <230> - 1,4243, a 20 °C.

2,2-Dimetil-2-silapentano-5-sulfonato de sodio - Ver 3-(trimetilsilil)-1-propano sulfonato de sodio.

Dimetiltetradecilamina - $C_{16}H_{35}N$ - (PM: 241,5) (*N,N*-Dimetiltetradecilamina) - Líquido transparente o casi transparente, incoloro o casi incoloro, prácticamente insoluble en agua; miscible con acetona, alcohol y metanol. Contiene no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{16}H_{35}N$.

Densidad relativa <160> - Aprox. 0,80, a 20 °C.

Intervalo de destilación - Aprox. a 260 °C.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 0,3 %.

Valoración - Disolver 200 mg de dimetiltetradecilamina en 10 ml de alcohol. Titular con ácido clorhídrico 0,1 N en presencia de 0,1 ml de rojo de metilo (SR) hasta coloración roja. Cada mililitro de ácido clorhídrico 0,1 N equivale a 24,15 mg de $C_{16}H_{35}N$.

Dimetilsulfona - (*Metilsulfona*) - $(CH_3)_2SO_2$ - (PM: 94,1) - Cristales blancos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 109 y 111 °C.

Dimetilsulfóxido - Ver Metilsulfóxido.

Dimetilsulfóxido grado espectrofotométrico - Emplear metilsulfóxido que cumple las siguientes especificaciones adicionales:

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada (aproximadamente 0,1 μ l) en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de conductividad térmica y una columna de vidrio 2 m \times 3 mm con una fase estacionaria constituida por un compuesto de polietilenglicol al 20% (p.m.p aproximadamente 15.000 [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido]) en un soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 180 °C. La colum-

na se mantiene aproximadamente a 95 °C. Se emplea helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 50 ml por minuto. El área del pico simétrico del dimetilsulfóxido no es menor de 99 % del área total.

Absorción ultravioleta - Determinar la absorbancia de la muestra en una celda de 1 cm, entre 400 y 262 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando agua como blanco. La absorbancia no es mayor de 1,00 a 262 nm; 0,360 a 270 nm; 0,080 a 300 nm y 0,010 en el intervalo de 340 a 400 nm. La curva de absorbancia es suave y no presenta absorbancias extrañas dentro del intervalo observado.

2,5-Dimetoxibenzaldehído - $C_9H_{10}O_3$ - (PM: 166,2) - Cristales casi blancos.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,3 mm recubierta con fase estacionaria constituida por aceite de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 270 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 270 °C. Se emplea nitrógeno como gas transportador. El área del pico principal no es menor de 97 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 50 y 52 °C.

3,4-Dimetoxibenzaldehído - (*Veratraldehído*) - $C_9H_{10}O_3$ - (PM: 166,2) - Cristales aciculares, fácilmente solubles en alcohol y éter, ligeramente solubles en agua.

Intervalo de fusión <260> - Entre 42 y 43 °C.

1,2-Dimetoxietano - $C_4H_{10}O_2$ - (PM: 90,1) - Líquido transparente, incoloro, de olor etéreo. Miscible con agua y alcohol. Soluble en hidrocarburos. *Precaución* - *Puede formar peróxidos durante el almacenamiento.*

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 83 y 86 °C.

Índice de refracción <230> - Entre 1,379 y 1,381, a 20 °C.

Acidez - A 20 ml agregar azul de bromofenol (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,020 N. No se requieren más de 2,0 ml (aproximadamente 0,015 % como CH_3COOH).

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 0,2 %.

(3,4-Dimetoxifenil)-acetonitrilo - $C_{10}H_{11}NO_2$ - (*Homoveratronitrilo*) - (PM: 177,2) - Fibras casi blancas.

Intervalo de fusión <260> - Entre 65 y 67 °C.

m-Dinitrobenceno - $C_6H_4(NO_2)_2$ - (PM: 168,1) - Cristales o polvo cristalino color amarillo pálido. Casi insoluble en agua fría; poco soluble en agua caliente; soluble en cloroformo; moderadamente soluble en alcohol. Es volátil en vapor.

Intervalo de fusión <260> - Entre 89 y 92 °C.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,5 %.

2,4-Dinitroclorobenceno - $C_6H_3(NO_2)_2Cl$ - (PM: 202,6) - Cristales amarillos a amarillo parduscos. Insoluble en agua; soluble en alcohol caliente y éter.

Intervalo de fusión <260> - Entre 51 y 53 °C.

Residuo de ignición - Someter a ignición 500 mg con 5 gotas de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,2 %).

2,4-Dinitrofenilhidracina - $C_6H_3(NO_2)_2NHNH_2$ - (PM: 198,1) - Cristales rojo anaranjado, que bajo el microscopio parecen ser individualmente agujas de color amarillo limón. Poco soluble en agua y alcohol; moderadamente soluble en ácidos inorgánicos diluidos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 197 y 200 °C.

Solubilidad en ácido sulfúrico - Disolver 500 mg en una mezcla de 25 ml de ácido sulfúrico y 25 ml de agua: la solución es transparente o apenas turbia.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 500 mg.

2,4-Dinitrofluorobenceno - $C_6H_3FN_2O_4$ - (PM: 186,1) - (*1-Fluor-2,4-dinitrobenceno*) - Sólido amarillo claro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada (aproximadamente 0,2 μ l) en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de conductividad térmica y una columna de acero inoxidable de 1,8 m \times 4 mm con una fase estacionaria al 10 % constituida por aceite de dime-tilpolisiloxano, sobre un soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el inyector y detector a 290 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 140 °C y se programa un as-

censo de 3 °C por minuto hasta alcanzar 190 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de 2,4-dinitrofluorobenceno no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 28 y 31 °C.

Dioxano - (*Dietilen dióxido; 1,4-Dioxano*) - $C_4H_8O_2$ - (PM: 88,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Dióxido de manganeso - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Dipicrilamina - Ver Hexanitrodifenilamina.

α,α' -Dipiridilo - Ver 2,2N-Bipiridina.

Disulfuro de carbono - CS_2 - (PM: 76,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Disulfuro de carbono cromatográfico - Emplear uno de grado apropiado.

Disulfuro de dioctadecilo - $C_{36}H_{74}S_2$ - (PM: 571,1) - Polvo blanco, prácticamente insoluble en agua.

Intervalo de fusión - Entre 53 y 58 °C.

5,5'-Ditiobis (ácido 2-nitrobenzoico) - (PM: 396,4) - $C_{14}H_8N_2O_8S_2$ - (*3-Carboxi-4-nitrofenil disulfuro; Reactivo de Ellman*) - Polvo amarillo; funde aproximadamente a 242 °C. Moderadamente soluble en alcohol.

3-(3,5-di-ter-butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo - $C_{35}H_{62}O_3$ - (PM: 530,9) - Polvo cristalino blanco o ligeramente amarillento. Prácticamente insoluble en agua; muy soluble en acetona y hexano; poco soluble en metanol.

Intervalo de fusión - Entre 49 y 55 °C.

Ditiol - (*Tolueno-3,4-ditiol. 4-Metilbenceno-1,2-ditiol*) - $C_7H_8S_2$ - (PM: 156,3) - Cristales blancos, higroscópicos. Soluble en metanol y soluciones de hidróxidos alcalinos. Almacenar en envases de cierre hermético.

Punto de fusión <260> - Aprox. a 30 °C.

Ditionito de sodio - Ver Hidrosulfito de sodio.

Ditiotreitol - $HSCH_2CH(OH)CH(OH)CH_2SH$ - (*Reactivo de Cleland; treo-1,4-Dimercapto-2,3-butanodiol; DTT*) - (PM: 154,3) - Agujas algo higroscópicas cuando se obtienen a partir de éter, fácilmente solubles en agua, acetona, etanol, acetato de etilo y éter.

Intervalo de fusión <260> - Entre 23 y 25 °C.

Ditizona - $C_6H_5N:NCSNHNHC_6H_5$ - (PM: 256,3) - (*Difeniltiocarbazona; Ácido fenilazotiofórmico 2-fenilhidrazida*) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Docusato sódico - (*Diocilsulfosuccinato de sodio*) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

1-Dodecanol - $CH_3(CH_2)_{11}OH$ - (PM: 186,3) - (*Alcohol dodecílico*) - Líquido transparente, incoloro. Cristaliza como escamas en solución de alcohol diluido.

Intervalo de fusión <260> - Entre 23 y 25 °C.

Dodecil sulfato de sodio - $C_{12}H_{25}SO_4Na$ - (PM: 288,4) - Polvo cristalino amarillo claro.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 800 mg y disolver en 100 ml de agua. Verter la solución a través de una columna de intercambio catiónico, recolectando el eluato en un recipiente

apropiado. Lavar la columna con 400 ml de agua, recolectando el lavado en el mismo recipiente que el eluato. Titular la solución con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) empleando fenolftaleína (SR) como indicador. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 28,84 mg de $C_{12}H_{25}SO_4Na$. Contiene no menos de 99,0 %.

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 200 mg no presentan más de 0,02 mg de Cl (0,01 %).

Metales pesados <590> - *Método II*. No más de 2 ppm.

Fosfato (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 10 g en un crisol y enfriar. El residuo, disuelto en 25 ml de ácido sulfúrico 0,5 N, no debe contener más de 0,01 mg de PO_4 (1 ppm).

Dulcitol - Ver Galactitol.

E

Edetato disódico - (*Etilendiaminotetraacetato disódico*) - $C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \cdot 2H_2O$ - (PM: 372,2) - Emplear un grado apropiado de la sal disódica dihidratada del ácido etilendinitrilo tetraacético.

n-Eicosano - $C_{20}H_{42}$ - (PM: 282,6) - Sólido blanco, cristalino.

Intervalo de fusión <260> - Entre 37 y 39 °C.

Enzima fosfática - Una preparación de enzimas de origen microbiano, con alta actividad de fosfatasa y de amilasa, siendo la primera propiedad la que la hace apropiada para emplearse en la liberación de tiamina de sus ésteres ortofosfato y pirofosfato. Polvo color crema brillante o algo gris. Fácilmente soluble en agua. Hidroliza 300 veces su peso de almidón en 30 minutos.

Actividad de amilasa - Transferir a un tubo de ensayo 5 ml de una solución (1 en 50) de almidón soluble en solución reguladora de acetato de sodio 0,2 M, pH 5 (que contenga 1,6 g de acetato de sodio anhidro en cada litro y ácido acético glacial suficiente para ajustar a pH 5) y agregar 4 ml de agua. Mezclar y colocar en un baño de agua a 40 °C. Agregar 1 ml de una solución que contiene 0,3 mg de la enzima fosfática, mezclar y observar el tiempo exacto. Luego de 30 minutos retirar 1,0 ml de la mezcla y agregarla a 5,0 ml de iodo 0,0005 N en un tubo de ensayo de 150 mm × 20 mm: se produce un color rojo transparente.

Eosina (eosina Y) - (*Tetrabromofluoresceína sódica*) - $C_{20}H_6Br_4Na_2O_5$ - (PM: 691,9) - Piezas o polvo de un color entre rojo y pardusco. 1 g se disuelve en aproximadamente 2 ml de agua y en 50 ml de alcohol.

Apariencia y color - Una solución (1 en 500) presenta una coloración entre amarillenta y rojo púrpura con fluorescencia verdosa. Una solución (1 en 12.000) en alcohol presenta una coloración entre rosada y rojo púrpura con fluorescencia amarillo verdosa. El agregado de ácidos minerales a una solución (1 en 100) produce un precipitado entre anaranjado y anaranjado rojizo de tetrabromofluoresceína. Al agregar 2 ml de solución saturada de hidróxido de sodio a 10 ml de una solución del colorante (1 en 100) se forma un precipitado rojo.

Epiandrosterona - $C_{19}H_{30}O_2$ - (PM: 290,4) - Polvo cristalino de color blanco.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromato-

grafía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno y etanol (9:1).

Procedimiento - Examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm. Se observa una sola mancha con trazas de impurezas.

Intervalo de fusión <260> - Entre 172 y 177 °C.

Equilenina - $C_{18}H_{18}O_2$ - (PM: 266,3) - Cristales o polvo cristalino incoloros o blancos. Insoluble en agua; soluble en cloroformo y dioxano; moderadamente soluble en alcohol.

Intervalo de fusión <260> - *Método II*. Entre 256 y 260 °C.

Rotación específica <170> - Entre + 85° y + 88°, determinada en una solución en dioxano que contiene 75 mg de equilenina cada 10 ml.

Máximos de absorción - Una solución de alcohol presenta máximos de absorción a 231, 282, 325 y 340 nm.

Eriocromo cianina R - $C_{23}H_{15}Na_3O_9S$ - (PM: 536,4) - Polvo oscuro, rojo pardusco. Fácilmente soluble en agua; insoluble en alcohol.

Solubilidad - 200 mg en 100 ml de agua producen una solución que permanece transparente y está exenta de materia no disuelta durante 30 minutos.

Pérdida por secado <680> - Secar al vacío sobre gel de sílice hasta peso constante: no pierde más de 2 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - 0,5 g tratados con 1 ml de ácido sulfúrico y 2 ml de ácido nítrico, producen entre 42,0 y 44,0 % de peso seco (teórico 42,9 % de Na_2SO_4).

Sensibilidad - Agregar 2 ml de una solución (1 en 1000) a 1 ml de solución de sulfato de aluminio (1 en 10.000), calentar a 37 ± 3 °C durante 5 minutos, enfriar y agregar 1 ml de acetato de sodio (SR): se produce un color fuerte entre rojo y rojo violáceo en no más de 5 minutos.

Eritritol - (*Mesoeritritol; 1,2,3,4-Butanotetrol*) - $C_4H_{10}O_4$ - (PM: 122,1) - Prismas tetragonales. Estable al aire. Muy soluble en agua proporcionando una solución transparente, incolora. Almacenar en un sitio frío o a temperatura ambiente en un área seca.

Intervalo de fusión <260> - Entre 118 y 120 °C.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 0,5 %.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,1 %.

Erucamida - (*(z)-Docos-13-enamida*) - (PM: 337,6) - $C_{22}H_{43}NO$ - Polvo o granulado blanco a amarillento. Prácticamente insoluble en agua;

muy soluble en cloruro de metileno; soluble en etanol.

Punto de fusión - Aproximadamente a 70 °C.

Escina - Mezcla de saponósidos relacionados, obtenida a partir de las semillas de *Aesculus hippocastanum* L. Polvo amorfo, fino, prácticamente blanco o ligeramente amarillento o rojizo.

Cromatografía -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía.

Fase móvil - Butanol, agua y ácido acético glacial (50:40:10).

Revelador - Anisaldehído (SR1).

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 20 µl de una solución de 1 mg de escina por ml de alcohol al 70 % v/v. Desarrollar el cromatograma hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, secar entre 100 y 105 °C, pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar entre 100 y 105 °C hasta la aparición de bandas rojas. El cromatograma una mancha principal con valor de R_f de 0,4.

Escualano - (2,6,10,15,19,23-Hexametilтетраcosano) - $C_{30}H_{62}$ - (PM: 422,8) - Líquido oleoso, incoloro. Fácilmente soluble en éter y aceites; poco soluble en acetona, alcohol, ácido acético glacial y metanol.

Densidad relativa <160> - Entre 0,811 y 0,813, a 20 °C.

Índice de refracción <230> - Entre 1,451 y 1,453, a 20 °C.

Estaño - Sn - (PA: 118,71) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Estearato de metilo - $C_{19}H_{38}O_2$ - (PM: 298,5) - Sólido cristalino casi blanco.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar recubierta con una capa 1 µm de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 300 °C. La temperatura de la columna se mantiene a 200 °C y se programa un aumento de 10 °C por minuto hasta 300 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico $C_{19}H_{38}O_2$ no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 40 y 42 °C.

Éster etílico de N-acetil-L-tirosina - $C_{13}H_{17}NO_4$ - (PM: 251,3) - Determinar si el material es apropiado según se indica en *Valoración de Quimotripsina*.

Estrona - (PM: 270,4) - Emplear un reactivo analítico de grado apropiado.

Etanol - Ver Alcohol etílico.

Etanolamina - (2-Aminoetanol) - C_2H_7NO - (PM: 61,1) - Líquido higroscópico, viscoso incoloro, transparente, miscible con agua y metanol; muy soluble en éter. Conservar en envase hermético.

Punto de fusión - Aprox. 11 °C.

Índice de refracción - Aprox. 1,454; determinado a 20 °C:

Densidad relativa - Aprox. 1,04; determinada a 20 °C.

Éter - Ver Éter etílico.

Éter absoluto - Ver Éter etílico anhidro.

Éter butílico - (*n*-Dibutil éter) - $C_8H_{18}O$ - (PM: 130,2) - Emplear uno de grado apropiado.

Éter de petróleo - (*Bencina de petróleo; Hexano solvente*) - Líquido transparente, volátil, de olor etéreo débil, similar al del petróleo. Prácticamente insoluble en agua; soluble en alcohol absoluto. Miscible con éter, cloroformo y la mayoría de los aceites fijos y volátiles.

Precaución - *Es muy inflamable. Mantener alejado de las llamas y almacenar en envases de cierre perfecto en un sitio fresco.*

Apariencia y color - Verter 100 ml, previamente mezclados en su envase original, en un tubo de comparación de color de 100 ml y comparar con un estándar, en un tubo similar, que contenga 2 ml de platino-cobalto (SR) en volumen similar: los dos líquidos son igualmente transparentes y exentos de material o sedimento en suspensión y cuando se observan a través de las columnas por luz transmitida, la muestra no posee color más oscuro que el estándar.

Olor - Su olor no es desagradable y no sugiere mercaptanos o tiofeno.

Intervalo de destilación (Ensayo para reactivos) - Destilar 100 ml: no se obtiene destilado por debajo de 30 °C y no menos de 100 % destila entre 30 y 60 °C.

Residuo de evaporación - Evaporar 150 ml (100 g) en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 30 minutos: el residuo no pesa más de 1 mg (0,001 %).

Acidez - Agitar 10 ml con 5 ml de agua durante 2 minutos y dejar separar las fases: la fase acuosa no colorea de azul el papel de tornasol rojo dentro de un intervalo de 15 segundos.

Aceites pesados y grasas - Verter gradualmente 10 ml sobre el centro de un papel de filtro limpio: no hay olor desagradable y ninguna mancha grasosa

visible en el papel una vez transcurridos 30 minutos.

Éter de petróleo para cromatografía - Cumple con las especificaciones para Éter de petróleo y con los requisitos del siguiente ensayo adicional.

Pureza espectral - Determinar en una celda de 1 cm a 300 nm, con un espectrofotómetro apropiado, frente al aire como blanco: su absorbancia no es mayor de 0,08.

Éter difenílico - Ver Difenil éter.

Éter etílico - (*Éter dietílico; Éter*) - $(C_2H_5)_2O$ - (PM: 74,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Éter etílico anhidro - (*Éter absoluto*) - $(C_2H_5)_2O$ - (PM: 74,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Éter isopropílico - Ver Diisopropil éter.

Éter monoetílico de etilenglicol - (*2-Etoxi-etanol*) - $C_4H_{10}O_2$ - (PM: 90,1) - Líquido transparente, incoloro de olor leve, característico. Miscible con agua, alcohol, éter y acetona.

Densidad relativa <160> - Aprox. 0,93.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 133 y 135 °C.

Éter, polietilenglicol fenil nonil - Ver (*p*-ter-Octilfenoxi) nonaetoxietanol.

4[(etilamino)metil]piridina - $C_8H_{12}N_2$ - (PM: 136,2) - Líquido amarillo pálido.

Densidad relativa <160> - Aprox. 0,98.

Índice de refracción <230> - Aprox. 1,156.

Punto de ebullición - Aprox. 98 °C.

Etilbenceno - C_8H_{10} - (PM: 106,2) - Líquido transparente e incoloro. Soluble en acetona y alcohol; prácticamente insoluble en agua. Emplear un reactivo analítico apropiado, no menos de 99,5 % peso en peso.

Índice de refracción - Aprox. 1,496 20 °C.

Punto de ebullición - Aprox. 135 °C.

4-Etilbenzaldehído - $C_2H_5C_6H_4CHO$ - (PM: 134,2) - Líquido incoloro a amarillo pálido.

Valoración - Disolver aproximadamente 600 mg, exactamente pesados, en una mezcla de 100 ml de alcohol y 25 ml de clorhidrato de hidroxilamina 1 M en un vaso de precipitados. Cubrir el vaso de precipitados con un vidrio de reloj. Calentar suavemente hasta que empiece a formarse un condensado en el vidrio de reloj. Dejar enfriar durante aproximadamente 30 minutos. Titular con hidróxido de sodio 0,5 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido

de sodio 0,5 N equivale a 67,09 mg de $C_2H_5C_6H_4CHO$. Contiene no menos de 98 %.

Etilendiaminotetraacetato disódico - Ver Ede-tato disódico.

Etilendiaminotetraacetato tetrasódico - (*Sal tetrasódica del ácido etilendinitrilo tetraacético*) - $C_{10}H_{12}N_2Na_4O_8$ - (PM: 380,2) - Polvo fino, blanco, cristalino. Soluble en agua.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 4 horas: no pierde más de 8 % de su peso.

Etilenglicol - $HOCH_2CH_2OH$ - (PM: 62,1) - Líquido transparente, incoloro, poco viscoso, higroscópico, prácticamente inodoro. Poco soluble en éter. Miscible con agua y alcohol.

Densidad relativa - Aprox. 1,11.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 194 y 200 °C.

Residuo de ignición - Evaporar 100 ml (110 g) en un cristizador, previamente pesado, sobre una llama hasta que los vapores continúen quemándose luego de retirar la llama. Dejar que los vapores se quemem hasta que la muestra se consuma. Someter a ignición a 800 ± 25 °C durante 1 hora, enfriar y pesar: el residuo no pesa más de 5,5 mg (0,005 %).

Acidez - Agregar 0,2 ml de rojo de fenol (SR) a 50 ml de agua y titular con hidróxido de sodio 0,1 N hasta punto final rojo. Agregar 50 ml (55 g) de etilenglicol y titular con hidróxido de sodio 0,1 N: no se requiere más de 1 ml para restaurar el color rojo (0,01 % como CH_3COOH).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 4,5 ml (5 g) no presenta más de 0,025 mg de Cl (5 ppm).

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 0,20 %.

Eucaliptol - Ver Cineol.

Eugenol - (*4-Alil-2-metoxifenol*) - $C_{10}H_{12}O_2$ - (PM: 164,2) - Líquido oleoso, incoloro o amarillo pálido. Por exposición al aire y a la luz, se colorea y se hace más viscoso. Miscible con aceites, aceites esenciales, alcohol y éter. Prácticamente insoluble en agua. Proteger de la luz.

Densidad relativa <160> - Aprox. 1,07.

Punto de ebullición - Aprox. 250 °C.

Para uso en cromatografía de gases, debe cumplir con el siguiente ensayo.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de vidrio de 60 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de fase estacionaria constituida por goma de polietilenglicol 20.000. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 270 °C. La temperatura de la columna se debe mantener a 60 °C durante 8 minutos, se programa

un ascenso de 3 °C por minuto hasta 180 °C, y se mantiene a esta temperatura durante 5 minutos. Se emplea helio como gas transportador, el caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto. La respuesta del pico principal no debe ser menor de 98,0 % de la suma de las respuestas de todos los picos.

Extracto de levadura - Un derivado soluble en agua, similar a peptona de células de levadura (*Saccharomyces*) preparado bajo condiciones óptimas, clarificado y secado hasta obtener un polvo amarillo rojizo o pardo, de olor característico pero no pútrido. Soluble en agua, proporcionando una solución amarilla parda, teniendo una reacción algo ácida. No contiene carbohidratos agregados. 1 g representa no menos de 7,5 g de levadura.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 5 % de su peso.

Residuo de ignición <270> - Someter a ignición 500 mg con 1 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 75 mg (15 %).

Proteína coagulable - Calentar una solución filtrada (1 en 20) a ebullición: no se forma precipitado.

Cloruro (Ensayo para reactivos) - No presenta más de 5 % de Cl, calculado como cloruro de sodio.

Compuestos nitrogenados (Ensayo para reactivos) - Determinar por el método Kjeldahl, empleando una muestra previamente secada a 105 °C hasta peso constante: contiene entre 7,2 y 9,5 % de N.

Contenido microbiano - Cumple con los requisitos del ensayo para *Contenido microbiano* en Digerido pancreático de caseína.

Extracto de carne - Concentrado de caldo de carne obtenido mediante la extracción de carne fresca, cocida con agua y evaporando el caldo a baja temperatura, generalmente al vacío, hasta que se obtenga un residuo espeso, pastoso. Masa color marrón, algo ácida, pastosa con olor a carne agradable. Almacenarlo en envases inactivos de cierre perfecto.

Para los siguientes ensayos, preparar una *Solución muestra* disolviendo 25 g en agua hasta obtener 250 ml de una solución prácticamente transparente y casi libre de sedimento.

Contenido de nitrógeno en las sustancias solubles en alcohol - Transferir una porción del filtrado y los lavados remanentes del ensayo para *Sustancias insolubles en alcohol*, correspondiente a 1 g de sólidos solubles en alcohol, a un matraz de Kjeldahl de 500 ml. Agregar aproximadamente 10 g de sulfato de potasio pulverizado y 20 ml de ácido sulfúrico. Calentar la mezcla a baja temperatura hasta que cese la espuma luego subir la temperatura y calentar

a ebullición hasta que la mezcla adquiera un color amarillo pálido o se convierta en prácticamente incolora. Enfriar el matraz, agregar aproximadamente 250 ml de agua y, con cuidado, solución de hidróxido de sodio (3 en 10) hasta que el contenido sea alcalino luego agregar 5 ml adicionales. Conectar el matraz inmediatamente a través de una trampa a un condensador, cuyo tubo de salida se sumerge bajo la superficie de 50,0 ml de ácido sulfúrico 0,1 N (SV) contenido en un matraz colector. Destilar la mezcla hasta recoger aproximadamente 100 ml de destilado en el ácido. Agregar rojo de metilo (SR) y titular el exceso de ácido con hidróxido de sodio 0,1 N (SV). Cada mililitro de ácido sulfúrico 0,1 N equivale a 1,401 mg de N. Contiene no menos de 60 mg de nitrógeno.

Valoración de nitrógeno como amoníaco - A 100 ml de *Solución muestra*, contenida en un matraz de Kjeldahl de 500 ml, agregar 5 g de carbonato de bario y 100 ml de agua y a través de una trampa conectada a un condensador cuyo tubo de salida inferior se sumerge bajo la superficie de 50,0 ml de ácido sulfúrico 0,1 N (SV) contenido en un matraz colector. Destilar la mezcla hasta recolectar aproximadamente 100 ml de destilado, agregar rojo de metilo (SR) y titular el exceso de ácido con hidróxido de sodio 0,1 N (SV). Cada mililitro de ácido sulfúrico 0,1 N equivale a 1,703 mg de NH₃. La cantidad de amoníaco encontrado no excede 0,35 % de los sólidos totales en la porción de *Solución muestra* tomada.

Sólidos totales - Distribuir 10 ml de *Solución muestra* sobre arena o asbesto limpio y seco, previamente pesado en una cápsula de porcelana y secar a 105 °C durante 16 horas: el residuo no pesa menos de 750 mg (75 %).

Residuo de ignición - Someter a ignición el residuo obtenido en el ensayo para *Sólidos totales* calentando la placa moderadamente: el residuo no excede 30 % de los sólidos totales.

Cloruros calculados como cloruro de sodio - Disolver la ceniza obtenida en el ensayo para *Residuo de ignición* en aproximadamente 50 ml de agua y cuidadosamente transferir a un matraz aforado de 100 ml. Agregar a la solución unas pocas gotas de ácido nítrico y 10,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV). Agregar agua a volumen y mezclar. Filtrar en un matraz seco a través de un filtro seco, rechazando los primeros 10 ml del filtrado. A 50,0 ml del filtrado posterior agregar 1 ml de sulfato férrico amónico (SR) y titular con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 5,844 mg de NaCl. El peso de cloruros calculado como cloruro de sodio obtenido, multiplicando por 2, no es mayor de 6 % de los sólidos totales.

Sustancias insolubles en alcohol - Transferir 25 ml de *Solución muestra* a un erlenmeyer de 100 ml, agregar 50 ml de alcohol y agitar. Recolectar el precipitado en un filtro, lavarlo tres veces con una mezcla de 2 volúmenes de alcohol y 1 volumen de agua y secar a 105 °C durante 2 horas: el peso del precipitado, representando los sólidos insolubles de alcohol, no es mayor de 10 % de los sólidos totales en la porción de *Solución muestra* tomada.

Nitrato - Calentar a ebullición 10 ml de *Solución muestra* durante 1 minuto con 1,5 g de carbón activado, agregar agua para reemplazar la pérdida por evaporación, filtrar y agregar 1 gota del filtrado a 3 gotas de una solución de difenilamina en ácido sulfúrico (1 en 100): no se produce color azul.

F

Factor X_a (Factor X Activado) para el ensayo de antifactor X_a - El Factor X_a es la enzima proteolítica obtenida a partir del plasma bovino, que escinde a la protrombina para formar trombina. Es una glicoproteína que tiene un peso molecular de 40.000. Por electroforesis en gel (ver 300. *Electroforesis*) la proteína principal de interés constituye no menos de 90 % de la cantidad total de zonas proteicas. Para emplear como un reactivo en el ensayo de Antifactor X_a, la enzima es activada por el veneno de serpiente de Russel, se retira el agente activante mediante cromatografía, la preparación se estabiliza con albúmina bovina y se liofiliza.

Actividad específica - No menos de 40 UI de Factor X_a por mg de proteína, cuando se ensaya del siguiente modo: mezclar 0,1 ml de una solución saturada de cefalina derivada de tromboplastina cerebral de conejos, equivalente a la tromboplastina de aproximadamente 20 mg de polvo de cerebroacetona de conejo por ml, en plasma bovino y 0,1 ml de cloruro de calcio 0,025 M; agregar de inmediato 0,1 ml de la solución de Factor X_a, correspondiente a una concentración de 0,01 mg de proteína específica por ml, e incubar a 37 °C: produce un coágulo en 15 segundos.

Ausencia de trombina - Una solución que contenga 3,0 UI de Factor X_a por ml en *Solución reguladora de pH 8,4* (ver *Heparina Sódica*) se incubaba a 20 °C en ausencia de iones calcio: no se produce exceso de coagulación del fibrinógeno puro dentro de un periodo de 24 horas.

Fenacetina - Emplear uno de grado apropiado.

1,10-Fenantrolina - (*Ortofenantrolina*) - (PM: 198,2) - C₁₂H₈N₂ · H₂O - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fenantrolina, clorhidrato de - C₁₂H₉ClN₂ · H₂O - (PM: 234,7) - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol.

Punto de fusión- Aprox. 215 °C, con descomposición.

Fenazona - (*Antipirina; 2,3-dimetil-1-fenil-3-pirazolin-5-ona*) - C₁₁H₁₂N₂O - (PM: 188,2) - Polvo cristalino incoloro.

Punto de fusión- Aprox. 112 °C.

dl-Fenilalanina - C₉H₁₁NO₂ - (PM: 165,2) - Emplear uno de grado apropiado.

3-Fenilfenol - (*m-Fenilfenol*) - C₆H₅C₆H₄OH - (PM: 170,2) - Polvo cristalino blanco o casi blanco.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m × 0,25 mm recubierta por una fase estacionaria constituida por aceite de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y 310 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un ascenso de 15 °C por minuto hasta 250 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de 3-fenilfenol no es menor de 98 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 76 y 79 °C.

Fenil isocianato - C₆H₅NCO - (PM: 119,1) - Líquido transparente, incoloro o amarillo pálido de volatilidad media.

Precaución - El Fenil isocianato es un violento lacrimatorio y el vapor es altamente tóxico. Manipular con cuidado.

Valoración - Transferir 250 mg, exactamente pesados, a un erlenmeyer de 250 ml con tapón de vidrio. Tomar precauciones para evitar pérdidas por volatilización y evitar la respiración del vapor. Agregar 20 ml de solución de butilamina (25 g de butilamina, previamente secados sobre pellets de hidróxido de potasio, diluidos a 1 litro con dioxano), insertar el tapón en el erlenmeyer y dejar reposar durante 15 minutos. Agregar unas pocas gotas de rojo de metilo (SR) y 25 ml de agua y titular el exceso de amina con ácido sulfúrico 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco empleando 20 ml de la solución de butilamina (ver *Titulaciones residuales* en 780. *Volumetría*). Restar el volumen de ácido sulfúrico 0,1 N consumido en la titulación de la muestra de aquél consumido en la titulación del blanco. Cada mililitro de ácido sulfúrico 0,1 N, representando por esta diferencia, equivale a 11,91 mg de C₆H₅NCO. Contiene no menos de 97,0 % de C₆H₅NCO.

Fenilhidracina - C₆H₅NHNH₂ - (PM: 108,1) - Líquido incoloro o ligeramente amarillento, altamente refractivo. [NOTA: proteger de la luz y destilar bajo presión reducida antes de emplear.]

Temperatura de solidificación <180> - No menor de 16 °C.

Materia insoluble - Agitar 1 ml con 20 ml de ácido acético diluido: la solución resultante es transparente o casi transparente.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 ml con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo pesa no más de 1 mg (0,1 %).

Fenol - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fenolulfotaleína - Emplear Rojo de fenol (ver *Indicadores en Indicadores, papeles y papeles indicadores*).

2-Fenoxietanol - $C_6H_5OCH_2CH_2OH$ - (PM: 138,2) - Líquido incoloro, algo viscoso. Soluble en agua. Miscible con alcohol, acetona y glicerina. Densidad: aproximadamente 1,107.

Valoración - A 2 g, exactamente pesados, agregar 10 ml de una solución recientemente preparada mediante disolución de 25 g de anhídrido acético en 100 g de piridina anhidra. Agitar por rotación para mezclar los líquidos, calentar en un baño de vapor durante 45 minutos, agregar 10 ml de agua, calentar durante 2 minutos adicionales y enfriar. Agregar 10 ml de alcohol *n*-butílico, agitar vigorosamente, agregar fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 1 N equivale a 138,2 mg de $C_8H_{10}O_2$. Contiene no menos de 99 %.

Fenol - Agregar 0,2 ml a 20 ml de agua, mezclar y, a 5 ml de la mezcla, agregar 0,2 ml de reactivo de Millon. Calentar la solución a 60 °C durante 90 segundos y dejar reposar: ningún color rosado o rojo se produce dentro de 1 minuto.

Ferricianuro de potasio - $K_3Fe(CN)_6$ - (PM: 329,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ferrocianuro de potasio - $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ - (PM: 422,4) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ferrocianuro de sodio - $Na_4Fe(CN)_6 \cdot 10H_2O$ - (PM: 484,1) - Cristales o gránulos amarillos. Fácilmente soluble en agua.

Valoración - Disolver 2 g, exactamente pesados, en 400 ml de agua, agregar 10 ml de ácido sulfúrico y titular con permanganato de potasio 0,1 N (SV). Cada mililitro de permanganato de potasio 0,1 N equivale a 48,41 mg de $Na_4Fe(CN)_6 \cdot 10H_2O$. Contiene no menos de 98 %.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 10 g (0,01 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - Disolver 1 g en 75 ml de agua, agregar una solución preparada disolviendo 1,2 g de sulfato cúprico en 25 ml de agua, mezclar y dejar reposar durante 15 minutos. A 20 ml del líquido decantado transparente agregar 2 ml de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata (SR): si aparece turbidez no excede la de un control que contenga 0,02 mg de Cl, 2 ml de ácido nítrico, 1 ml de nitrato de plata (SR) y sulfato cúprico suficiente para armonizar el color de la solución muestra.

Sulfato - Disolver 5 g en 100 ml de agua sin calentar, filtrar y agregar al filtrado 0,25 ml de ácido acético glacial y 5 ml de cloruro de bario (SR): no se produce turbidez en 10 minutos (aproximadamente 0,01 % como SO_4).

Ferroína - Transferir 0,7 g de sulfato férrico y 1,76 g de clorhidrato de fenantrolina a un matraz aforado de 100 ml, disolver en 70 ml de agua y completar a volumen con el mismo solvente.

Ensayo de sensibilidad - A 50 ml de ácido sulfúrico diluido, agregar 0,15 ml de una solución de 2,5 mg de tetróxido de osmio por ml de ácido sulfúrico 0,05 M y agregar 0,1 ml de ferroína. Después del agregado de 0,1 ml de nitrato cérico amónico 0,1 M, el color vira del rojo al verde pálido.

Floroglucinol - $C_6H_3(OH)_3 \cdot 2H_2O$ - (PM: 162,1) - Cristales blancos o blanco amarillentos o polvo cristalino. Algo soluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Solubilidad en alcohol - Disolver 1 g en 20 ml de alcohol: resulta una solución transparente y completa.

Intervalo de fusión <260> - *Método I*. Entre 215 y 219 °C.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,1 %).

Diresorcinol - Calentar a ebullición una solución de 100 mg en 10 ml de anhídrido acético, enfriar la solución y superponerla sobre 10 ml de ácido sulfúrico: ningún color violeta aparece en la zona de contacto de los líquidos.

Fluoreno - $C_{13}H_{10}$ - (PM: 166,2) - Cristales o polvo blanco o casi blanco. Soluble en disulfuro de carbono, éter y alcohol caliente; fácilmente soluble en ácido acético glacial.

Ensayo de solubilidad - 1 g se disuelve en 10 ml de acetona para proporcionar una solución transparente y completa.

Intervalo de fusión <260> - Entre 113 y 117 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 2 °C.

Fluorescamina - $C_{17}H_{10}O_4$ - (PM: 278,3) - Polvo blanco o casi blanco. Poco soluble en agua y cloroformo; fácilmente soluble en cloruro de metileno; soluble en alcohol.

Valoración - Disolver aproximadamente 600 mg en 75 ml de dimetilformamida y titular con metóxido de litio 0,1 N hasta punto final azul, empleando azul de timol al 1 % en dimetilformamida como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de metóxido de litio 0,1 N equivale a 27,83 mg de $C_{17}H_{10}O_4$. Contiene no menos de 99 %.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 4 horas: no pierde más de 0,5 % de su peso.

Fluoresceína sódica - $C_{20}H_{10}Na_2O_5$ - (PM: 376,3) - Polvo higroscópico rojo-anaranjado. Fácilmente soluble en agua; poco soluble en alcohol. Su solución en agua es de color rojo amarillento y presenta una fuerte fluorescencia verde amarillenta que desaparece cuando se acidifica la solución y reaparece cuando se neutraliza o se alcaliniza.

Pérdida por secado <680> - Secar a 120 °C hasta peso constante: no pierde más de 7,0 % de su peso.

4'-Fluoroacetofenona - $FC_6H_4COCH_3$ - (PM: 138,1) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m × 25 mm recubierta con una capa de 1 μm de goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 200 y 250 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 100 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 250 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de $FC_6H_4COCH_3$ no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Aproximadamente 1,510, a 20 °C.

Fluoruro de amonio - NH_4F - (PM: 37,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fluoruro de sodio - NaF - (PM: 42,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Formaldehído - CH_2O - (PM: 30,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Formamida - $HCONH_2$ - (PM: 45,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Preparación para la valoración de digitoxina - Para garantizar la ausencia de amoníaco, proceder del siguiente modo. Agitar una cantidad apropiada de formamida con aproximadamente 10 % de su peso de carbonato de potasio anhidro durante 15 minutos y filtrar. Destilar el filtrado en un aparato totalmente de vidrio bajo vacío a una presión de aproximadamente 25 mm Hg o menor. Descartar la primera porción del destilado que contiene agua y recolectar la fracción que destila aproximadamente a 115 °C a una presión de 25 mm Hg o a 101 °C a una presión de 12 mm Hg. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto.

Formiato de amonio - (*Sal de amonio del ácido fórmico*) - CH_5NO_2 - (PM: 63,1) - Emplear uno de grado apropiado.

Fosfatasa alcalina - Emplear uno de grado apropiado.

Fosfato amónico de sodio - $NaNH_4HPO_4 \cdot 4H_2O$ - (PM: 209,1) - Cristales incoloros o gránulos blancos. Fácilmente soluble en agua; insoluble en alcohol. Es eflorescente al aire y pierde amoníaco.

Materia insoluble y precipitado de hidróxido de amonio - Disolver 10 g en 100 ml de agua, agregar 10 ml de amoníaco (SR) y calentar en un baño de vapor durante 1 hora. Si se forma precipitado, filtrar, lavar bien con agua y someter a ignición: el precipitado sometido a ignición no pesa más de 1 mg (0,01 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,02 mg de Cl (0,002 %).

Metales pesados - Disolver 3 g en 25 ml de agua, agregar 15 ml de ácido sulfúrico 1 N luego agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): ningún color pardo que se desarrolle en 1 minuto debe ser más oscuro que el de un control que contenga 3 ml de *Solución estándar de plomo* (ver 600. *Límite de plomo*) y 0,5 ml de ácido sulfúrico 1 N (0,001 %).

Nitrato - Disolver 1 g en 10 ml de agua, agregar 0,1 ml de índigo carmín (SR) luego agregar, con agitación, 10 ml de ácido sulfúrico: el color azul persiste durante 10 minutos (aproximadamente 0,005 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método II*. Disolver 10 g en 100 ml de agua, agregar 5 ml de ácido clorhídrico y filtrar si fuera necesario: el filtrado no produce más de 5 mg de residuo (0,02 %).

Fosfato de amonio - Ver Fosfato dibásico de amonio.

Fosfato de dodeciltrietilamonio 0,5 M - $[C_{12}H_{25}N \cdot (C_2H_5)_3]_3PO_4$ - (PM: 906,0) - Emplear uno de grado apropiado.

5-Fosfato de piridoxal - (PM: 265,2) - 4- $CHOC_5HN-2-CH_3,3-OH$, 5- $CH_2PO_4H_2 \cdot H_2O$ - Polvo amarillo brillante.

Valoración - Transferir aproximadamente 500 mg, exactamente pesados, a un erlenmeyer apropiado. Agregar 20,0 ml de hidróxido de sodio 0,5 N (SV) y 130 ml de agua y calentar a reflujo durante 1 hora. Enfriar, transferir la solución a un vaso de precipitados de 250 ml, lavar el erlenmeyer con aproximadamente 30 ml de agua y agregar el lavado al vaso de precipitados. Titular la solución con ácido clorhídrico 0,5 N (SV), determinando el primer punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N consumido equivale a 8,839 mg de $C_8H_{10}NO_6P \cdot H_2O$. Contiene no menos de 95 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 140 y 143 °C, con descomposición.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa.* Entre 8,5 y 9,5 %.

Fosfato de tetrabutilamonio - $(C_4H_9)_4NH_2PO_4$ - (PM: 339,5) - Polvo blanco a casi blanco. Soluble en agua.

Valoración - Disolver aproximadamente 1,5 g, exactamente pesados, en 100 ml de agua. Titular sin demora con hidróxido de sodio 0,5 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,5 N equivale a 169,7 mg de $(C_4H_9)_4NH_2PO_4$. Contiene no menos de 97,0 %.

Fosfato de tributilo - (*Tri-n-butyl fosfato*) - $(C_4H_9)_3PO_4$ - (PM: 266,3) - Líquido transparente, casi incoloro. Poco soluble en agua. Miscible con solventes orgánicos comunes. Densidad relativa: aproximadamente 0,976.

Índice de refracción - Entre 1,4205 y 1,4225.

Fosfato dibásico de amonio - (*Fosfato de amonio*) - $(NH_4)_2HPO_4$ - (PM: 132,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fosfato dibásico de potasio - (*Fosfato ácido dipotásico; Fosfato dipotásico*) - K_2HPO_4 - (PM: 174,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fosfato dibásico de sodio - (*Fosfato disódico; Fosfato ácido disódico; Fosfato sódico, dibásico, heptahidrato*) - $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ - (PM: 268,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fosfato dibásico de sodio anhidro - (*Fosfato de hidrógeno disódico anhidro*) (para soluciones reguladoras) - Na_2HPO_4 - (PM: 142,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fosfato disódico - Ver Fosfato dibásico de sodio.

Fosfato monobásico de amonio - (*Fosfato diácido de amonio*) - $NH_4H_2PO_4$ - (PM: 115,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fosfato monobásico de potasio - (*Bifosfato de potasio; Fosfato diácido de potasio*) - KH_2PO_4 - (PM: 136,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fosfato monobásico de sodio - $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ - (PM: 138,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fosfato tribásico de sodio - $Na_3PO_4 \cdot 12H_2O$ - (PM: 380,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fosfito de tris(2,4-di-ter-butilfenilo) - $C_{42}H_{63}O_3P$ - (PM: 647) - Polvo blanco. Intervalo de fusión: entre 182 y 186 °C.

Fosfito sódico - (*Fosfito disódico; fosfonato sódico*) - $Na_2HPO_3 \cdot 5H_2O$ - (PM: 216,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fosfonoformiato de trietilo - (*(Dietoxifosforil)formiato de etilo*) - $C_7H_{15}O_5P$ - (PM: 210,2) - Líquido incoloro.

Punto de ebullición (Ensayo para reactivos) - Aprox. 135 °C.

Fósforo rojo - P - (PA: 30,97) - Polvo rojo oscuro. Insoluble en agua y en ácidos diluidos; soluble en alcohol absoluto.

Fósforo amarillo - Agitar 20 g con 75 ml de disulfuro de carbono en un recipiente con tapón de vidrio y dejar reposar en la oscuridad de la noche a la mañana. Filtrar y lavar el residuo con disulfuro de carbono hasta que el filtrado, recolectado en una probeta, sea de 100 ml. Evaporar el solvente a 10 ml sumergiendo la probeta en agua caliente. Sumergir una tira de papel de sulfato cúprico en el solvente restante: no se produce color más fuerte que en una tira similar sumergida en 10 ml de una solución en disulfuro de carbono que contiene 3 mg de fósforo amarillo (0,015 % como P).

Sustancias solubles - Digerir 2 g con 30 ml de ácido acético en un baño de vapor durante 15 minutos. Enfriar, diluir con agua a 40 ml y filtrar. Evaporar 20 ml del filtrado en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 2 horas: el residuo no pesa más de 6 mg (0,6 %).

Ftalato ácido de potasio - $C_8H_5KO_4$ (PM: 204,2) — Cristales blancos o casi blancos, soluble en agua y ligeramente soluble en alcohol. Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ftalato de bis(2-etilhexilo) - (PM: 390,6) - $C_6H_4-1,2-[COOCH_2(C_2H_5)CH(CH_2)]_2$ - Líquido incoloro o amarillo claro.

Índice de refracción - Entre 1,4855 y 1,4875, a 20 °C.

Ftalato de dibutilo - $C_{16}H_{22}O_4$ - (PM: 278,3) - Líquido transparente, incoloro.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 2 g y transferirlos a un erlenmeyer apropiado. Agregar 25,0 ml de hidróxido de sodio 1 N y 30 ml de alcohol isopropílico y mezclar. Digerir la mezcla a una temperatura cercana al punto de ebullición durante 30 minutos y luego enfriar en un baño de agua a temperatura ambiente. Agregar fenoltaleína (SR) y titular con ácido sulfúrico 1 N (SV) hasta la desaparición del color rosado. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias.

Cada mililitro de ácido sulfúrico 1 N consumido equivale a 139,2 mg de $C_{16}H_{22}O_4$. Contiene no menos de 98 %.

Índice de refracción <230> - Entre 1,491 y 1,493, a 20 °C.

Contenido ácido - Pesar exactamente alrededor de 10 g y disolver en 100 ml de una mezcla de alcohol y éter (1:1). Agregar fenolftaleína (SR) y titular de inmediato con hidróxido de potasio alcohólico 0,05 N (SV). Cada mililitro de hidróxido de potasio alcohólico 0,05 N equivale a 4,15 mg de ácido ftálico. Contiene no más de 0,02 %.

Ftalato de dipropilo - $C_{14}H_{18}O_4$ - (PM: 250,3) - Líquido viscoso, incoloro.

Valoración -

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 230 nm y una columna de 15 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice porosa de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal es de aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo y agua (52:48).

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 20 μl (ver 100. *Cromatografía*). El área del pico $C_{14}H_{18}O_4$ no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,495 y 1,499, a 20 °C.

Ftalazina - $C_8H_6N_2$ - (PM: 130,2) - Cristales de color amarillo o pardo.

Intervalo de fusión <260> - Entre 89 y 92 °C.

o-Ftaldehído - (*Benceno-1,2-dicarboxaldehído*) - $C_8H_6O_2$ - (PM: 134,1) - Polvo cristalino amarillo. [NOTA: conservar en envases herméticos inactivos].

Punto de fusión - Aprox. 55 °C

Ftalimida - $C_8H_5NO_2$ - (PM: 147,1) - Polvo blanco.

Valoración -

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 230 nm y una columna de 15 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por partículas porosas de sílice de 5 a 10 μm de diámetro. El caudal es de aproximadamente 2 ml por minuto.

Fase móvil - Isooctano y metil *ter*-butil éter (88:12).

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 20 μl (ver 100. *Cromatografía*). El área del pico de $C_8H_5NO_2$ no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 233 y 235 °C, con descomposición.

Fucsina básica - Constituye una mezcla de clorhidratos de rosanilina y de pararrosanilina. Cristales o fragmentos cristalinos con un lustre brillante de color bronce verdoso. Soluble en agua, alcohol y alcohol amílico.

A 10 ml de una solución (1 en 500) agregar 10 ml de amoníaco (SR) y 500 mg de polvo de cinc y agitar la mezcla: la solución se torna incolora. Colocar unas pocas gotas de la solución decolorada sobre un papel de filtro y cerca, en el mismo papel, colocar unas pocas gotas de ácido clorhídrico diluido: se desarrolla un color rojo en la zona de contacto.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 5,0 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 3 mg (0,3 %).

Furfural - C_4H_3OCHO - (PM: 96,1) - Líquido transparente e incoloro cuando está recientemente destilado, pero en seguida adquiere un color pardo rojizo. Soluble en agua. Miscible con alcohol. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto. Debe destilarse en el momento de ser empleado.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 159 y 162 °C.

G

Galactitol - (*Dulcitol*) - $C_6H_{14}O_6$ - (PM: 182,2)
- Cristales blancos o polvo cristalino. Estable al aire. 1 g se disuelve en 30 ml de agua para proporcionar una solución transparente, incolora. Almacenar en un sitio fresco o a temperatura ambiente en un sitio seco.

Intervalo de fusión <260> - Entre 188 y 189 °C.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*.
No más de 0,5 %.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,1 %.

Gel de sílice - SiO_2 - Amorfo, en parte hidratado en forma de gránulos cristalinos de tamaño variable. Cuando se emplea como desecante, con frecuencia se recubre con una sustancia que cambia de color cuando se agota su capacidad de absorber agua. Tales productos coloreados se pueden regenerar (es decir, se puede recuperar su capacidad de absorber agua) calentando a 110 °C hasta que el gel recupere el color original.

[NOTA: los siguientes procedimientos y límites están diseñados sólo para probar el grado desecante de gel de sílice.]

Pérdida por ignición - Someter a ignición 2 g, exactamente pesados, a 950 ± 50 °C hasta peso constante: no pierde más de 6,0 % de su peso.

Absorción de agua - Transferir aproximadamente 10 g a un recipiente de pesaje, previamente pesado, y pesar. Luego colocar el recipiente, sin tapón, durante 24 horas en un envase cerrado cuya atmósfera se mantendrá a una humedad relativa de 80 % equilibrándola con ácido sulfúrico cuya densidad relativa sea 1,19. Pesar nuevamente: el aumento de peso no es menor de 31,0 % del peso de la muestra.

Gel de sílice con indicador de fluorescencia para cromatografía - Mezcla de gel de sílice con una sustancia fluorescente apropiada.

Gel de sílice con grupos amino químicamente unidos con indicador de fluorescencia para cromatografía - Emplear uno de grado apropiado.

Gel de sílice dimetilsilanizado con indicador de fluorescencia para cromatografía - Emplear uno de grado apropiado.

Gel de sílice libre de aglutinante - Gel de sílice para uso cromatográfico formulado sin aglutinante, ya que las formas activadas del gel de sílice se emplean como único agente aglutinante.

Gel de sílice octadecilsilanizado para cromatografía - Emplear uno de grado apropiado.

Gel de sílice octadecilsilanizado con indicador de fluorescencia para cromatografía - Emplear uno de grado apropiado.

Gel de sílice para cromatografía - Emplear uno de grado apropiado.

Gel de sílice poroso - Emplear uno de grado apropiado para cromatografía de líquidos de alta eficacia.

Gingenósido Rb_1 -
((20-S)-3 β -di-D-glucopiranosil-20-di-D-glucopiranosilprotopanaxadiol) - $C_{54}H_{92}O_{23} \cdot 3H_2O$ - (PM: 1.163) - Sólido incoloro. Soluble en agua, alcohol y metanol.

Punto de fusión <260> - Aprox. 199 °C.

Rotación específica <170> - +11,3 °, determinada a 20 °C en una solución que contenga 10 mg por ml en metanol.

Agua <120> - No más de 6,8%.

Valoración - Proceder según se indica en *Valoración en Raíz de Ginseng Oriental*. Emplear una solución de 0,3 mg de gingenósido Rb_1 por ml de metanol como solución muestra. Debe contener no menos de 95,0 % calculado por el procedimiento de normalización.

Gingenósido Rg_1 -
((20-S)-6 β -D-glucopiranosil-D-glucopiranosilprotopanaxatriol) - $C_{42}H_{72}O_{14} \cdot 2H_2O$ - (PM: 837) - Sólido incoloro. Soluble en agua, alcohol y metanol.

Intervalo de fusión <260> - Entre 188 y 191 °C.

Rotación específica <170> - +31,2 °, determinada a 20 °C en una solución que contenga 10 mg por ml en metanol.

Agua <120> - No más de 4,8%.

Valoración - Proceder según se indica en *Valoración en Raíz de Ginseng Oriental*. Emplear una solución de 0,3 mg de gingenósido Rg_1 por ml de metanol como solución muestra. Debe contener no menos de 95,0 % calculado por el procedimiento de normalización.

Gitoxina - $C_{41}H_{64}O_{14}$ - (PM: 780,9) - Polvo blanco, cristalino. Prácticamente insoluble en agua, cloroformo y éter; poco soluble en piridina y alcohol diluido. Funde aproximadamente a 250 °C, con descomposición.

Rotación específica <170> - Entre +3,8° y +4,8°, determinado en una solución de piridina que contenga 10 mg por ml, con el empleo de una luz de mercurio a 546,1 nm; entre +21° y +25°, determinado en una solución de cloroformo y

metanol (50:50) que contiene 5 mg por ml, empleando luz de sodio.

Aptitud - Disolver 10 mg de *Digitoxina SR-FA*, previamente secada, 10 mg de *Digoxina SR-FA* previamente secada y 10 mg de gitoxina, en porciones separadas de 5 ml de una mezcla de cloroformo y metanol (2:1) y diluir cada uno con mezcla solvente adicional a 10 ml. Luego proceder según se indica en el *Ensayo de identificación* para *Digoxina*. El cromatograma de gitoxina presenta una mancha fluorescente, ubicada entre las manchas de digoxina y digitoxina.

Glacial, ácido acético - Ver Ácido acético glacial.

Glicerina - (*Glicerol*) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Glicocolato de sodio - $C_{26}H_{42}NNaO_6$ - (PM: 487,6) - Polvo de color blanco o canela, inodoro o prácticamente inodoro. Es higroscópico. Fácilmente soluble en agua y alcohol.

Rotación específica <170> - Entre +28° y +31°, calculada sobre la sustancia seca (se torna anhidro al secar a 100 °C durante 2 horas), determinada a 20 °C en una solución que contenga 10 mg por ml.

Determinación de nitrógeno <200> - *Método I*. Entre 2,6 y 3,2 % de N, calculado sobre la sustancia seca.

Guayacol - (*o-Metoxifenol*) - $C_7H_8O_2$ - (PM: 124,1) - Líquido refractivo entre incoloro y amarillento, con un olor característico. Moderadamente soluble en agua; soluble en solución de hidróxido de sodio; miscible con alcohol, cloroformo, éter y ácido acético glacial.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver *100. Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,8 m × 3 mm con fase líquida constituida por un compuesto de polietilenglicol (p.m.p aproximadamente 15.000 [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido.]), sobre un soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C, de malla 60 a 80 [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad, pero no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector, la columna y el detector a aproximadamente 180, 200 y 280 °C, respectivamente. Se emplea helio como gas transportador. El tiempo de retención es aproximadamente 8 minutos. Presenta una pureza no menor a 98 %.

Índice de refracción - Entre 1,5430 y 1,5450, a 20 °C.

H

Hemateína - $C_{16}H_{12}O_6$ - (PM: 300,3) - Preparada a partir de extracto de leño o de hematoxilina por tratamiento con amoníaco y exposición al aire. Cristales pardos rojizos con un lustre metálico verde amarillento. Poco soluble en agua (aproximadamente 1 en 1700), alcohol y éter; insoluble en cloroformo; fácilmente soluble en solución diluida de amoníaco para formar una solución de color rojo púrpura oscuro y en solución acuosa de hidróxido de sodio (1 en 50) para formar una solución de color rojo brillante, observada en cada caso a través de una capa de 1 cm de profundidad. Funde a una temperatura por encima de 200 °C y tiende a descomponerse a 250 °C.

Hematoxilina - (*Hidroxibrasilina*) - $C_{16}H_{14}O_6 \cdot 3H_2O$ - (PM: 356,3) - Sustancia cristalina obtenida a partir del corazón del leño de *Haematoxylon campechianum* Linneo (Fam. Leguminosae). Prismas incoloros a amarillos. Muy poco soluble en agua fría y éter; rápidamente soluble en agua caliente y alcohol caliente. Cuando se expone a la luz, adquiere un color rojo y proporciona una solución amarilla. Se disuelve en amoníaco (SR) y en soluciones de hidróxidos alcalinos y carbonatos. Cuando se disuelve en solución de alumbre desarrolla un color rojo; en solución de cloruro estañoso un color rosa y en soluciones de sales cúpricas un color gris verdoso. Se torna gradualmente negro en solución de dicromato de potasio. Almacenar la hematoxilina y sus soluciones en envases inactivos y protegidas del aire.

Heparina - Emplear *Heparina Sódica*.

HEPES - (*Ácido N-(2-hidroxietil)piperazina-N'-2-etanosulfónico*) - $C_6H_{18}N_2O_4S$ - PM: 238,3 - Polvo blanco.

Punto de fusión - Aprox. 236 °C, con descomposición.

Heptadecanoato de metilo - $C_{18}H_{36}O_2$ - (PM: 284,5) - Escamas blancas, cristalinas.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μ m de fase estacionaria constituida por 90 % de 3-cianopropil silicona y 10 % de fenilmetilsilicona. Mantener el inyector y el detector a 220 °C. La temperatura de la columna se mantiene a 180 °C y se programa un ascenso de 4 °C por minuto hasta alcanzar 220 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico $C_{18}H_{36}O_2$ no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 31 y 32 °C.

n-Heptano - Ver *n-Heptano* para cromatografía.

n-Heptano para cromatografía - Líquido transparente, incoloro, volátil e inflamable; constituido esencialmente por C_7H_{16} . Presenta olor característico. Prácticamente insoluble en agua; soluble en alcohol absoluto. Miscible con éter, cloroformo y con la mayoría de los aceites fijos y volátiles.

[NOTA: el *n-Heptano* puede requerir purificación mediante el pasaje a través de una columna de gel de sílice, empleando una relación de aproximadamente 25 g de gel por cada 100 ml de *n-heptano* y destilación fraccionada posterior.]

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 94,5 y 99,0 °C.

Pureza espectral - Determinar la absorbancia en una celda de 1 cm, a 250 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando agua como blanco: no es mayor de 0,10.

Residuo en evaporación - Cumple con los requisitos del ensayo para *Residuo en evaporación en Éter de petróleo*.

1-Heptanosulfonato de sodio - $C_7H_{15}NaO_3S$ - (PM: 202,3) - Emplear uno de grado apropiado.

2,2',2'',6,6',6''-hexa-ter-butil-4,4',4''-[(2,4,6-tri-metil-1,3,5-bencenotriil)trismetileno] trifenol - $C_{54}H_{78}O_3$ - (PM: 775) - Polvo cristalino, prácticamente insoluble en agua; soluble en acetona; poco soluble en alcohol. Punto de fusión: aproximadamente a 244°C.

Hexadecil hexadecanoato - (*Hexadecil palmitato; Palmitato de cetilo*) - $C_{32}H_{64}O_2$ - (PM: 480,9) - Emplear uno de grado apropiado.

Hexametildisilazano - $C_6H_{19}NSi_2$ - (PM: 161,4) - Líquido transparente, incoloro, de olor característico.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 1,8 m \times 2 mm con una fase estacionaria constituida por 50 % de fenil silicona y 50 % de metilpolisiloxano, sobre soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector

y el detector a 100 y 310 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 35 °C durante 5 minutos y se programa un ascenso de 8 °C por minuto hasta alcanzar 200 °C. Se emplea helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 40 ml por minuto. Presenta una pureza de no menos de 95 %.

Residuo después de la evaporación - Transferir 200 g a un cristizador y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Secar el residuo a 105 °C durante 1 hora, enfriar y pesar: no se encuentra más de 0,0025 % de residuo.

Hexametilenimina - (*Homopiperidina*) - $C_6H_{12}NH$ - (PM: 99,2) - Líquido incoloro a casi incoloro.

Índice de refracción - Entre 1,4640 y 1,4660, a 20 °C.

Hexametilentetramina - (*Hexamina; Metenamina; Urotropina*) - $C_6H_{12}N_4$ - (PM: 140,2) - Polvo cristalino incoloro, muy soluble en agua.

Hexanitrodifenilamina - (*Dipicrilamina*) - $C_{12}H_5N_7O_{12}$ - (PM: 439,2) - Polvo o prismas de color amarillo oro. *Precaución* - *Es explosivo*. Por lo general, contiene aproximadamente 15 % de agua como medida de seguridad. Insoluble en agua, alcohol, acetona y éter; soluble en ácido acético glacial y álcalis.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 16 %.

n-Hexano - C_6H_{14} - (PM: 86,2) - Para espectrofotometría generalmente es una mezcla de varios isómeros de hexano (C_6H_{14}), predominantemente *n*-hexano y metilciclopentano (C_6H_{12}). Emplear un reactivo analítico apropiado.

Hexanofenona - $C_{12}H_{16}O$ - (PM: 176,3) - Líquido amarillo.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m × 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de una fase estacionaria constituida por 50 % de fenil silicona y 50 % de metilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a 280 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 180 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico $C_{12}H_{16}O$ no es menor de 98 % del área total.

Índice de refracción <230> - $1,511 \pm 0,002$, a 20°C.

Hexano solvente - Ver Éter de petróleo.

1-Hexanosulfonato de sodio - $C_6H_{13}NaO_3S$ - (PM: 188,2) - Emplear uno de grado apropiado.

Hexilamina - (*Hexanamina*) - $C_6H_{15}N$ - (PM: 101,2) - Líquido incoloro. Soluble en alcohol y éter; poco soluble en agua.

Índice de refracción <230> - Aprox. 1,418.

Intervalo de ebullición - Entre 127 y 131 °C.

Densidad relativa - Aprox. 0,766 a 20 °C.

Hidrato de cloral - Emplear *Hidrato de cloral*.

Hidrato de hidracina al 85 % en agua - $(NH_2)_2 \cdot H_2O$ - (PM: 50,1) - Líquido incoloro.

Valoración - Transferir 600 mg, exactamente pesados, a un matraz aforado de 100 ml. Completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 10 ml a un vaso de precipitados, agregar 1,0 g de bicarbonato de sodio y 50,0 ml de iodo 0,1 N (SV). Titular el exceso de iodo con tiosulfato de sodio 1 N (SV) empleando almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de iodo 0,1 N equivale a 12,52 mg de $(NH_2)_2 \cdot H_2O$. Contiene no menos de 83 %.

Hidrazida del ácido isonicotínico - Emplear *Isoniazida*.

Hidrógeno ftalato de potasio - (*Benceno-1,2-dicarboxilato ácido de potasio*) - $C_8H_5KO_4$ - (PM: 204,2) - Cristales blancos. Solubles en agua; poco solubles en alcohol.

Hidroperóxido de terbutilo - $C_4H_{10}O_2$ - (PM: 90,1) - Soluble en solventes orgánicos. Densidad relativa: aproximadamente 0,898. Índice de refracción: aproximadamente 1,401.

Hidroquinona - $C_6H_4(OH)_2$ - (PM: 110,1) - Cristales en forma de agujas finas, incoloras o blancas. Se oscurece por exposición al aire y a la luz. Soluble en agua, alcohol y éter.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 250 mg y disolver en una mezcla de 100 ml de agua y 10 ml de ácido sulfúrico 0,1 N en un erlenmeyer de 250 ml. Agregar 3 gotas de una solución (1 en 100) de difenilamina en ácido sulfúrico y titular con sulfato cérico 0,1 N (SV) hasta que la solución se torne color rojo violáceo. Cada mililitro de sulfato cérico 0,1 N equivale a 5,506 mg de $C_6H_4(OH)_2$. Contiene no menos de 99 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 172 y 174 °C.

Hidrosulfito de sodio - (*Ditionito de sodio*) - $Na_2S_2O_4$ - (PM: 174,1) - Polvo cristalino blanco o blanco grisáceo. Soluble en agua; poco soluble en alcohol. Se oxida gradualmente a bisulfito al aire, más fácilmente cuando está en solución, dando una reacción ácida. Es afectado por la luz.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 1 g, disolver en una mezcla de 10 ml de formaldehído (SR) y 10 ml de agua contenida en un erlenmeyer apropiado con tapón de vidrio y dejar reposar durante 30 minutos con agitación frecuente. Transferir la solución a un matraz aforado de 250 ml, agregar 150 ml de agua y 3 gotas de naranja de metilo (SR) y luego agregar ácido sulfúrico 1 N, gota a gota, hasta reacción levemente ácida. Diluir con agua a 250 ml y mezclar. A 50,0 ml de la solución, agregar 2 gotas de fenolftaleína (SR) y cantidad suficiente de hidróxido de sodio 0,1 N para producir un color rosado suave. Titular con iodo 0,1 N agregando 3 ml de almidón (SR) como indicador. Luego eliminar el color azul de la solución con 1 gota de tiosulfato de sodio 0,1 N y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) hasta color rosado. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 3,482 mg de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$. Contiene no menos de 88 %.

Sulfuro - Agregar solución de hidróxido de sodio (1 en 10) a acetato de plomo (SR) hasta disolver el precipitado. Agregar 5 gotas de esta solución a una solución de 1 g de hidrosulfito de sodio en 10 ml de agua: no se observa oscurecimiento inmediato.

Metales pesados - Disolver 1 g en 10 ml de agua, agregar 10 ml de ácido clorhídrico y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Disolver el residuo en 20 ml de agua y 0,5 ml de ácido clorhídrico diluido, filtrar y agregar al filtrado 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): no se produce oscurecimiento. Alcalinizar la solución con amoníaco (SR): puede producirse un ligero color verdoso pero nunca un precipitado blanco u oscuro.

Aptitud para la valoración de riboflavina - Agregar a cada uno de dos o más tubos 10 ml de agua y 1,0 ml de una solución de riboflavina que contenga 20 μg de riboflavina por ml y mezclar. A cada tubo agregar 1,0 ml de ácido acético glacial, mezclar, agregar 0,5 ml de solución de permanganato de potasio (1 en 25) continuando con el mezclado y dejar reposar durante 2 minutos. A continuación agregar a cada tubo, 0,5 ml de peróxido de hidrógeno (SR) y mezclar: el color de permanganato desaparece dentro de los 10 segundos. Agitar los tubos vigorosamente hasta expulsar el exceso de oxígeno. Si quedan burbujas en las paredes de los tubos una vez finalizada la reacción, eliminarlas volcando los tubos para que la solución fluya lentamente desde un extremo al otro del tubo. En un fluorómetro apropiado, medir la fluorescencia de la solución. Luego agregar, mezclando, 8,0 mg de hidrosulfito de sodio: la riboflavina se reduce completamente en no más de 5 segundos.

3'-Hidroxiacetofenona - $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_2$ - (PM: 136,2) - Polvo, trozos pequeños o gruesos de color marrón claro. Funde aproximadamente a 96 °C. Moderadamente soluble en cloroformo, proporcionando una solución transparente amarillo clara.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con aceite de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a 300 °C. La temperatura de la columna se mantiene a 180 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 280 °C, manteniendo esa temperatura aproximadamente 10 minutos. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico principal no es menor de 97 % del área total.

4'-Hidroxiacetofenona - $\text{HOC}_6\text{H}_4\text{COCH}_3$ - (PM: 136,2) - Polvo gris, funde aproximadamente a 109°C.

1-Hidroxibenzotriazol hidrato - (PM: 135,1, anhidro) - $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}_3\text{O} \cdot x\text{H}_2\text{O}$ - Polvo cristalino blanco. Moderadamente soluble en alcohol produciendo una solución transparente de color amarillo claro.

Hidróxido de amonio - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Hidróxido de bario - $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 315,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Hidróxido de calcio - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Hidróxido de cuprietilendiamina, solución 1 M - Emplear una solución 1 M en la cual la relación molar entre etilendiamina y cobre sea de $2,00 \pm 0,04$.

Hidróxido de estroncio - (*Hidróxido de estroncio octahidratado*) - $\text{Sr}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 265,8) - Polvo blanco, cristalino. Moderadamente soluble en agua. Puede absorber dióxido de carbono del aire. Mantener perfectamente cerrado.

Valoración y carbonato - Pesar exactamente alrededor de 5 g, disolver en 200 ml de agua caliente en un erlenmeyer 500 ml con tapón de vidrio, agregar fenolftaleína (SR) y titular con ácido clorhídrico 1 N (SV) para determinar la alcalinidad del hidróxido. Luego agregar naranja de metilo (SR) y titular con ácido clorhídrico 1 N (SV). Cada mililitro de ácido clorhídrico 1 N requerido para llegar al punto final de fenolftaleína equivale a 132,9 mg de $\text{Sr}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ y cada mililitro adicional de ácido clorhídrico 1 N (SV) requerido para llegar al punto

final con naranja de metilo equivale a 73,8 mg de SrCO_3 . Contiene no menos de 95,0 % de $\text{Sr}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ y no más de 3,0 % de SrCO_3 .

Cloruro (Ensayo para reactivos) - Disolver 1,0 g en 100 ml de agua y filtrar si fuera necesario: 1,0 ml de la solución no presenta más de 0,01 mg de Cl (0,1%).

Calcio (Ensayo para reactivos) -

Solución madre de la muestra - Disolver 5,0 g en agua y diluir con agua a 100 ml.

Solución muestra - Diluir 10,0 ml de la **Solución madre de la muestra** con agua a 100 ml.

Solución control - Agregar 0,50 mg de ion calcio (Ca) a 10,0 ml de la **Solución madre de la muestra** y diluir con agua a 100 ml.

Procedimiento - Determinar la emisión de fondo a 416,7 nm. No más de 0,1 %.

Hierro - Disolver 1 g en agua caliente y diluir con agua a 100 ml. A 20 ml de esta solución agregar 2 ml de ácido clorhídrico y 0,1 ml de permanganato de potasio 0,1 N, dejar reposar durante 5 minutos y agregar 3 ml de solución de tiocianato de amonio (3 en 10). Cualquier color rojo producido no es más oscuro que el de un control que contenga 0,03 mg de Fe (0,015%).

Metales pesados - Preparar la **Solución muestra** del siguiente modo: disolver 2,0 g en 14 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 6) y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad; absorber el residuo en 25 ml de agua, filtrar y diluir con agua a 100 ml. Agregar a 5,0 ml de la **Solución muestra** 0,02 mg de plomo (Pb) y diluir con agua a 30 ml, para obtener el control. Para la muestra, emplear 30 ml de la **Solución muestra**. Ajustar cada solución con ácido acético o amoníaco (SR) hasta pH entre 3,0 y 4,0 (empleando papel de pH de intervalo estrecho), diluir con agua a 40 ml y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno recientemente preparado (SR): cualquier color pardo desarrollado en la **Solución muestra** no es más oscuro que el de la solución preparada a partir del control (0,004%).

Hidróxido de litio - $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ - (PM: 42,0) - Cristales blancos. Soluble en agua; insoluble en alcohol.

Valoración - Disolver aproximadamente 160 mg, exactamente pesados, en 50 ml de agua, agregar fenoltaleína (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,1 N (SV) hasta punto final incoloro. Cada mililitro de ácido clorhídrico 0,1 N equivale a 4,196 mg de $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$. Contiene no menos de 98 %.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1,0 mg, determinado sobre 10 g (0,01 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 200 mg no presentan más de 0,02 mg de Cl (0,01 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. Disolver 400 mg en 10 ml de agua y neutralizar con ácido clorhídrico 3 N. Agregar 0,1 ml de bromo (SR), calentar a ebullición para remover el bromo en exceso, agregar 2 ml de ácido clorhídrico 3 N, filtrar y diluir con agua a 40 ml: 20 ml de esta solución no presentan más de 0,10 mg de SO_4 (0,05 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 0,002 %.

Hierro <580> - No más de 0,02 mg de Fe (0,002%), determinado sobre 1 g.

Hidróxido de potasio - KOH - (PM: 56,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Hidróxido de sodio - NaOH - (PM: 40,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Hidróxido de tetrabutilamonio al 40 % en agua - $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NOH}$ - (PM: 259,5) - Emplear uno de grado apropiado.

Hidróxido de tetrabutilamonio 1,0 M en metanol - Emplear uno de grado apropiado.

Hidróxido de tetrametilamonio - $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$ - (PM: 91,2) - Disponible como una solución acuosa de aproximadamente 10 ó 25 % o como pentahidrato cristalino. Es transparente e incolora y tiene un fuerte olor a amoníaco. El hidróxido de tetrametilamonio es una base más fuerte que el amoníaco y absorbe rápidamente dióxido de carbono del aire. Almacenar en envases de cierre perfecto.

Valoración - Pesar exactamente un erlenmeyer con tapón de vidrio que contenga aproximadamente 15 ml de agua. Agregar una cantidad de una solución de hidróxido de tetrametilamonio, equivalente a 200 mg de $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$ y pesar nuevamente. Agregar rojo de metilo (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,1 N (SV). Cada mililitro de ácido clorhídrico 0,1 N equivale a 9,115 mg de $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$.

Residuo de evaporación - Evaporar 5 ml de solución en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: el peso del residuo equivale a no más de 0,02 % del peso de la muestra.

Amoníaco y otras aminas - Pesar exactamente una cantidad de solución, equivalente a aproximadamente 300 mg de $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$, en un recipiente de pesaje bajo, previamente pesado, con 5 ml de agua. Agregar un leve exceso de ácido clorhídrico 1 N (aproximadamente de 4 ml), evaporar en un baño de vapor hasta sequedad y secar a 105 °C durante 2 horas: el peso del cloruro de tetrametilamonio obtenido, multiplicado por 0,8317, representa la cantidad, en mg, de $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$ en la porción de muestra tomada y corresponde a aproximadamente 0,2 %

por encima o por debajo del valor encontrado en la *Valoración*.

Hidróxido de tetrametilamonio pentahidrato - $(\text{CH}_3)_4\text{NOH} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 181,2) - Cristales blancos a casi blancos. Es higroscópico. Base fuerte. Almacenar en envases bien cerrados. Soluble en agua y metanol.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 800mg, disolver en 100 ml de agua y titular con ácido clorhídrico 0,1 N (SV) determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido clorhídrico 0,1 N equivale a 18,22 mg de $(\text{CH}_3)_4\text{NOH} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Contiene no menos de 98 %.

Hidróxido de tributiletilamonio - $\text{C}_{14}\text{H}_{33}\text{NO}$ - (PM: 231,4) - Emplear uno de grado apropiado.

Hidróxido de (*m*-trifluorometilfenil) trimetilamonio en metanol - Emplear uno de grado apropiado.

***D-d*-4-Hidroxifenilglicina** - $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_3$ - (PM: 167,2) - Escamas brillosas. Moderadamente soluble en agua, alcohol, acetona, éter, cloroformo, acetato de etilo y ácido acético glacial; soluble en álcalis y ácidos minerales; fácilmente soluble en ácido clorhídrico caliente al 20 % v/v.

Intervalo de fusión <260> - Entre 220 y 247 °C, con descomposición.

10 β -Hidroxinorandrostenodiona - (*10 β -Hidroxi-19-norandrost-4-en-3,17-diona*) - $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_3$ - (PM: 288,4) - Emplear uno de grado apropiado.

8-Hidroxiquinolina - (*Oxina*) - $\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}$ - (PM: 145,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Hiperósido - (*2-(3,4-Dihidroxifenil)-3- β -D-galactopiranosiloxi-5,7-dihidroxicromen-4-ona*) - $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$ - (PM: 464,4) - Agujas amarillo pálido, solubles en metanol.

Punto de fusión <260> - Aprox. 240 °C, con descomposición.

Rotación específica <170> - - 8,3 °, determinada a 20 °C en una solución que contenga 2 mg por ml en piridina.

Absorción ultravioleta <470> - Debe presentar dos máximos de absorción a 259 y 364 nm en una solución apropiada en metanol.

Hipoxantina - (*1H-Purin-6-ona*) - $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}$ - (PM: 136,1) - Polvo cristalino blanco, muy poco soluble en agua; bastante soluble en agua a ebullición; soluble en soluciones diluidas de ácidos y en soluciones diluidas de hidróxidos alcalinos. Se descompone sin fundir a aproximadamente 150 °C.

Cromatografía - Analizar según se indica en *Mercaptopurina*, el cromatograma sólo presenta una mancha principal.

I

Imidazol - $C_3H_4N_2$ - (PM: 68,1) - Cristales color blanco a amarillo claro. Fácilmente soluble en agua.

Valoración - Transferir aproximadamente 700 mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados de 250 ml. Disolver en 100 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 6,808 mg de $C_3H_4N_2$. Contiene no menos de 98 %.

Iminoestilbeno - $C_{14}H_{11}N$ - (PM: 193,2) - Polvo amarillo anaranjado. Moderadamente soluble en acetato de etilo.

Intervalo de fusión <260> - Entre 197 y 201 °C.

Iminodibencilo - $C_{14}H_{13}N$ - (PM: 195,3) - 10,11-Dihidrodibenz[*b,f*]azepina - Polvo cristalino, amarillo pálido. Fácilmente soluble en acetona; prácticamente insoluble en agua.

Punto de fusión - Aproximadamente 106 °C.

Indeno - C_9H_8 - (PM: 116,2) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 10 m × 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de metilsilicona. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 200 y 300°C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 100 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 250 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de indeno no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,5749 y 1,5769, a 20 °C.

Índigo carmín - (*Indigotindisulfonato sódico*) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Inositol - (*Hexahidroxiciclohexano*) - $C_6H_6(OH)_6$ - (PM: 180,2) - Cristales blancos o polvo blanco, cristalino, inodoro y estable al aire. Sus soluciones son neutras al papel de tornasol. Ópticamente inactivo. Fácilmente soluble en agua; poco soluble en alcohol; insoluble en éter y cloroformo. Almacenar en envases bien cerrados.

Intervalo de fusión <260> - Entre 223 y 226 °C.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 4 horas: no pierde más de 0,5 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,1 %.

Iodato de potasio - KIO_3 - (PM: 214,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Iodo - I - (PA: 126,90) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

5-Iodouracilo - $C_4H_3IN_2O_2$ - (PM: 238,0).

Punto de fusión <260> - Aprox. 276 °C, con descomposición.

Cromatografía - Analizar según se indica en *Sustancias relacionadas* para *Idoxiuridina* empleando 5 μl de una solución de 5-iodouracilo de 0,25 mg por ml. El cromatograma sólo presenta una mancha principal.

Ioduro de 1-etilquinaldino - $C_{12}H_{14}IN$ - (PM: 299,2) - Sólido verde amarillo. Moderadamente soluble en agua.

Valoración - Disolver aproximadamente 290 mg, exactamente pesados, en 100 ml de agua y agregar 10 ml de ácido acético glacial. Titular con nitrato de plata 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente, empleando un electrodo selectivo para iones plata y un electrodo de referencia de calomel que contiene nitrato de potasio 1 M. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 29,92 mg de $C_{12}H_{14}IN$. Contiene no menos de 97,0 %.

Ioduro de mercurio II - (*Diioduro de mercurio*) - HgI_2 - (PM: 454,4) - Polvo cristalino, denso, rojo escarlata. Poco soluble en agua; soluble en acetona, alcohol, éter y solución de ioduro de potasio en exceso. Almacenar en envase inactivo.

Ioduro de metilo - CH_3I - (PM: 141,9) - Líquido incoloro, pesado, transparente. Poco soluble en agua. Miscible con alcohol, éter y éter de petróleo. Se torna pardo por exposición a la luz como resultado de la liberación de iodo.

Valoración - Agregar 1 ml a un matraz aforado de 100 ml previamente pesado con 10 ml de alcohol. Pesar nuevamente, completar a volumen con alcohol y mezclar. Transferir 20 ml a un erlenmeyer con tapón de vidrio y agregar 50,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV) y 2 ml de ácido nítrico. Tapar inmediatamente, agitar con frecuencia durante 2 horas y dejar reposar en la oscuridad de la noche a la mañana. Agitar nuevamente durante 2 horas luego agregar 50 ml de agua y 3 ml de sulfato férrico amónico y titular el nitrato de plata en exceso con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 14,19 mg de CH_3I . Contiene no menos de 98,5 %.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Destilar 50 ml en un recipiente enfriado, parcialmente tapado: no destila menos de 48 ml entre 41,5 y 43 °C.

Densidad - Entre 2,270 y 2,285.

Residuo de evaporación - Evaporar 4 ml (10 g) en un baño de vapor y secar el residuo a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 1 mg (0,01 %).

Acidez - Agitar 3 ml con 5 ml de agua durante 30 segundos y de inmediato extraer la fase inferior: la fase acuosa es neutra frente al tornasol y cuando se agrega 1 ml de nitrato de plata (SR), no presenta más que una leve opalescencia.

Ioduro de potasio - KI - (PM: 166,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ioduro de tetrabutilamonio - $(C_4H_9)_4NI$ - (PM: 369,4) - Escamas blancas, brillosas, cristalinas. Soluble en alcohol y éter; poco soluble en agua.

Valoración - Disolver 200 mg, exactamente pesados, en 40 ml de agua hirviendo, con agitación vigorosa y enfriar a temperatura ambiente. Agitar la solución mecánicamente, agregar 5 ml de ácido nítrico 2 N. Titular con nitrato de plata 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente, empleando un electrodo de plata y vidrio y agregando la solución titulante en porciones de 0,1 ml cerca del punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 36,94 mg de $(C_4H_9)_4NI$. Contiene no menos de 99,0 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 146 y 147 °C.

Ioduro isopropílico - (*2-Iodopropano*) - C_3H_7I - (PM: 170,0) - Líquido incoloro, se descolora con exposición al aire y a la luz. Moderadamente soluble en agua; miscible con alcohol, cloroformo y éter.

Densidad - Entre 1,696 y 1,704.

Índice de refracción - Entre 1,4987 y 1,4997 a 20°C.

4-Isobutilacetofenona - $C_{12}H_{16}O$ - (PM: 176,0) - Líquido amarillo pálido. Soluble en cloroformo, glicerol, alcoholes, éter y aceites grasos; insoluble en agua. Emplear uno de grado apropiado.

N-Isobutilpiperidona - $C_9H_{17}NO$ - (PM: 155,2) - Emplear uno de grado apropiado.

Isooctano - Ver 2,2,4-Trimetilpentano.

Isopropilamina - (*2-Aminopropano*) - $C_3H_7NH_2$ - (PM: 59,1) - Líquido transparente, incoloro, inflamable con un olor fuerte a amoníaco. Miscible con agua, alcohol y éter.

Valoración - Transferir aproximadamente 200 mg, exactamente pesados, a un envase apropiado, agregar 50 ml de agua y mezclar. Titular con ácido clorhídrico 0,1 N (SV), empleando una mezcla de verde de bromocresol (SR) y rojo de metilo (SR) (5:1) como indicador. Cada mililitro de ácido clorhídrico 0,1 N equivale a 59,11 mg de C_3H_9N . Contiene no menos de 98 %.

Intervalo de ebullición (Ensayo para Reactivos) - No menos de 95 % destila entre 31 y 33 °C.

Índice de refracción - Entre 1,3743 y 1,3753, a 20 °C.

L

Lactato de calcio - (PM: 308,3) - $(\text{CH}_3\text{CHOHCOO})_2\text{Ca} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - Gránulos o polvo blanco, casi inodoro. Es algo eflorescente y a 120 °C se convierte en anhidro. Soluble en agua; prácticamente insoluble en alcohol. Almacenarlo en envases de cierre perfecto.

Valoración - Pesar exactamente 500 mg, previamente secados a 120 °C durante 4 horas, transferir a un envase apropiado y disolver con 150 ml de agua que contiene 2 ml de ácido clorhídrico diluido. Agregar 15 ml de hidróxido de sodio (SR) y 300 mg de azul de hidroxinaftol y titular con edetato disódico 0,05 M (SV) hasta que la solución tenga color azul profundo. Cada mililitro de edetato disódico 0,05 M equivale a 10,91 mg de $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{CaO}_6$. Contiene no menos de 98 %.

Pérdida por secado <680> - Secar a 120 °C durante 4 horas: pierde entre 25,0 y 30,0 % de su peso.

Acidez - Agregar fenolftaleína (SR) a 20 ml de una solución (1 en 20) y titular con hidróxido de sodio 0,10 N: no se requiere más de 0,50 ml para producir un color rosado.

Metales Pesados (Ensayo para reactivos) - Disolver 1 g en 2,5 ml de ácido clorhídrico diluido, diluir con agua a 40 ml y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): cualquier color pardo producido no es más oscuro que el de un control que contiene 0,02 mg de Pb (0,002 %).

Magnesio y sales alcalinas - Mezclar 1 g con 40 ml de agua, agregar cuidadosamente 5 ml de ácido clorhídrico calentar a ebullición la solución durante 1 minuto y agregar rápidamente 40 ml de ácido oxálico (SR). Agregar de inmediato a la mezcla caliente 2 gotas de rojo de metilo (SR) luego agregar amoníaco (SR) gota a gota, desde una bureta, hasta que la mezcla sea alcalina. Enfriar a temperatura ambiente, transferir a una probeta de 100 ml, diluir con agua a 100 ml, mezclar y dejar reposar durante 4 horas o durante toda la noche. Filtrar y transferir a un crisol de platino 50 ml del filtrado transparente, al cual se ha agregado 0,5 ml de ácido sulfúrico. Evaporar la mezcla en un baño de vapor a un volumen pequeño. Cuidadosamente calentar sobre una llama directa hasta sequedad y continuar calentando hasta descomposición completa y volatilización de las sales de amonio. Finalmente incinerar el residuo a 800 ± 25 °C durante 15 minutos: el residuo no pesa más de 5 mg (1 %).

Ácidos grasos volátiles - Agitar aproximadamente 500 mg con 1 ml de ácido sulfúrico y calentar: la mezcla no emite olor de ácidos grasos volátiles.

Lactosa - $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ - (PM: 342,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

α -Lactosa monohidrato - $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} \cdot \text{H}_2\text{O}$ - (PM: 360,3) - Polvo blanco. El contenido de β -lactosa no debe ser mayor a 3 %.

Valoración - Inyectar una alícuota derivatizada y apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 250 y 280 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se debe mantener a 230 °C y se debe programar un ascenso de 4 °C por minuto hasta 280 °C. Se debe emplear helio como gas transportador. La respuesta del pico $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} \cdot \text{H}_2\text{O}$ no debe ser menor de 97 % de la respuesta total.

β -Lactosa - $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ - (PM: 342,3) - Polvo blanco a amarillo tenue. El contenido de α -lactosa no debe ser mayor a 35 %.

Valoración - Inyectar una alícuota derivatizada y apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de fase estacionaria constituida por 94 % de dimetilpolisiloxano y 6 % de cianopropilfenil polisiloxano (los porcentajes se refieren a la sustitución molar). Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 250 °C. La temperatura de la columna se debe mantener a 20 °C y se debe programar un ascenso de 8 °C por minuto hasta 280 °C. Se debe emplear helio como gas transportador. La respuesta del pico $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ no debe ser menor de 99 % de la respuesta total.

Lana de vidrio - Finos hilos de vidrio.

Sustancias solubles en ácidos - Calentar a ebullición 1 g durante 30 minutos con 30 ml de ácido clorhídrico diluido y filtrar. Evaporar el filtrado y secar el residuo a 105 °C hasta peso constante: el residuo no pesa más de 5 mg (0,5 %).

Metales pesados - Calentar a ebullición 2 g con una mezcla de 25 ml de ácido nítrico diluido y 25 ml de agua durante 5 minutos y filtrar. Evaporar la mitad del filtrado hasta sequedad, disolver el residuo en 10 ml de agua a la cual se le han agregado 3 gotas de ácido clorhídrico, filtrar si fuera necesario y agregar un volumen igual de sulfuro de

hidrógeno (SR) al filtrado: no se produce oscurecimiento.

Lauril sulfato de sodio - Ver Dodecil sulfato de sodio.

Limoneno - (*D-Limoneno*;
(R)-4-Isopropenil-1-metilciclohex-1-eno;
(+)-*p*-menta-1,8-dieno) - $C_{10}H_{16}$ - (PM: 136,2) - Líquido incoloro; soluble en alcohol, prácticamente insoluble en agua.

Densidad relativa <160> - Aprox. 0,84.

Índice de refracción <230> - Entre 1,471 y 1,474.

Rotación específica <170> - Entre +96° y +106°.

Punto de ebullición <240> - Entre 175 y 177 °C.

Para uso en cromatografía de gases, debe cumplir con el siguiente ensayo.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 60 m × 0,25 mm recubierta con una capa de fase estacionaria constituida por

goma de polietilenglicol 20.000. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 220 °C. La temperatura de la columna se debe mantener a 60 °C durante 10 minutos, se programa un ascenso de 2 °C por minuto hasta 180 °C, y mantener a esta temperatura durante 5 minutos. Se emplea helio como gas transportador, el caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto. La respuesta del pico principal no debe ser menor de 99,0 % de la suma de las respuestas de todos los picos.

L-Lisina - (*Ácido 2,6-diaminohexanoico*) - (PM: 146,2) - $C_6H_{14}N_2O_2$ - Agujas cristalinas o placas hexagonales. Soluble en agua; poco soluble en alcohol; insoluble en éter.

Rotación específica <170> - Entre +25,5° y +26,0°, determinado en ácido clorhídrico diluido (1 en 2).

Determinación de nitrógeno <200> - *Método I*. Contiene entre 18,88 y 19,44 % de N que corresponde a no menos de 98,5 % de $C_6H_{14}N_2O_2$, habiendo secado la muestra previamente a 105 °C durante 2 horas.

M

Magnesio - Mg - (PA: 24,31) - Metal plateado en forma de cinta. Reacciona lentamente con agua a temperatura ambiente. Se disuelve fácilmente en ácidos diluidos con liberación de hidrógeno.

Valoración - Transferir 1 g, exactamente pesado, a un matraz aforado de 250 ml y disolver en una mezcla de 15 ml de ácido clorhídrico y 85 ml de agua. Cuando se completa la disolución, diluir a volumen con agua y mezclar. Transferir 25 ml de la dilución a un vaso de precipitados de 400 ml, diluir con agua a 250 ml, agregar 20 ml de solución reguladora de amoníaco-cloruro de amonio (SR) y unos mg de negro de eriocromo T triturado y titular con edetato disódico 0,1 M (SV) hasta punto final azul. Cada mililitro de edetato disódico 0,1 M (SV) equivale a 2,430 mg de Mg. Contiene no menos de 99 %.

Magnesio, óxido de - MgO - (PM: 40,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Maleato de bis(2-etilhexilo) - C₂₀H₃₆O₄ - (PM: 340,5) - Líquido transparente incoloro a amarillo pálido. Miscible con acetona y alcohol. Densidad relativa: aproximadamente 0,945.

Valoración - Transferir aproximadamente 2,5 g, exactamente pesados, a un erlenmeyer de 250 ml, agregar 50,0 ml de hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N (SV) y calentar a reflujo durante 45 minutos. Enfriar, agregar 0,5 ml de fenoltaleína (SR) y titular el álcali en exceso con ácido clorhídrico 0,5 N (SV). Realizar una determinación con un blanco al mismo tiempo, empleando la misma cantidad de hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N (ver *Titulaciones residuales* en 780. *Volumetría*). La diferencia, en ml, entre los volúmenes de ácido clorhídrico 0,5 N consumidos en la titulación de la muestra y la titulación del blanco, multiplicada por 85,1, representa la cantidad, en mg, de maleato de bis(2-etilhexilo) en la porción tomada. Contiene no menos de 97 %.

Manganeso - Mn - (PA: 54,94) - Emplear uno de grado apropiado.

Manitol - Emplear *Manitol*.

Melamina - (1,3,5-Triazina-2,4,6-triamina) - C₆H₆N₆ - (PM: 126,1) - Polvo blanco amorfo. Muy soluble en agua y alcohol.

Menadiona - Emplear *Menadiona*.

Mentol -
((1 α ,2 β ,5 α)-5-Metil-2-(1-metiletil)-ciclohexanol) - C₁₀H₂₀O - (PM: 156,3) - Cristales o gránulos.

Muy soluble en alcohol, cloroformo, éter y éter de petróleo; fácilmente soluble en ácido acético glacial y parafina líquida; moderadamente soluble en agua.

Intervalo de fusión <260> - Entre 41 y 43 °C.

Rotación óptica <170> - Aprox. - 50°, determinado sobre una solución de 100 mg por ml en alcohol.

Mercaptopurina - C₅H₄N₄S · H₂O - (PM: 170,2) - 7H-purina-6-tiol - Emplear un reactivo analítico apropiado de una pureza no menor de 98 %.

Mercurio - Hg - (PA: 200,59) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Metabisulfito de sodio - Na₂S₂O₅ - (PM: 190,1) - Emplear *Metabisulfito de sodio*.

Metaborato de litio - LiBO₂ - (PM: 49,8) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Metacresol - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Metacrilato de metilo - Emplear uno de grado apropiado.

Metanol - (*Alcohol metílico*) - CH₃OH - (PM: 32,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Metanol anhidro - Ver Metanol.

Metanol para cromatografía de líquidos - Debe contener no menos de 99,8 por ciento de CH₄O (PM: 32,0).

Absorbancia - La absorbancia a 225 nm empleando agua como blanco, no debe ser mayor a 0,17.

Metanol para espectrofotometría - Emplear Metanol apropiado para uso en espectrofotometría ultravioleta.

Metaperiodato de sodio - NaIO₄ - (PM: 213,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Metilamina al 40 % en agua - CH₅N - (PM: 31,1) - Líquido incoloro.

Valoración - Empleando una jeringa, transferir aproximadamente 0,5 ml de una muestra bien agitada a 100 ml de agua en un punto debajo de la superficie del agua. Determinar el peso de la muestra pesando la jeringa antes y después de la transferencia. Mezclar y titular con ácido clorhídrico 0,5 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente, empleando un electrodo de plata-cloruro de plata y un electrodo de referencia de calomel.

Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido clorhídrico 0,5 N equivale a 15,53 mg de CH₃N. Contiene entre 39,0 y 41,0 %.

Índice de refracción - Entre 1,3680 y 1,3710, a 20 °C.

Metilbenzotiazolona-hidrazona, clorhidrato de - (*Clorhidrato de 3-metilbenzotiazol-2(3H)-ona hidrazona, monohidrato*) - C₈H₁₀ClN₃S · H₂O - (PM: 233,7) - Polvo blanco cristalino o amarillento.

Punto de fusión - Aprox. 207 °C.

Ensayo de validez para la determinación de aldehídos - A 2 ml de metanol libre de aldehído agregar 60 µl de una solución de 1 mg de propionaldehído por ml de metanol libre de aldehído y 5 ml de una solución de 4 mg de clorhidrato de metilbenzotiazolona-hidrazona por ml. Mezclar y dejar en reposo durante 30 minutos. Preparar una solución blanco sin propionaldehído. Agregar 25 ml de una solución de 2 mg de cloruro férrico por ml a la solución muestra y a la solución blanco y diluir a 100 ml con acetona. La absorbancia a 660 nm empleando la solución blanco no debe ser menor a 0,62.

Metilcloroformo - (*1,1,1-Tricloroetano*) - (PM: 133,4) - CH₃CCl₃ - Líquido incoloro, pesado. Insoluble en agua pero algo higroscópico. Miscible con alcohol, éter y cloroformo.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Destilar 100 ml: la diferencia entre las temperaturas observadas cuando se destilan 1 y 95 ml no excede 16 °C. Su temperatura de ebullición a una presión de 760 mm Hg es aproximadamente 74 °C.

Densidad relativa <160> - Entre 1,312 y 1,321.

Acidez - Agregar 25 ml a 25 ml de alcohol neutralizado, frente al azul de bromotimol (SR), con hidróxido de sodio 0,02 N. Mezclar suavemente y titular con hidróxido de sodio 0,020 N (SV): no se requiere más de 0,50 ml para restaurar el color azul (0,001 % como HCl).

Residuo de evaporación - Evaporar 76 ml en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 1 mg (aproximadamente 0,001 %).

Metilbisacrilamida - (*N,N-metilendipropenamida*) - C₇H₁₀N₂O₂ - (PM: 154,2) - Polvo fino y casi blanco. Poco soluble en agua; soluble en alcohol.

Punto de fusión - Funde con descomposición por encima de los 300 °C.

3-O-Metilestrona - C₁₉H₂₄O₂ - (PM: 284,4) - Emplear uno de grado apropiado.

Metil etil cetona - (*2-Butanona*) - CH₃COC₂H₅ - (PM: 72,1) - Líquido incoloro, de olor similar a la acetona. Soluble en agua. Miscible con alcohol y éter.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 79,0 y 81,0 °C.

Densidad relativa <160> - Entre 0,801 y 0,803.

Residuo de evaporación - Evaporar 50 ml en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 1,0 mg (0,0025 %).

Acidez - Agregar 25 ml a 10 ml de alcohol al 80 %, previamente neutralizado a la fenoltaleína (SR) con hidróxido de sodio 0,02 N. Titular con hidróxido de sodio 0,020 N (SV) hasta la aparición de un color rosado que persiste no menos de 15 segundos: no se requieren más de 0,50 ml (0,003 % como CH₃COOH).

Solubilidad en agua - Agregar 5 ml a 40 ml de agua y dejar reposar durante 20 minutos: la solución permanece transparente.

Metil isobutil cetona - Ver 4-Metil-2-pentanona.

N-Metil-N-nitroso-p-toluensulfonamida - (*p-Tolilsulfonilmetilnitrosamina*) - C₈H₁₀N₂O₃S - (PM: 214,2) - Polvo o cristales amarillo claro. Insoluble en agua; soluble en tetracloruro de carbono y cloroformo.

Intervalo de fusión <260> - Entre 59 y 63 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 2 °C.

2-Metil-5-nitroimidazol - C₄H₅N₃O₂ - (PM: 127,1) - Polvo blanco a amarillo pálido.

Intervalo de fusión - Entre 252 y 254 °C.

Metilparabeno - (*Ester del ácido metil p-hidroxibenzoico*) - C₈H₈O₃ - (PM: 152,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

3-Metil-2-pentanona - C₆H₁₂O - (PM: 100,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

4-Metil-2-pentanona - (*Isobutil Metil Cetona*) - (CH₃)₂CHCH₂COCH₃ - (PM: 100,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

2-Metil-2-propanol - Ver Alcohol terbutílico.

2-Metil-2-propil-1,3-propanodiol - C₇H₁₆O₂ - (PM: 132,2) - Cristales blancos, que funden aproximadamente a 58 °C.

Metilsulfóxido - (*Dimetilsulfóxido*) - (CH₃)₂SO - (PM: 78,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

p-Metoxibenzaldehído - Ver Anisalaldehído.

Metóxido de sodio - CH₃ONa - (PM: 54,0) - Polvo blanco fino. Reacciona violentamente con

agua con desprendimiento de calor. Soluble en alcohol y metanol.

Valoración - Transferir aproximadamente 220 mg a un erlenmeyer previamente pesado, con tapón de vidrio y pesar exactamente. Disolver la muestra en aproximadamente 10 ml de metanol, luego agregar 100 ml de agua lentamente, con agitación. Agregar fenoltaleína (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,1 N (SV) hasta punto final incoloro. Cada mililitro de ácido clorhídrico 0,1 N (SV) equivale a 5,402 mg de CH₃ONa. Contiene no menos de 98,0 %.

Metoxietanol - (*Etilenglicol monometil éter; 2-Metoxietanol*) - CH₃OCH₂CH₂OH - (PM: 76,1) - Líquido transparente, incoloro a ligeramente amarillo. Miscible con agua, acetona, alcohol, éter, dimetilformamida y glicerina. Índice de refracción: aproximadamente 1,420. *Precaución* - *Es venenoso; emplear con ventilación apropiada.*

Densidad relativa <160> - Entre 0,960 y 0,964.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Destilar 100 ml: 95 % destila entre 123 y 126 °C.

Acidez - A 62 ml (60 g) agregar fenoltaleína (SR) y titular con hidróxido de potasio alcohólico 0,1 N: no se requiere más de 1 ml para producir un punto final rosado que persiste no menos de 15 segundos (0,01 % como CH₃COOH).

Ensayo de dilución - Medir 10 ml en una probeta de 100 ml con tapón de vidrio. Diluir con agua a 100 ml, insertar el tapón y mezclar: no se observa opalescencia o turbidez después de que la mezcla se ha dejado reposar a temperatura ambiente durante 2 horas.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa.* No más de 0,05 %.

3-Metoxi-L-tirosina - C₁₀H₁₃NO₄H₂O - (PM: 229,2) - Polvo amarillo o blanco.

Miristato de isopropilo - C₁₇H₃₄O₂ - (PM: 270,5) - Emplear *Miristato de isopropilo*. Para emplear como solvente en los procedimientos de ensayo para esterilidad, el miristato de isopropilo se ajusta a la siguiente especificación adicional:

pH del extracto acuoso - Transferir 100 ml a un tubo de centrifuga de 250 ml, agregar 10 ml de agua, cerrar el tubo con un cierre apropiado y agitar vigorosamente durante 60 minutos. Centrifugar la mezcla a 1.800 rpm durante 20 minutos, aspirar la fase superior (miristato de isopropilo) y determinar el pH de la fase acuosa: el pH no es menor de 6,5.

Si el miristato de isopropilo no se ajusta al ensayo de *pH del extracto acuoso* se puede adecuar para emplearse en procedimientos de ensayo de esterilidad del siguiente modo:

Empleando una columna de vidrio de 20 cm × 20 mm, agregar alúmina activada y apiso-

narla hasta una altura de 15 cm. Pasar 500 ml del miristato de isopropilo a través de la columna, emplear una leve presión positiva para mantener un caudal constante y emplear el eluato recolectado directamente en el procedimiento de ensayo de esterilidad.

Miristicina - (*5-Alil-1-metoxi-2,3-metilendioxi-benceno*) - C₁₁H₁₂O₃ - (PM: 192,2) - Líquido oleoso, incoloro, prácticamente insoluble en agua; poco soluble en etanol; soluble en éter; miscible en tolueno y xileno.

Densidad relativa <160> - Aproximadamente 1,144, a 20 °C.

Índice de refracción <230> - Aproximadamente 1,540, a 20 °C.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 276 y 277 °C.

Molibdato de sodio - Na₂MoO₄ · 2H₂O - (PM: 242,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Molibdato de amonio - (NH₄)₆Mo₇O₂₄ · 4H₂O - (PM: 1.235,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Monocloruro de iodo - ICl - (PM: 162,4) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Monoetanolamina - C₂H₇NO - (PM: 61,1) - Líquido transparente, incoloro a débilmente amarillo, viscoso, con olor amoniacal. Miscible con agua, metanol y acetona. Funde aproximadamente a 9 °C.

Valoración - Pesar exactamente un pesafiltro con tapón de vidrio que contiene 25 ml de agua. Agregar aproximadamente 2 g de muestra, tapar, y nuevamente pesar con exactitud. Agregar 3 gotas de una mezcla indicadora preparada agregando 5 volúmenes de verde de bromocresol (SR) a 6 volúmenes de rojo de metilo (SR) (preparada a partir de clorhidrato de rojo de metilo) y titular con ácido clorhídrico 1 N (SV). Cada mililitro de ácido clorhídrico 1 N (SV) equivale a 61,08 mg de C₂H₇NO. Contiene no menos de 99 %.

Índice de refracción <230> - Entre 1,453 y 1,455, a 20 °C.

Residuo de ignición <270> - Evaporar 20 g en un baño de vapor hasta sequedad y calcinar el residuo a 800 ± 25 °C durante 15 minutos: el residuo no pesa más de 1 mg (0,005 %).

Monóxido de plomo - (*Litargirio*) - PbO - (PM: 223,2) - Polvo amarillo pesado, amarillento o rojizo. Insoluble en agua y alcohol; soluble en ácido acético, ácido nítrico diluido y en soluciones calientes de hidróxidos alcalinos fijos.

Valoración - Pesar exactamente 300 mg, someter a ignición rápidamente en una mufla a

600 ± 50 °C y disolver mediante calentamiento con 10 ml de agua y 1 ml de ácido acético glacial. Diluir con 75 ml de agua, calentar a ebullición, agregar 50,0 ml de dicromato de potasio 0,1 N (SV) y calentar a ebullición durante 2 a 3 minutos. Enfriar, transferir a un matraz aforado de 200 ml con la ayuda de agua, completar a volumen con agua, mezclar y dejar sedimentar. Retirar 100,0 ml del líquido transparente, y transferir a un erlenmeyer con tapón de vidrio. Agregar 10 ml de ácido sulfúrico diluido y 1 g de ioduro de potasio, insertar el tapón, mezclar suavemente y dejar reposar durante 10 minutos. Titular el iodo liberado, que representa el exceso de dicromato, con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Cada mililitro de dicromato de potasio 0,1 N equivale a 7,440 mg de PbO. Contiene no menos de 98 %.

Insolubilidad en ácido acético - Disolver 2 g en 30 ml de ácido acético glacial diluido (1 en 2),

calentar a ebullición suavemente durante 5 minutos, filtrar, lavar el residuo con ácido acético diluido y secar a 105 °C durante 2 horas: el residuo no pesa más de 10 mg (0,5 %).

Sustancias no precipitadas por sulfuro de hidrógeno - Precipitar completamente el plomo del filtrado obtenido en el ensayo de *Insolubilidad en ácido acético* pasando sulfuro de hidrógeno a través del filtrado, filtrar y lavar el precipitado con 20 ml de agua. A la mitad del filtrado y lavados mezclados agregar 5 gotas de ácido sulfúrico, evaporar hasta sequedad y someter a ignición a 800 ± 25 °C durante 15 minutos: el residuo no pesa más de 5 mg (0,5 %).

Sustancias volátiles - Pesar exactamente 5 g y calentar fuertemente en un crisol de porcelana cubierto: no pierde más de 2,0 % de su peso.

Morfolina - (*Tetrahydro-1,4-oxazina*) - C₄H₉NO - (PM: 87,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

N

Naftaleno - $C_{10}H_8$ - (PM: 128,2) - Placas prismáticas monoclinicas o escamas blancas o polvo. Una solución en éter de petróleo presenta una fluorescencia púrpura bajo la luz de una lámpara de arco de mercurio. Insoluble en agua; muy soluble en éter y en aceites fijos y volátiles; fácilmente soluble en benceno, disulfuro de carbono, tetracloruro de carbono, cloroformo, aceite de oliva y tolueno; soluble en alcohol y metanol. Sublima a temperaturas por encima de la temperatura de fusión.

Intervalo de fusión <260> - Entre 80 y 81 °C.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 217 y 219 °C.

1,3-Naftalenodiol - (*Naftoresorcinol*) - (PM: 160,2) - $C_{10}H_6(OH)_2$ - Cristales o polvo blanco grisáceo a tostado. Fácilmente soluble en metanol; moderadamente soluble en agua, alcohol y éter.

Intervalo de fusión <260> - Entre 122 y 127 °C.

Solubilidad en metanol - Disolver 500 mg en 50 ml de metanol: la solución es transparente y completa.

2,7-Naftalenodiol - (*2,7-Dihidroxinaftaleno*) - $C_{10}H_8O_2$ - (PM: 160,2) - Sólido cristalino o polvo casi blanco a amarillo. Se disuelve en acetona.

Intervalo de fusión <260> - Entre 187 y 191 °C.

Naftilamina - (*1-Naftilamina*) - $C_{10}H_9N$ - (PM: 143,2) - Polvo cristalino blanco que toma color rosa por exposición a la luz y al aire. Poco soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol y éter. Conservar en envase inactivo.

Punto de fusión - Aproximadamente a 51 °C.

Naftiletildiamina, clorhidrato de - (*Dihidrocloruro de N-(1-naftil)etilendiamina*) - $C_{12}H_{16}Cl_2N_2$ - (PM: 259,2) - Polvo blanco o blanco amarillento; soluble en agua, poco soluble en alcohol.

1-Naftol - (*Alfanaftol*) - $C_{10}H_7OH$ - (PM: 144,2) - Cristales o polvo cristalino algo rosado o incoloro, de olor característico. Insoluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Intervalo de fusión <260> - Entre 95 y 97 °C.

Solubilidad - 1 g se disuelve en alcohol dando una solución transparente e incolora o casi incolora.

Acidez - Agitar ocasionalmente 1 g con 50 ml de agua durante 15 minutos y filtrar: el filtrado es neutro al tornasol.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,05 %.

2-Naftol - (*Betanaftol*) - $C_{10}H_7OH$ - (PM: 144,2) - Laminillas blancas o polvo cristalino con un olor débil característico. Se decolora por exposición a la luz. Poco soluble en agua; soluble en alcohol, éter, cloroformo y en soluciones de hidróxidos alcalinos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 121 y 123 °C.

Solubilidad en alcohol - Una solución de 1 g en 10 ml de alcohol es completa e incolora o prácticamente incolora.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,05 %.

Acidez - Agitar ocasionalmente 1 g con 50 ml de agua durante 15 minutos y filtrar: el filtrado es neutro al tornasol.

1-Naftol - Calentar a ebullición 100 mg con 10 ml de agua hasta disolución, enfriar y filtrar. Agregar al filtrado 0,3 ml de hidróxido de sodio 1 N y 0,3 ml de iodo 0,1 N: no se produce color violeta.

Sustancias insolubles en amoníaco (naftaleno, etc.) - Agitar 500 mg con 30 ml de amoníaco (SR): el 2-naftol se disuelve completamente y la solución presenta un color no más oscuro que un amarillo pálido.

1-Naftolbencéina - (*α -Naftolbencéina; Fenil bis(4-hidroxinaftil)metanol*) - $C_{27}H_{20}O_3$ - (PM: 392,5) - Polvo rojo pardo o cristales pardo negro, soluble en ácido acético glacial y alcohol, prácticamente insoluble en agua.

p-Naftolbencéina - $C_{27}H_{18}O_2$ - (PM: 374,4) - Polvo marrón rojizo. Emplear un reactivo de grado apropiado.

Naftol disulfonato de potasio - (*2-Naftol-6,8-dipotasio disulfonato*) - $C_{10}H_6K_2O_7S_2$ - (PM: 380,4) - Emplear uno de grado apropiado.

β -Naftoquinona-4-sulfonato sódico - $C_{10}H_5NaO_5S$ - (PM: 260,2) - Cristales o polvo cristalino amarillo a amarillo anaranjado. Soluble en agua; insoluble en alcohol.

Pérdida por secado <680> - Secar al vacío aproximadamente a 50 °C: no pierde más de 2,0 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g de muestra seca con 3 ml de ácido sulfúrico: el residuo pesa entre 265 y 280 mg (entre 26,5 y 28,0 %).

Naftoresorcinol - (*1, 3-Dihidrosorcinol*) - $C_{10}H_8O_2$ - (PM: 160,2) - Emplear uno de grado apropiado.

Naranja G - (*sal sódica del ácido betanaftol azobenceno disulfónico*) - (PM: 452,4) - $C_6H_5N:NC_{10}H_4(OH)(SO_3Na)_2-2,6,8$ - Polvo de color anaranjado a rojo ladrillo o cristales de color rojo oscuro. Fácilmente soluble en agua, proporcionando una solución amarillo anaranjada; poco soluble en alcohol; insoluble en éter y cloroformo. El agregado de ácido tánico (SR) a una solución 1 en 500 no produce precipitación (*color ácido*). El agregado de ácido clorhídrico a una mezcla de 500 mg de polvo de cinc y 10 ml de una solución 1 en 500 produce decoloración. Cuando se filtra, el filtrado incoloro, por exposición al aire, no recupera su color original (*presencia de grupo azo*). Cuando se calienta, el Naranja G no produce deflagración (*distinción con colorantes nitro*). El agregado de cloruro de calcio o bario (SR) a una solución concentrada de Naranja G produce un precipitado cristalino coloreado. El agregado de ácido clorhídrico a una solución 1 en 500 no produce cambio; el agregado de hidróxido de sodio (SR) a una solución similar produce un color entre rojo amarillento y rojo profundo pero ningún precipitado. El Naranja G se disuelve en ácido sulfúrico con un color anaranjado a rojo amarillento. No se produce ningún cambio en el color al diluir esta solución con agua.

Nicotinamida adenina dinucleótido - Emplear uno de grado apropiado.

Aptitud - Cuando se emplea para el ensayo de acetaldehído, determinar si la pendiente que se obtiene del gráfico de absorbancia en función de la concentración es apropiada empleando acetaldehído reactivo, la absorbancia del blanco del reactivo no debe ser mayor de 0,01.

Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato-adenosina-5'-trifosfato, mezcla de - Emplear uno de grado apropiado.

Aptitud - Cuando se emplea en la valoración de lactulosa, determinar si la pendiente que se obtiene del gráfico de absorbancia en función de la concentración es apropiada, empleando *Lactulosa SR-FA*, la absorbancia del blanco del reactivo no debe ser mayor de 0,020. El reactivo generalmente disponible contiene 64 mg de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato y 160 mg de adenosina-5'-trifosfato por vial. La mezcla está estabilizada y posee reguladores de pH. Para uso en la valoración de lactulosa se diluye con agua a 100 ml.

Ninhidrina - (*Tricetohidrindeno monohidrato*) - $C_9H_4O_3 \cdot H_2O$ - (PM: 178,2) - Cristales blancos a blanco pardusco o polvo cristalino. Soluble en agua y alcohol; poco soluble en éter y cloroformo. Cuando

se calienta por encima de 100 °C, se torna rojo. Almacenar en envase inactivo.

Intervalo de fusión <260> - Entre 240 y 245 °C, con descomposición, en un baño precalentado a 220°C.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 100 mg.

Sensibilidad - Preparar una solución de 10 mg de ácido aminoacético en 25 ml de agua. A 1 ml de esta solución agregar una solución de 50 mg de acetato de sodio en 2 ml de agua luego agregar 0,2 ml de una solución de 5 mg de ninhidrina en 1 ml de agua y calentar a ebullición la mezcla durante 1 a 2 minutos: se produce un color violeta que se vuelve intenso luego de unos pocos minutos en reposo.

Níquel - Ni - (PA: 58,69) - Emplear uno de grado apropiado.

Nitrato cérico amónico - $Ce(NO_3)_4 \cdot 2NH_4NO_3$ - (PM: 548,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de amonio - NH_4NO_3 - (PM: 80,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de bario - $Ba(NO_3)_2$ - (PM: 261,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de cadmio - $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ - (PM: 308,5) - Cristales incoloros, higroscópicos. Muy soluble en agua; soluble en alcohol.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 20 g (0,005 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,01 mg de Cl (0,001 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método II*. Disolver 12 g en 25 ml de ácido clorhídrico y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Agregar 15 ml de ácido clorhídrico y nuevamente evaporar hasta sequedad. Disolver el residuo en 100 ml de agua, filtrar y agregar 1 ml de ácido clorhídrico: el residuo pesa no más de 1,0 mg más que el residuo obtenido con un blanco (0,003 %).

Cobre - Disolver 500 mg en 10 ml de agua, agregar 10 ml de *Solución de citrato de amonio* (ver 600. *Límite de plomo*) y ajustar la reacción a pH aproximadamente 9 mediante el agregado de hidróxido de amonio 1 N (aproximadamente 30 ml). Agregar 1 ml de solución de dietilditiocarbamato de sodio (1 en 1000) y mezclar. Agregar 5 ml de alcohol amílico, agitar durante aproximadamente 1 minuto y dejar que las fases se separen: cualquier color amarillo en la fase de alcohol amílico no es más oscuro que el de un blanco al cual se ha agregado 0,01 mg de Cu (0,002%).

Hierro - Disolver 1 g en 15 ml de agua, agregar 2 ml de ácido clorhídrico y calentar a ebullición

durante 2 minutos. Enfriar, agregar aproximadamente 30 mg de persulfato de amonio y 15 ml de una solución de tiocianato de potasio en alcohol butílico (preparada disolviendo 10 g de tiocianato de potasio en 10 ml de agua, calentando la solución a aproximadamente 30 °C, diluyendo con alcohol butílico a 100 ml y agitando hasta clarificar). Agitar vigorosamente durante 30 segundos y dejar que las fases se separen: cualquier color rojo en la fase alcohólica clara no es más oscuro que el de un blanco al cual se ha agregado 0,01 mg de Fe (0,001 %).

Plomo - Disolver 1,0 g en 10 ml de agua, agregar 0,2 ml de ácido acético glacial y filtrar si fuera necesario. A 7 ml de agua, agregar 0,2 ml de ácido acético glacial y 3 ml de *Solución de plomo estándar* (ver 600. *Límite de plomo*) y mezclar para obtener un blanco. Luego agregar a cada solución 1,0 ml de solución de cromato de potasio (1 en 10) y mezclar: luego de 5 minutos, la solución muestra no es más turbia que el blanco (0,003 %).

Sustancias no precipitadas por sulfuro de hidrógeno - Disolver 2 g en 145 ml de agua, agregar 5 ml de ácido sulfúrico (1 en 10), calentar a ebullición y pasar una corriente rápida de sulfuro de hidrógeno a través de la solución a medida que ésta se enfría. Filtrar y, a 75 ml del filtrado transparente agregar 0,25 ml de ácido sulfúrico. Evaporar hasta sequedad y someter a ignición suavemente: el residuo no pesa más de 1 mg (0,1 %).

Nitrato de calcio - $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 236,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de circonilo - Ver Circonilo, nitrato de.

Nitrato de cobalto - $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 291,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de litio - LiNO_3 - (PM: 69,0) - Cristales incoloros. Emplear uno de grado apropiado cuyo rótulo declare que no contiene menos de 97,0 %.

Nitrato de magnesio - $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 256,4) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de plata - AgNO_3 - (PM: 169,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de plomo - $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ - (PM: 331,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de potasio - KNO_3 - (PM: 101,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de sodio - NaNO_3 - (PM: 85,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de tetrametilamonio - $(\text{CH}_3)_4\text{NNO}_3$ - (PM: 136,2) - Cristales blancos. Fácilmente soluble en agua.

Nitrato de torio - $\text{Th}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 552,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato férrico - $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 404,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato mercúrico - $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ - (PM: 342,6) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato mercurioso - HgNO_3 - (PM: 280,6) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de torio - $\text{Th}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 552,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrito de potasio - KNO_2 - (PM: 85,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrito de sodio - NaNO_2 - (PM: 69,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

4'-Nitroacetofenona - (*p'*-Nitroacetofenona) - $\text{C}_8\text{H}_7\text{NO}_3$ - (PM: 165,2) - Cristales amarillos.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada de la muestra en éter (aproximadamente 0,5 µl) en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de conductividad térmica y una columna de acero inoxidable 1,8 m × 4 mm con fase estacionaria constituida por aceite de dimetilpolisiloxano al 10 % sobre un soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanos superficiales.] Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 200 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 170 °C y se programa un ascenso de 3 °C por minuto hasta alcanzar 220 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de 4'-nitroacetofenona no es menor de 97 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 78 y 80 °C.

o-Nitroanilina - $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2$ - (PM: 138,1) - Cristales amarillo anaranjados. Poco soluble en agua fría; soluble en agua caliente; fácilmente soluble en alcohol y cloroformo. Forma sales solubles en agua con ácidos minerales.

Intervalo de fusión <260> - Entre 71 y 72 °C.

p-Nitroanilina - $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2$ - (PM: 138,1) - Polvo amarillo brillante, cristalino. Insoluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Intervalo de fusión <260> - Entre 146 y 148 °C.

Solubilidad - Porciones separadas de 1 g se disuelven en 30 ml de alcohol y en 40 ml de éter, respectivamente, dando soluciones transparentes o prácticamente transparentes.

Residuo de ignición (ensayo para reactivos) - No más de 0,2 %.

Nitrobenzeno - $\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2$ - (PM: 123,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

4-(p-Nitrobencil) piridina - $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$ - (PM: 214,2) - Cristales amarillos. Soluble en acetona.

Materia insoluble - Disolver 1 g en 10 ml de acetona: la solución es transparente y completa.

Intervalo de fusión <260> - Entre 71 y 74 °C.

Nitrobenzaldehído - (*2-Nitrobenzaldehído*) - $\text{C}_7\text{H}_5\text{NO}_3$ - (PM: 151,1) - Agujas amarillas; fácilmente soluble en alcohol, soluble en éter, poco soluble en agua.

Punto de fusión <260> - Aprox. 42 °C.

5-Nitro-1,10-fenantrolina - $\text{C}_{12}\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_2$ - (PM: 225,2) - Polvo blanco, inodoro. Soluble en agua.

Intervalo de fusión <260> - Entre 198 y 200 °C.

Aptitud como indicador redox - Disolver 25 mg en un volumen mínimo de ácido sulfúrico diluido, agregar 10 mg de sulfato ferroso y diluir con agua a 100 ml: la solución es color rojo profundo y presenta un máximo de absorción a 510 nm. A 1,0 ml de la solución agregar 1,0 ml de sulfato cérico 0,01 M: desaparece el color rojo.

Nitroferriicianuro de sodio - (*Nitroprusiato de sodio*) - $\text{Na}_2\text{Fe}(\text{NO})(\text{CN})_5 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 298,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrometano - CH_3NO_2 - (PM: 61,0) - Líquido aceitoso. Soluble en agua, en alcohol, en éter y en dimetilformamida. Densidad relativa: aproximadamente 1,132. Las soluciones en agua son ácidas al tornasol.

Índice de refracción <230> - Aproximadamente 1,380, a 22 °C.

Intervalo de ebullición - Entre 101 y 103 °C.

Residuo en evaporación - Inapreciable, determinado sobre 50 ml.

Nitroprusiato de sodio - (*Pentosiano-nitrosilferrato (III) de disodio dihidratado*) - $\text{Na}[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot \text{H}_2\text{O}$ - (PM: 298,0) - Polvo o cristales parojizos. Fácilmente soluble en agua; poco soluble en alcohol.

1-Nitroso-2-naftol - $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NO}_2$ - (PM: 173,2) - Polvo marrón a marrón amarillento. Insoluble en agua; soluble en alcohol, éter, tetracloruro de carbono y ácido acético.

Valoración - Transferir aproximadamente 250 mg, previamente secados sobre gel de sílice hasta peso constante y exactamente pesados, a un erlenmeyer con tapón de vidrio y disolver en 10 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 10). Enfriar la solución en un baño de hielo, agregar ácido sulfúrico diluido (1 en 6) hasta que se forme un precipitado leve, permanente y la solución sea algo ácida. Agregar 3 g de ioduro de potasio, agitar hasta disolver, agregar 20 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 6), de inmediato insertar el tapón en el erlenmeyer y dejar reposar en la oscuridad durante 2 horas. Titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 8,66 mg de $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NO}_2$. Contiene no menos de 95,0 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 109 y 111 °C.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,2 %.

Nonadecano - $\text{C}_{19}\text{H}_{40}$ - (PM: 268,5) - Sólido blanco.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de conductividad térmica y una columna de acero inoxidable de 1,8 m × 3 mm con una fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano al 5 % sobre un soporte constituido por tierra silíceas para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido y alcali. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 330 y 300 °C, respectivamente. La temperatura del horno se mantiene inicialmente en 190 °C y se programa un aumento gradual hasta alcanzar 250 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de nonadecano no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 31,5 y 33,5 °C.

O

Octadecilsilano - Este reactivo se forma *in situ* mediante reacción del soporte de columnas con un agente silanizante apropiado, como por ej., el octadecil triclorosilano.

Octanofenona - $C_{14}H_{20}O$ - (PM: 204,3) - Líquido incoloro.

Valoración -

Fase móvil - Acetonitrilo y agua (7:3), filtrado y desgacificado.

Procedimiento - Inyectar aproximadamente 20 μ l en un cromatógrafo de líquidos apropiado (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector ultravioleta a 254 nm y una columna de 15,0 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecil silano, químicamente unido a partículas de sílice porosa o micropartículas cerámicas, de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal es de aproximadamente 2 ml por minuto. El área del pico $C_{14}H_{20}O$ no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <260> - 1,5043, a 20 °C.

1-Octanosulfonato de sodio - $C_8H_{17}NaO_3S$ - (PM: 216,3) - Emplear uno de grado apropiado.

(p-ter-Octilfenoxi)nonaetoxietanol - (*Polietilenglicol fenil nonil éter*) - $C_{34}H_{62}O_{11}$ - (PM: 646,9) - Emplear uno de grado apropiado.

(p-ter-Octilfenoxi)polietoxietanol - Emplear uno de grado apropiado.

Octil sulfato, sal sódica - $C_8H_{17}O_4SNa$ - (PM: 232,3) - Polvo blanco.

Solubilidad - 2 g se disuelven en 100 ml de agua.

Intervalo de fusión <260> - Entre 195 y 197 °C, con descomposición.

Octoxinol 9 - Ver Agente humectante no iónico.

Octoxinol 10 - (α -[4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenil]-*w*-hidroxipropil(oxietileno)) - $C_{34}H_{62}O_{11}$ - (PM: 647,0) - Líquido transparente, amarillo pálido, viscoso, miscible con acetona, agua y alcohol. Soluble en tolueno. Conservar en envase hermético.

Oleamida - ((*z*)-Octadec-9-enamida) - $C_{18}H_{35}NO$ (PM: 281,5) - Polvo o granulado blanco o amarillento. Prácticamente insoluble en agua; muy soluble en cloruro de metileno; soluble en etanol.

Punto de fusión - Aproximadamente a 80 °C.

Oleato de metilo - $C_{19}H_{36}O_2$ - (PM: 296,5) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar recubierta con una capa 1 μ m de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 230 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de $C_{19}H_{36}O_2$ no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - 1,452, a 20 °C.

Orcinol - (*5-Metilresorcinol*) - $C_7H_8O_2 \cdot H_2O$ - (PM: 142,2) - Cristales de color blanco a canela brillante.

Valoración - Transferir aproximadamente 60 mg, exactamente pesados, a un matraz aforado de 100 ml, disolver en metanol, completar a volumen con metanol y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con metanol y mezclar. Determinar la absorbancia de la solución en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 273 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando metanol como blanco. A partir de la absorbancia observada, calcular la absortividad (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*): la absortividad no es menor de 13,2, correspondiente a no menos de 98 % de $C_7H_8O_2 \cdot H_2O$.

Intervalo de fusión <260> - Entre 58 y 61 °C.

Ortofenantrolina - Ver 1,10-Fenantrolina.

Oxalato de amonio - $(NH_4)_2C_2O_4 \cdot H_2O$ - (PM: 142,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Oxalato de sodio - $Na_2C_2O_4$ - (PM: 134,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

3,3'-Oxidipropionitrilo - $O(CH_2CH_2CN)_2$ - (PM: 124,1) - Líquido transparente, incoloro a algo amarillo. Índice de refracción: aproximadamente 1,446, a 20 °C.

Intervalo de ebullición - Entre 174 y 176 °C, a 10 mm Hg.

Óxido de aluminio lavado con ácido - (*Alúmina especialmente preparada para emplear en análisis cromatográfico*) - Polvo blanco o gránulos finos prácticamente blancos. Muy higroscópico. Almacenar en envases de cierre perfecto.

pH - El pH de una pasta espesa bien mezclada de 5 g en 150 ml de agua libre de amoníaco, luego

de 10 minutos en reposo, se encuentra entre 3,5 y 4,5.

Pérdida por ignición - Pesar exactamente 1 g y calcinar, preferentemente en una mufla, entre 800 y 825 °C, hasta peso constante: no pierde más de 5,0 % de su peso.

Silice - Fundir 500 mg con 10 g de bisulfato de potasio durante 1 hora en un crisol de platino, enfriar y disolver en agua caliente: no se obtiene más que una cantidad pequeña de materia insoluble.

Aptitud para adsorción cromatográfica - Disolver 50 mg de *o*-nitroanilina en benceno para obtener 50,0 ml. Diluir 10 ml de la solución resultante con benceno a 100,0 ml y mezclar (*Solución A*).

De inmediato, pesar rápido aproximadamente 2 g ($\pm 0,005$) de muestra en un pesafiltro y transferirlo a un tubo de ensayo seco, con tapón de vidrio. Agregar 20,0 ml de *Solución A*, tapar, agitar vigorosamente durante 3 minutos y dejar sedimentar. Transferir 10 ml de la solución sobrenadante transparente a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con benceno y mezclar (*Solución B*). Determinar las absorbancias de las *Soluciones A* y *B*, a 395 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando benceno como blanco. Calcular la cantidad absorbida, en mg por g de muestra, por la fórmula siguiente:

$$[2(1 - A_B/A_A)]/P$$

en la cual, A_A y A_B son las absorbancias de las *Soluciones A* y *B*, respectivamente y P es el peso, en g, de óxido de aluminio. Cada gramo de óxido de aluminio absorbe no menos de 0,3 mg de *o*-nitroanilina.

Óxido de cinc - ZnO - (PM: 81,4) - Polvo amorfo, ligero y blanco o débilmente blanco-amarillento, sin aglomerados. Prácticamente insoluble en agua y alcohol. Se disuelve en ácidos minerales diluidos.

Óxido de deuterio - (*Agua deuterada*) - D₂O - (PM: 20,03) - Emplear uno de grado apropiado que tiene una pureza isotópica mínima de 99,8 % para el átomo de deuterio.

Óxido de holmio - Ho₂O₃ - (PM: 377,9) - Polvo amarillento. Prácticamente insoluble en agua.

Óxido de magnesio - MgO - (PM: 40,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Óxido de magnesio para cromatografía - Emplear uno de grado apropiado.

Óxido de mesitilo - C₆H₁₀O - (PM: 98,1) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*)

equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μ m de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 150 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene en 50 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 200 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico C₆H₁₀O no es menor de 98 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,443 y 1,447, a 20 °C.

Óxido de plata - Ag₂O - (PM: 231,7) - Polvo pesado negro pardusco, inodoro. Se descompone lentamente por exposición a la luz. Absorbe dióxido de carbono cuando se humedece. Prácticamente insoluble en agua; fácilmente soluble en ácido nítrico diluido y amoníaco; insoluble en alcohol. Almacenar en envases bien cerrados; no exponer a vapores de amoníaco ni a sustancias fácilmente oxidables.

Valoración - Disolver aproximadamente 500 mg, previamente secados a 120 °C durante 3 horas y exactamente pesados, en una mezcla de 20 ml de agua y 5 ml de ácido nítrico. Diluir con agua a 100 ml, agregar 2 ml de sulfato férrico amónico (SR) y titular con tiocianato de amonio 0,1 N (SV) hasta un color pardo rojizo permanente. Cada mililitro de tiocianato de amonio 0,1 N equivale a 11,59 mg de Ag₂O. No contiene menos de 99,7 % de Ag₂O.

Pérdida por secado - Secar a 120 °C durante 3 horas: no pierde más de 0,25 % de su peso.

Nitrato - A 500 mg, agregar 30 mg de carbonato de sodio y 2 ml de ácido fenoldisulfónico (SR), mezclar y calentar en un baño de vapor durante 15 minutos. Enfriar, agregar con precaución 20 ml de agua, alcalinizar con amoníaco (SR) y diluir con agua a 30 ml: ningún color que produzca la solución muestra es más intenso que el producido por un control que contenga 0,01 mg de NO₃ (0,002 %).

Sustancias insolubles en ácido nítrico - Disolver 5 g en una mezcla de 5 ml de ácido nítrico y 10 ml de agua, diluir con agua a aproximadamente 65 ml y filtrar el residuo no disuelto en un crisol filtrante previamente pesado (retener el filtrado para el ensayo de *Sustancias no precipitadas por ácido clorhídrico*). Lavar el crisol con agua hasta que el último lavado no presente opalescencia con 1 gota de ácido clorhídrico y secar a 105 °C hasta peso constante: el residuo no pesa más de 1 mg (0,02 %).

Sustancias no precipitadas por ácido clorhídrico - Diluir el filtrado obtenido en el ensayo de *Sustancias insolubles en ácido nítrico* con agua a

250 ml, calentar a ebullición y agregar, ácido clorhídrico gota a gota, suficiente para precipitar toda la plata (aproximadamente 5 ml), evitando cualquier exceso. Enfriar, diluir con agua a 300 ml y dejar reposar durante toda la noche. Filtrar, evaporar 200 ml del filtrado en una cápsula de porcelana, previamente pesada, hasta sequedad y someter a ignición: el residuo no pesa más de 1,7 mg (0,05 %).

Alcalinidad - Calentar 2 g con 40 ml de agua en un baño de vapor durante 15 minutos, enfriar y diluir con agua a 50 ml. Filtrar, descartando los

primeros 10 ml del filtrado. Agregar a 25 ml del filtrado posterior, 2 gotas de fenolftaleína (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,02 N (SV) hasta la desaparición de cualquier color rosado: no se consume más de 0,20 ml (0,016 % como NaOH).

Óxido de trioctilfosfina - $C_{24}H_{51}PO$ - (PM: 386,6) Polvo blanco, cristalino. Insoluble en agua; soluble en solventes orgánicos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 54 y 56 °C.

Óxido mercúrico amarillo - HgO - (PM: 216,6) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

P

Paladio catalizador - Emplear uno de grado apropiado.

Palmitato de retinilo - $C_{36}H_{60}O_2$ - (PM: 524,9) - Líquido amarillo.

Valoración -

Fase móvil - Acetonitrilo y tetrahidrofurano (55:15).

Procedimiento - Inyectar aproximadamente 10 μ l en un cromatógrafo de líquidos apropiado (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector ultravioleta a 320 nm y una columna de 15 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice porosa o micropartículas cerámicas, de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal es de aproximadamente 1 ml por minuto. El área del pico de $C_{36}H_{60}O_2$ no es menor de 93 % del área total.

Pantotenato de calcio, dextrógiro - Emplear *Pantotenato de calcio*.

Papel de filtro cuantitativo - Para el Papel de bromuro mercúrico empleado para el ensayo de arsénico, emplear papel de filtro lavado con ácido, de bajo contenido de cenizas y calidad apropiada.

Papel inodoro absorbente - Ver Papel de filtro cuantitativo.

Paraformaldehído - $(CH_2O)_n$ - Polvo blanco, fino, de olor característico a formaldehído.

Valoración - Transferir aproximadamente 1 g, exactamente pesado, a un erlenmeyer de 250 ml que contiene 50,0 ml de hidróxido de sodio 1 N (SV) y mezclar agitando por rotación. De inmediato y lentamente, agregar 50 ml de peróxido de hidrógeno (SR), previamente neutralizado con azul de bromotimol, a través de un embudo. Luego de que la reacción se modera, lavar el embudo y la pared interna del erlenmeyer con agua, dejar la solución en reposo durante 30 minutos, agregar azul de bromotimol (SR) y titular el exceso de álcali con ácido sulfúrico 1 N (SV). Cada mililitro de hidróxido de sodio 1 N equivale a 30,03 mg de HCHO. Contiene no menos de 95 %.

Residuo de ignición - No más de 0,1 %.

Solubilidad en amoníaco - Disolver 5 g en 50 ml de amoníaco (SR): la solución es prácticamente transparente e incolora.

Reacción - Agitar 1 g con 20 ml de agua durante aproximadamente 1 minuto y filtrar: el filtrado es neutro al tornasol.

Penicilinasas - Ver Beta-lactamasas.

Pentacianoamino ferrato trisódico - (PM: 271,9) - $Na_3[Fe(CN)_5NH_3]$ - Polvo amarillo a marrón. Soluble en agua.

Solubilidad - Disolver 500 mg en 50 ml de agua y dejar reposar durante 1 hora: la solución es transparente y libre de materia extraña.

Sensibilidad -

Solución estándar de 1,1-dimetilhidracina - Transferir 500 ml de agua a un matraz aforado de 1 litro y agregar desde una bureta 1,27 ml de 1,1-dimetilhidracina anhidra. Completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 10 ml de esta solución en un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua. Cada mililitro de esta solución equivale a 100 μ g de 1,1-dimetilhidracina.

Solución reguladora - Transferir 4,8 g de ácido cítrico monohidratado a un matraz aforado de 1 litro, disolver en agua, agregar 14,6 g de fosfato de sodio, agitar por rotación hasta disolver y completar a volumen con agua.

Preparación muestra - Disolver 100 mg de Pentacianoamino ferrato trisódico en 100 ml de agua.

Procedimiento - A cada uno de cinco matraces aforados de 25 ml transferir 0; 0,25; 0,50; 1,0 y 1,5 ml, respectivamente, de *Solución estándar de 1,1-dimetilhidracina*. Agregar a cada matraz 15 ml de *Solución reguladora* y agitar por rotación para mezclar. Transferir a cada matraz, 2 ml de *Preparación muestra*, mezclar, completar a volumen con *Solución reguladora* y dejar en reposo durante 1 hora. Determinar las absorbancias de las soluciones resultantes, en celdas de 1 cm, a 500 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando la solución que no contenga *Solución estándar de 1,1-dimetilhidracina* como blanco. Graficar absorbancia en función de la concentración del estándar y trazar la curva que mejor ajuste. El gráfico es lineal y la absorbancia de la solución de 150 μ g no debe ser menor de 0,65.

Pentacloruro de antimonio - $SbCl_5$ - (PM: 299,0) Líquido transparente, amarillo rojizo, aceitoso, higroscópico, cáustico. Emite gases al aire húmedo y solidifica mediante absorción de una molécula de agua. Se descompone con agua. Soluble en ácido clorhídrico diluido y cloroformo. Hierve aproximadamente a 92 °C, a una presión de 30 mm Hg y tiene una densidad relativa de aproximadamente 2,34, a 25°C.

Precaución - El Pentacloruro de antimonio causa quemaduras severas y el vapor es peligroso.

Valoración - Pesar exactamente un erlenmeyer con tapón de vidrio de 125 ml, transferir de inme-

diato aproximadamente 0,3 ml de muestra y pesar nuevamente. Disolver con 20 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 5) y agregar 10 ml de solución de ioduro de potasio (1 en 10) y 1 ml de disulfuro de carbono. Titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV). El color pardo gradualmente desaparecerá de la solución y las últimas trazas de iodo libre se recogerán en el disulfuro de carbono, dando un color rosado. Cuando desaparece este color rosado se ha llegado el punto final. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 14,95 mg de SbCl_5 . Contiene no menos de 99,0 % de SbCl_5 .

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método II*. Disolver 4,3 ml (10 g) en un volumen mínimo de ácido clorhídrico, diluir con agua a 150 ml, neutralizar con hidróxido de amonio y filtrar. Agregar al filtrado 2 ml de ácido clorhídrico: la solución con 10 ml de cloruro de bario (SR) produce no más de 1,3 mg de residuo, corregido por un ensayo en blanco (0,005%).

Arsénico - Agregar 10 ml de una solución recientemente preparada de 20 g de cloruro estañoso en 30 ml de ácido clorhídrico, a 100 mg de muestra disuelta en 5 ml de ácido clorhídrico. Mezclar, transferir a un tubo de Nessler y dejar reposar durante 30 minutos. Cualquier color en la solución de la muestra no debe ser más oscuro que el de un control que contiene 0,02 mg de arsénico (As), tratado de la misma manera que la muestra, cuando se observa desde arriba sobre una superficie blanca (0,02 % de As).

Hierro <580> - Al residuo del ensayo de *Sustancias no precipitadas por sulfuro de hidrógeno* agregar 2 ml de ácido clorhídrico y 5 gotas de ácido nítrico y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Tomar el residuo en 2 ml de ácido clorhídrico y diluir con agua a 47 ml: la solución no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,001 %).

Otros metales pesados (como Pb) - Disolver el precipitado en el papel de filtro, del ensayo *Sustancias no precipitadas por sulfuro de hidrógeno*, con 75 ml de una solución que contiene 6 g de sulfuro de sodio y 4 g de hidróxido de sodio disueltos en agua y diluidos con agua a 100 ml. Recolectar el filtrado en el erlenmeyer original que contiene el resto del precipitado de sulfuro. Calentar la solución para disolver los sulfuros solubles y dejar que sedimenten los sulfuros insolubles. Filtrar, lavar con sulfuro de hidrógeno (SR) y disolver el precipitado que permanece en el papel de filtro con 10 ml de ácido clorhídrico diluido caliente. Diluir el filtrado con agua a 50 ml. Neutralizar una porción de 25 ml de esta solución con hidróxido de sodio 1 N y agregar 1 ml de ácido acético 1 N y 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR). Cualquier color pardo no debe

exceder el producido por 0,05 mg de plomo iónico en un volumen igual de solución que contiene 1 ml de ácido acético 1 N y 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR) (0,005 %).

Sustancias no precipitadas por sulfuro de hidrógeno (como SO_4) - Disolver 0,90 ml (2 g) en 5 ml de ácido clorhídrico y diluir con 95 ml de agua. Precipitar el antimonio completamente con sulfuro de hidrógeno, dejar que el precipitado sedimente y filtrar, con cuidado de no transferir gran parte del precipitado al papel de filtro. [NOTA: retener el precipitado]. A 50 ml del filtrado, agregar 0,5 ml de ácido sulfúrico, evaporar en un crisol de porcelana, previamente pesado, hasta sequedad e incinerar a 800 ± 25 °C durante 15 minutos. [NOTA: retener el residuo.] El peso del residuo de ignición no debe ser más de 0,0010 g mayor que el peso obtenido con un blanco (0,10 %).

Pentadecano - $\text{C}_{15}\text{H}_{32}$ - (PM: 212,4) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 280 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 180 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico $\text{C}_{15}\text{H}_{32}$ no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,430 y 1,434, a 20 °C.

Pentano - (*n*-Pentano) - C_5H_{12} - (PM: 72,2) - Líquido transparente, incoloro, inflamable. Poco soluble en agua. Miscible con alcohol, éter y con varios solventes orgánicos. Densidad relativa: aproximadamente 0,62.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 34 y 36 °C.

1-Pentanosulfonato de sodio - (PM: 192,2) - $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NaO}_3\text{S} \cdot \text{H}_2\text{O}$ - Sólido blanco, cristalino. Soluble en agua.

Solubilidad - 1 g disuelto en 25 ml de agua, produce una solución transparente y completa.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 2,0 %.

Pentóxido de fósforo - (*Anhidrido fosfórico*) - P_2O_5 - (PM: 141,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Pentóxido de vanadio - V_2O_5 - (PM: 181,9) - Polvo fino amarillo a amarillo anaranjado. Poco

soluble en agua; soluble en ácidos concentrados y en álcalis; insoluble en alcohol.

Valoración - Transferir aproximadamente 400 mg, exactamente pesados, a un erlenmeyer de 500 ml y agregar 150 ml de agua y 30 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 2). Calentar a ebullición la solución sobre una placa calefactora durante 5 minutos, agregar 50 ml de agua y continuar calentando a ebullición hasta obtener una solución amarilla. Transferir la placa calefactora y el erlenmeyer a una campana extractora bien ventilada y burbujear dióxido de azufre a través de la solución durante 10 minutos o hasta que la solución sea de color azul claro brillante. Lavar el tubo de salida del gas con unos ml de agua luego burbujear dióxido de carbono a través de la solución durante 30 minutos mientras se continúa calentando a ebullición la solución suavemente. Enfriar la solución a aproximadamente 80 °C y titular con permanganato de potasio 0,1 N (SV) hasta punto final anaranjado amarillo. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de permanganato de potasio 0,1 N equivale a 9,095 mg de V_2O_5 . Contiene no menos de 99,5 %.

P-EPQ - Mezcla de siete compuestos, correspondientes al producto de reacción del fosfito de di-ter-butilo con tricloruro de difósforo, en su reacción con bifenilo y 2,4-bis(1,1-dimetil)fenol.

Pepsina - Emplear *Pepsina (Preparaciones de enzima)*, con una actividad de 1,0 a 1,17 unidades de Pepsina por mg. La pepsina de actividad mayor puede reducirse a esta actividad mezclándola con pepsina de actividad inferior o con lactosa.

Peptona seca - (*Peptona de carne*) - Polvo pardo a amarillo rojizo, de olor característico pero no pútrido. Soluble en agua, con formación de una solución pardo amarillenta que tiene una reacción levemente ácida; insoluble en alcohol y éter.

Compuestos nitrogenados (Ensayo para reactivos) - Determinar por el método de Kjeldahl, empleando una muestra previamente secada a 105 °C hasta peso constante: contiene entre 14,2 y 15,5 % de N, que corresponde a no menos de 89 % de proteína.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 500 mg con 1 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 25 mg (5,0 %).

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 7,0 % de su peso.

Proteína coagulable - Calentar una solución filtrada (1 en 20) a ebullición: no se forma precipitado.

Proteasas - Mezclar 5 ml de una solución filtrada (1 en 10) con 20 ml de una solución filtrada de

sulfato de cinc (preparada disolviendo 50 g de la sal en 35 ml de agua): sólo se forma un precipitado leve en forma de flóculos.

Perclorato de litio - $LiClO_4$ - (PM: 106,4) - Cristales pequeños, blancos. Fácilmente soluble en agua; moderadamente soluble en alcohol, acetona, éter y acetato de etilo.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 20 g disueltos en 200 ml de agua (0,005 %).

pH - Entre 6,0 y 7,5, en una solución de 10 g en 200 ml de amoníaco y agua.

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,03 mg de Cl (0,003 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método II*. Disolver 40 g en 300 ml de agua, agregar 2 ml de ácido clorhídrico y calentar la solución a ebullición. Agregar 5 ml de cloruro de bario (SR), digerir en un baño de vapor durante 2 horas y dejar reposar durante toda la noche. Si se forma precipitado, filtrar, lavar e incinerar: el residuo no pesa más de 1 mg (0,001 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 5 ppm.

Hierro - Disolver 1 g en agua y diluir con agua a 20 ml. Agregar 1 ml de solución de clorhidrato de hidroxilamina (1 en 10), 4 ml de una solución acidificada de ortofenantrolina y 1 ml de solución de acetato de sodio (1 en 10) y dejar reposar durante 1 hora: cualquier color rojo producido no es más oscuro que el de un control que contiene 0,005 mg de Fe (5ppm).

Perclorato de magnesio anhidro - $Mg(ClO_4)_2$ - (PM: 223,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Perclorato de plomo - $Pb(ClO_4)_2 \cdot 3H_2O$ - (PM: 460,2) - Cristales blancos.

Valoración - Transferir aproximadamente 1,8 g, exactamente pesados, a un envase apropiado y disolver en 50 ml de agua. Pasar la solución a través de una columna apropiada corta de intercambio catiónico, recolectando el eluato en un envase apropiado. Lavar la columna con agua hasta que el eluato sea neutro frente al papel de tornasol azul y combinar los lavados con el primer eluato. Agregar 5 gotas de fenoltaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 23,07 mg de $Pb(ClO_4)_2 \cdot 3H_2O$.

Perclorato de potasio - $KClO_4$ - (PM: 138,6) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Perclorato de sodio - $NaClO_4 \cdot H_2O$ - (PM:140,5) Cristales incoloros, delicuescentes. Se

descompone aproximadamente a 150 °C. Soluble en alcohol al 95%.

Valoración - Secar aproximadamente 1,5 g en un desecador al vacío a 80 °C hasta peso constante. Pesar exactamente alrededor de 750 mg de muestra, previamente secada y pulverizada, y mezclarlos con 5 g de nitrito de sodio pulverizado en un crisol de níquel, cubrir el crisol y calentar sobre llama libre hasta que la mezcla se funda totalmente. Mantener en este estado, sin elevar la temperatura, durante 30 minutos. Dejar enfriar, agregar 20 ml de agua caliente y digerir hasta que el material fundido se disuelva. Filtrar a un matraz aforado de 200 ml, lavar minuciosamente cualquier material no disuelto con agua caliente, enfriar, completar a volumen con agua y mezclar.

Transferir 50,0 ml de la solución a un erlenmeyer con tapón de vidrio de 250 ml, agregar 25,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV), agregar lentamente 6 ml de ácido nítrico diluido (1 en 6) y calentar en un baño de vapor para expulsar los óxidos de nitrógeno. Enfriar, agregar 3 ml de nitrobenzono, agitar vigorosamente durante 1 a 2 minutos, agregar 4 ml de sulfato férrico amónico (SR) y titular el exceso de nitrato de plata con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 12,24 mg de NaClO₄. Contiene no menos de 98,0 % de NaClO₄.

Materia insoluble - Disolver 10 g en 50 ml de agua, calentar a ebullición y filtrar a través de un crisol previamente pesado de vidrio sinterizado. Lavar perfectamente con agua, lavando el vaso de precipitados minuciosamente. Secar a 105 °C durante 2 horas y pesar. El peso del residuo insoluble no es mayor de 1 mg (0,01 %).

Clorato y cloruro (como Cl) - Disolver 1 g en 10 ml de agua, agregar 1 ml de sulfato ferroso 0,1 N y calentar en un baño de vapor durante 15 minutos. Enfriar, diluir con agua a 50 ml y agregar 1 ml de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata (SR). Cualquier turbidez no excede la producida por 0,1 mg de cloruro (Cl) contenido en un blanco tratado en forma similar (0,01 % de Cl).

Sulfato - Disolver 1 g en 10 ml de agua y agregar 0,05 ml de ácido clorhídrico diluido y 1 ml de cloruro de bario (SR). Cualquier turbidez producida en 10 minutos no excede la producida por un blanco que contenga 0,05 mg de SO₄ (0,005 %).

Calcio - Disolver 500 mg en 10 ml de agua caliente, agregar 0,25 ml de amoníaco (SR) y 3 ml de oxalato de amonio (SR) y mantener la solución en caliente. No se produce turbidez en 5 minutos (aproximadamente 0,02 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - Disolver 1 g en 25 ml de agua. No más de 0,002 %.

Perclorato de tetraetilamonio - (C₂H₅)₄NClO₄ - (PM: 229,7) - Cristales blancos. Soluble en agua. Emplear uno de grado apropiado.

Periodato de potasio - (*Metaperiodato de potasio*) - KIO₄ - (PM: 230,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Periodato de sodio - (*Metaperiodato de sodio*) - NaIO₄ - (PM: 213,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Permanganato de potasio - KMnO₄ - (PM: 158,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Peróxido de hidrógeno al 30 % - H₂O₂ - (PM: 34,0) - Emplear *Agua oxigenada concentrada*.

Peróxido de sodio - Na₂O₂ - (PM: 78,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Persulfato de amonio - (NH₄)₂S₂O₈ - (PM: 228,2) Emplear un reactivo analítico apropiado.

Persulfato de potasio - K₂S₂O₈ - (PM: 270,3) - Emplear peroxodisulfato de potasio grado reactivo.

2-Picolina - C₆H₇N - (PM: 93,1) - Líquido incoloro a amarillento.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 2 m × 2 mm con fase estacionaria líquida constituida por un compuesto de polietilenglicol al 20 % (p.m.p aproximadamente 15.000 [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido]), sobre un soporte preparado con ladrillo refractario molido y calcinado o quemado, con una arcilla como aglutinante, por arriba de los 900 °C con lavado ácido posterior, la cual puede ser silanizada, de malla 80 a 100. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 140 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 90 °C y se programa un ascenso de 3 °C por minuto hasta 140 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico C₆H₇N no es menor de 98 % del área total.

Índice de refracción - 1,500 ± 0,002, a 20 °C.

Pícrico, ácido - Ver *Ácido Pícrico*.

Piedra pómez - Sustancia de origen volcánico que consta principalmente de silicatos complejos de aluminio y metales alcalinos. Existe como masas muy livianas, duras, ásperas, porosas, grises o como

un polvo color gris. Es insoluble en agua y no es atacado por ácidos diluidos.

Sustancias solubles en agua y en ácidos - En un balón equipado con un refrigerante, calentar a ebullición 2,0 g de piedra pómez pulverizada con 50 ml de ácido clorhídrico diluido durante 30 minutos. Enfriar y filtrar. A la mitad del filtrado, agregar 5 gotas de ácido sulfúrico, evaporar hasta sequedad, someter a ignición y pesar: el residuo no pesa más de 60 mg (6,0 %).

Piperidina - $C_5H_{11}N$ - (PM: 85,2) - Líquido incoloro. Miscible con agua y alcohol. Densidad relativa: aproximadamente 0,860.

Temperatura de solidificación <180> - Entre 12 y 15 °C.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 104 y 106 °C.

Índice de refracción <230> - Aproximadamente 1,454.

Pireno - $C_{16}H_{10}$ - (PM: 202,3) - Cristales de color entre blanco y amarillo claro.

Valoración - Transferir aproximadamente 9 mg, exactamente pesados, a un matraz aforado de 100 ml, disolver en metanol, completar a volumen con metanol y mezclar. Transferir 2,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con metanol y mezclar. Determinar la absorbancia de la solución en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente a 238 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando metanol como blanco. Calcular la absorbancia (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*): la absorbancia no es menor de 432,9, correspondiente a no menos de 98 % de $C_{16}H_{10}$.

Intervalo de fusión <260> - Entre 149 y 153 °C, con un intervalo de fusión de 2 °C.

1-(2-Piridilazo)-2-naftol - $C_{15}H_{11}N_3O$ - (PM: 249,3) - Cristales estables, rojo anaranjado. Poco soluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones calientes de álcalis diluidos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 140 y 142 °C.

Sensibilidad - Agregar 0,1 ml de una solución (1 en 1.000) en alcohol a una mezcla de 10 ml de agua y 1 ml de una solución reguladora preparada mezclando 80 ml de ácido acético 0,2 M y 20 ml de solución de acetato de sodio (8,2 en 100) y mezclar. A esta solución agregar 1 ml de una mezcla de 1 ml de sulfato cúprico (SR) y 2 ml de agua y mezclar: el color cambia de amarillo a rojo.

Piridina - C_5H_5N - (PM: 79,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Piridina seca - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Piroantimoniato de potasio - (*Hexahidroxian-timoniato de potasio*) - $KSbO_3 \cdot 3H_2O$ - (PM: 262,9) - Cristales blancos o polvo cristalino blanco. Ligeramente soluble en agua. Emplear uno de grado apropiado.

Pirofosfato de potasio - $K_4P_2O_7$ - (PM: 330,3) - Gránulos incoloros delicuescentes. Fácilmente soluble en agua; insoluble en alcohol.

Pirofosfato de sodio - $Na_4P_2O_7$ - (PM: 265,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Pirogalol - $C_6H_3(OH)_3$ - (PM: 126,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Pirosulfato de potasio - Generalmente disponible como una mezcla de piro sulfato de potasio ($K_2S_2O_7$) y bisulfato de potasio ($KHSO_4$) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Pirrol - C_4H_5N - (PM: 67,1) - Líquido transparente, incoloro cuando está recientemente destilado, tornándose amarillo en unos pocos días. Tiene un olor característico. Densidad relativa: aproximadamente 0,94. Insoluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 90 % destila entre 128 y 132 °C.

Pirrolidinatiocarbamato de amonio - (*1-pirrolidinilditioformiato de amonio*) - $C_5H_{12}N_2S_2$ - (PM: 164,3) - Polvo cristalino blanco o amarillo pálido. Moderadamente soluble en agua; muy poco soluble en alcohol. Conservar en un envase que contenga un trozo de carbonato de amonio envuelto en una gasa.

Piruvato de sodio - CH_3COCO_2Na - (PM: 110,0) - Polvo o sólido cristalino blanco o prácticamente blanco. Soluble en agua.

Valoración - Transferir aproximadamente 300 mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados para titulación de paredes altas, agregar 150 ml de ácido acético glacial y agitar hasta disolución. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente, empleando un electrodo de vidrio y un electrodo de calomel modificado para emplear cloruro de tetrametilamonio 0,1 N en metanol como electrolito. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 11,00 mg de CH_3COCO_2Na . Contiene no menos de 98,0 %.

Solubilidad - Disolver 1,5 g en 25 ml de agua: la solución es transparente y completa.

Ácido libre - Disolver 10 g en 150 ml de agua y titular con hidróxido de sodio 0,5 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente: no se

requieren más de 2,8 ml de hidróxido de sodio 0,5 N (aproximadamente 1 % como $C_3H_4O_3$).

Poli[(cianopropil)metil]fenilmetilsiloxano - Contiene 25 por ciento de grupos cianopropilo, 25 por ciento de grupos fenilo y 50 por ciento de grupos metilo (masa molecular relativa media 8.000). Líquido muy viscoso, aprox. 9.000 mPa-s.

Densidad relativa - Aprox. 1,10 a 20 °C.

Índice de refracción <230> - Aprox. 1,502.

Polietilenglicol 400 - (p.m.p.: 400) - Mezcla de polímeros representado por $H-(OCH_2-CH_2)_n-OH$ - Líquido, límpido, viscoso, higroscópico, incoloro o casi incoloro. Miscible en agua. Muy soluble en acetona, alcohol y cloruro de metileno, prácticamente insoluble en éter, aceites grasos y aceites minerales.

Polietilenglicol 600 - (p.m.p.: 600) - Polímero de condensación líquido transparente, prácticamente incoloro, viscoso representado por $H(OCH_2CH_2)_nOH$, donde n varía de 12 a 14.

Cumple con los requisitos de todos los ensayos para *Polietilenglicol 400*, excepto *Límite de etileno y dietilenglicol*.

Polietilenglicol 4.000 - Intervalo de peso molecular: 4.345-5.272 - Polímero de condensación del óxido de etileno en agua, que corresponde a la fórmula general, $H-(OCH_2-CH_2)_nOH$, siendo n variable entre 70 y 85. Masa sólida amorfa o con forma de escamas, de aspecto céreo de color blanquecino o cremoso pálido, con una textura semejante a la de la parafina; prácticamente inodora e insípida. Soluble en 4 partes de agua destilada, en 2,5 partes de alcohol y en 2 partes de cloroformo; insoluble en éter.

Polietilenglicol 20.000 - Intervalo de peso molecular: 15.000-20.000 - Sólido duro, blanco, céreo, generalmente provisto en forma escamas. Soluble en agua con posterior formación de un gel.

Viscosidad de la solución al 25 % <190> - Agregar 50,0 g de muestra a un frasco de boca ancha de 250 ml, con tapa a rosca que contiene 150,0 g de agua. Tapar el frasco firmemente y agitar en un agitador mecánico durante 2 a 4 horas hasta que la muestra se disuelva completamente. Dejar la solución en reposo hasta que hayan desaparecido todas las burbujas de aire. Se pueden requerir entre otras 2 a 4 horas. Ajustar la temperatura de la solución a $37,8 \pm 0,1$ °C y determinar la viscosidad cinemática en un viscosímetro apropiado del tipo Ubbelohde (ver 190. *Determinación de la viscosidad*). La viscosidad no es menor de 100 centistokes.

pH <250> - Entre 6,5 y 8,0 en una solución (1 en 20). [NOTA: se puede emplear una dilución de cinco veces la solución muestra preparada para el ensayo de *Viscosidad de la solución al 25 %*.]

Residuo de ignición <270> - No más de 0,7 %, omitiendo el empleo de ácido sulfúrico.

Polioxietilen (23) lauril éter - Emplear uno de grado apropiado.

Polvo de cerebro de buey desecado con acetona - Ver cerebro de buey desecado con acetona, polvo de.

Preparación de enzima sulfatasa - Emplear uno de grado apropiado.

Purina - $C_5H_4N_4$ - (PM: 120,1) - Polvo blanco a casi blanco.

Cuando se analiza por cromatografía en capa delgada empleando placas recubiertas con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor y una fase móvil que consiste en alcohol butílico, agua y ácido cético glacial (60:25:15), presenta una sola mancha.

Intervalo de fusión <260> - Entre 214 y 217 °C.

Púrpura de m-cresol - $C_{21}H_{18}O_5S_2$ - (PM: 382,4) - Emplear un reactivo de grado apropiado.

Q

Queroseno - Corresponde a una mezcla de hidrocarburos, principalmente de la serie del metano. Líquido transparente, incoloro, de olor característico, pero no desagradable. Destila entre 180 y 300 °C. Densidad relativa: aproximadamente 0,80.

Quinhidrona - $C_6H_4(OH)_2$. $C_6H_4O_2$ - (PM: 218,2) - Cristales verdes con un reflejo metálico. Poco soluble en agua fría; soluble en agua caliente, alcohol y éter.

Valoración - Transferir aproximadamente 450 mg, exactamente pesados, a un erlenmeyer con tapón de vidrio, agregar 50 ml de ácido sulfúrico 1 N y 3 g de yoduro de potasio, tapar y agitar hasta disolución. Titular el yodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 5,405 mg de quinona ($C_6H_4O_2$). Contiene entre 49,0 y 51,0 %.

Materia insoluble en alcohol - Disolver 10 g en 100 ml de alcohol caliente, filtrar a través de un crisol previamente pesado de porosidad fina y lavar con alcohol caliente hasta que el último lavado sea incoloro. Secar a 105 °C, enfriar en un desecador y pesar: el residuo no pesa más de 1,0 mg (0,010 %).

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,050 %, empleando una muestra de 2,0 g. [NOTA: retener el residuo].

Sulfato - Transferir 1 g a un crisol de platino, agregar 10 ml de agua caliente y 0,5 g de carbonato de sodio, evaporar hasta sequedad e incinerar, protegido del azufre en la llama, hasta que el residuo sea casi blanco. Enfriar, agregar 20 ml de agua y

1 ml de peróxido de hidrógeno al 30 %, calentar a ebullición suavemente durante unos pocos minutos, agregar 2 ml de ácido clorhídrico y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Enfriar, disolver el residuo en 20 ml de agua, filtrar y, al filtrado, agregar 1 ml de ácido clorhídrico 1 N y 3 ml de cloruro de bario (SR): cualquier turbidez producida dentro de los 10 minutos no es mayor a la de un control que contenga 0,2 mg de SO_4 , 0,5 mg de carbonato de sodio, 1 ml de peróxido de hidrógeno al 30 % y 2 ml de ácido clorhídrico previamente evaporado en un baño de vapor hasta sequedad (0,02 %).

Metales pesados - Al residuo retenido del ensayo para *Residuo de ignición*, agregar 2 ml de ácido clorhídrico y 0,5 ml de ácido nítrico y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Disolver el residuo en 30 ml de agua caliente con 1 ml de ácido clorhídrico 1 N, enfriar, diluir con agua a 40 ml y mezclar. Diluir 20 ml de esta solución (retener el resto de la solución) con agua a 25 ml, ajustar a pH entre 3,0 y 4,0 agregando hidróxido de amonio 6 N o ácido acético 1 N, según sea necesario, diluir con agua a 40 ml y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR) recientemente preparado: cualquier color pardo producido no es mayor al de un control que contenga a 0,02 mg de Pb (0,002 %).

Hierro <580> - A 10 ml de la solución retenida del ensayo para *Metales pesados*, agregar 2 ml de ácido clorhídrico y diluir con agua a 47 ml: la solución presenta no más de 0,01 mg de Fe (0,002 %).

Quinona - Ver *p*-Benzoquinona.

R

Reactivo de Girard T - Ver Cloruro de trimetilacetohidrazida amonio.

Reineckato de amonio - (*Sal de Reinecke*) - $\text{NH}_4[\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{SCN})_4] \cdot \text{H}_2\text{O}$ - (PM: 354,4) - Cristales rojo oscuro o polvo rojo cristalino. Moderadamente soluble en agua fría; más soluble en agua caliente. Se descompone gradualmente en solución.

Sensibilidad - Disolver 50 mg en 10 ml de agua. Agregar 0,2 ml de la solución a 1 ml de una solución preparada disolviendo 10 mg de cloruro de colina en 20 ml de agua y agitar suavemente: se forma un precipitado característico a los 5 ó 10 segundos.

Resazurina sódica - $\text{C}_{12}\text{H}_6\text{NNaO}_4$ - (PM: 251,2) - Polvo pardusco púrpura, cristalino. 1 g se disuelve en 100 ml de agua, formando una solución de color violeta profundo.

El Sulfuro de hidrógeno y otros compuestos que contienen el grupo tiol decoloran las soluciones de resazurina sódica, formando dihidroresorufina. Cuando la solución decolorada se agita en presencia de aire, se desarrolla un color rosa, resultado de la formación de resorufina.

Resina de intercambio aniónico de malla 50 a 100, estireno-divinilbenceno - Resina altamente básica, entrecruzada, que contiene grupos amonio cuaternario y aproximadamente 4 % de divinilbenceno. Consiste en cuentas de color canela que pueden tener características de libre fluidez. Está disponible en la forma de cloruro que puede convertirse a la forma de hidróxido por regeneración con una solución de hidróxido de sodio (5 en 100). Para una regeneración satisfactoria se requiere un tiempo de contacto de por lo menos 30 minutos, luego del cual debe ser lavada para eliminar el exceso de álcali libre. Insoluble en agua, metanol y acetonitrilo. Apropia para uso en cromatografía en columna.

Contenido de humedad de la resina hinchada y regenerada - Transferir 10 a 12 ml de la resina (tal como se la recibe) a un matraz y convertirla completamente a la forma de cloruro agitando con 150 ml de ácido clorhídrico (5 en 100) durante no menos de 30 minutos. Decantar el ácido y lavar la resina de la misma manera con agua destilada hasta que el agua de lavado sea neutra frente al papel de tornasol. Transferir 5 a 7 ml de la resina regenerada a un crisol de vidrio filtrante y remover sólo el agua superficial excesiva filtrando cuidadosamente por succión. Transferir la resina acondicionada y seca a un pesafiltro previamente pesado y pesar. Secar en estufa de vacío entre 100 y 105 °C y a una presión

de 50 mm Hg durante 16 horas. Transferir de la estufa de vacío a un desecador y enfriar a temperatura ambiente. Pesar nuevamente. La pérdida de peso está entre 50 y 65 %.

Capacidad total de nuevo volumen - Transferir 2,5 a 3 ml de la resina acondicionada, sin secar (ver *Contenido de humedad de la resina hinchada y regenerada*) a una probeta de 5 ml y completar a volumen con agua. Eliminar las burbujas de aire del lecho de la resina con un alambre de acero inoxidable y sedimentar la resina a su volumen mínimo golpeando suavemente la probeta contra una superficie dura. Registrar el volumen de la resina. Transferir la resina con 100 ml de agua a un matraz de 250 ml. Agregar 2 ml de ácido sulfúrico, calentar entre 70 y 80 °C y mantener esa temperatura durante 5 minutos agitando ocasionalmente (no calentar a ebullición). Enfriar a temperatura ambiente y agregar 2,5 ml de ácido nítrico (1 en 2), 2 ml de sulfato férrico amónico (SR) y 0,20 ml de tiocianato de amonio 0,1 N. Titular con nitrato de plata 0,1 N (SV) hasta que la solución se torne incolora y agregar un exceso medido (1 a 5 ml). Calentar a ebullición para coagular el precipitado de cloruro de plata. Enfriar a temperatura ambiente, agregar 10 ml de nitrobenzono, agitar vigorosamente y titular el nitrato de plata en exceso con tiocianato de amonio 0,1 N (SV).

$$\text{Vol.neto AgNO}_3 \times \text{N} / \text{ml de resina} = \text{mEq/ml}$$

La capacidad total de intercambio de la resina húmeda regenerada es mayor de 1,0 mEq por ml.

Análisis por tamizado húmedo - Se emplea para identificar apropiadamente el tamaño de la malla de la resina. Para obtener un resultado exacto se requieren aparatos y técnicas especiales. Agregar 150 ml de resina a 200 ml de agua destilada en un recipiente apropiado y dejar reposar durante no menos de 4 horas para que la resina se hinche completamente. Transferir con la ayuda de una probeta de 100 ml la resina sedimentada y completamente hinchada al tamiz más alto de una serie (N° 20, 50, 100) de bronce de 20,3 cm. Lavar a fondo la resina en cada tamiz con una corriente de agua destilada hasta que la resina se tamice completamente, recogiendo el agua del lavado en un envase apropiado. Transferir las cuentas que permanecen en los tamices respectivos a la probeta de 100 ml y registrar el volumen de resina sedimentada en cada tamiz: no menos de 80 % de la resina está entre los tamices N° 50 y 100.

Resina de intercambio aniónico fuerte, levemente entrecruzada, en la forma de cloruro - Emplear uno de grado apropiado.

Resina de intercambio aniónico, poliestireno-divinilbenceno clorometilada - Resina altamente básica, entrecruzada, que contiene grupos amonio cuaternario. Consta de pequeñas cuentas, húmedas, amarillas que tienen un olor a amina característico. Está disponible en la forma de cloruro que puede convertirse en hidróxido por regeneración con solución de hidróxido de sodio (1 en 4). Para una regeneración satisfactoria se requiere un tiempo de contacto de aproximadamente 25 minutos, luego del cual debe lavarse con agua hasta neutralidad. Es apropiada para emplearse en cromatografía en columna.

Resina de intercambio catiónico - Emplear uno de grado apropiado.

Resina de intercambio catiónico, ácido sulfónico - Emplear uno de grado apropiado.

Resina de intercambio catiónico, carboxilato (forma sódica) (N° 50 a 100) - Emplear uno de grado apropiado.

Resina de intercambio catiónico de poliestireno - Emplear uno de grado apropiado.

Resina de intercambio catiónico, estireno-divinilbenceno - Resina sulfonada altamente ácida, entrecruzada, que contiene aproximadamente 2 % de divinilbenceno. Consiste en cuentas de color blanco a tostado transparente que pueden tener, relativamente, libre fluidez. Está disponible en la forma de hidrógeno en los tamaños de malla de 25 a 50, 45 a 100 y 80 a 270. Puede regenerarse a la forma de hidrógeno mediante el tratamiento con una solución de ácido clorhídrico (5 en 100). Para una regeneración satisfactoria se requiere un tiempo de contacto de no menos de 30 minutos luego debe ser lavado el exceso libre de ácido. Es insoluble en agua, metanol y acetonitrilo. Apropiada para emplearse en cromatografía en columna.

Contenido de humedad de la resina totalmente regenerada e hinchada - Transferir 10 a 12 ml de la resina (como se recibe) a un matraz y convertirla completamente a la forma de hidrógeno agitando con 150 ml de solución de ácido clorhídrico (5 en 100) durante no menos de 30 minutos. Decantar el ácido y lavar la resina de la misma manera con agua hasta que el agua del lavado sea neutra frente al papel de tornasol (pH 3,5). Transferir 5 a 7 ml de la resina regenerada a un crisol filtrante de vidrio y remover solamente el exceso de agua superficial filtrando, cuidadosamente, por succión. Transferir la resina acondicionada a un pesafiltro, previamente

pesado, y pesar. Secar en una estufa de vacío a una presión de 50 mm Hg entre 100 y 105 °C durante 16 horas. Transferir a un desecador y enfriar a temperatura ambiente. Pesar nuevamente. La pérdida de peso es entre 75 y 83 %.

Capacidad total de volumen húmedo - Transferir 3 a 5 ml de la resina regenerada, sin secar (ver *Contenido de humedad de la resina totalmente regenerada e hinchada*) a una probeta de 5 ml y llenarla con agua. Retirar las burbujas de aire del lecho de la resina con un alambre de acero inoxidable y dejar sedimentar la resina a su volumen mínimo golpeando suavemente la probeta sobre una superficie. Registrar el volumen de la resina. Transferir la resina a un vaso de precipitados de 400 ml. Agregar aproximadamente 5 g de cloruro de sodio y titular, agitando, con hidróxido de sodio 0,1 N hasta punto final azul con azul de bromotimol (pH 7,0).

$$\text{Vol.neto NaOH} \times \text{N} / \text{ml de resina} = \text{mEq/ml}$$

La capacidad total de volumen húmedo de la resina es más de 0,6 mEq por ml.

Análisis por tamizado húmedo - Se emplea para identificar apropiadamente el tamaño de la malla de la resina. Para obtener un resultado exacto se requieren aparatos y técnicas especiales. Agregar 150 ml de resina a 200 ml de agua en un recipiente apropiado y dejar reposar por lo menos 4 horas para hinchar completamente la resina. Transferir por medio de una probeta, 100 ml del sedimento y resina completamente hinchada al tamiz superior de una serie de tamices estandarizados. Lavar a fondo la resina en cada tamiz con una corriente de agua hasta que la resina se clarifique completamente, recogiendo el agua del lavado en un envase apropiado. Transferir las cuentas que permanecen en los tamices respectivos a la probeta de 100 ml y registrar el volumen de resina que sedimentó en cada tamiz. Al menos 70 % de la resina está dentro del tamaño específico de la malla.

Resina de intercambio catiónico, estireno-divinilbenceno, fuertemente ácida - Emplear uno de grado apropiado.

Resina de intercambio iónico - Una mezcla íntima de 4 partes de un intercambiador catiónico altamente ácido en la forma de hidrógeno (producido por sulfonación de un copolímero de estireno-divinilbenceno, representando 8 a 10 % de divinilbenceno) y 6 partes de un intercambiador aniónico altamente básico en la forma hidroxilo (producido por aminación con trimetilamina de un copolímero clorometilado de estireno-divinilbenceno, representando 3 a 5 % de divinilbenceno).

Resorcinol - Emplear *Resorcinol*.

Rodamina B - (*Tetraetilrodamina*) - (PM: 479,0) - $C_{28}H_{31}ClN_2O_3$ - Cristales verdes o polvo violeta rojizo. Muy soluble en alcohol; muy soluble en agua produciendo una solución rojo azulada que es marcadamente fluorescente cuando se diluye; poco soluble en ácidos diluidos y en soluciones alcalinas; en solución de ácidos fuertes, forma un complejo rosado con antimonio que es soluble en éter isopropílico.

Transparencia de la solución - Su disolución (1 en 200) es completa y transparente.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 1 ml de ácido sulfúrico; el residuo pesa menos de 2 mg (0,2 %).

Rojo congo - $C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$ - (PM: 696,7) - Polvo pardo oscuro, rojo o rojizo. Es inodoro y se descompone por exposición a los gases ácidos. Las soluciones tienen un pH de aproximadamente 8 a 9,5. 1 g se disuelve en aproximadamente 30 ml de agua; poco soluble en alcohol.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 4 horas: no pierde más de 3,0 % de su peso.

Residuo de ignición - Pesar con exactitud aproximadamente 1 g, previamente secado a 105 °C durante 4 horas, y colocarlo en una cápsula de porcelana o crisol. Someter a ignición cuidadosamente hasta carbonizar. Enfriar, agregar 2 ml de ácido sulfúrico e incinerar cuidadosamente hasta que el residuo sea blanco o prácticamente blanco. Enfriar, agregar 0,5 ml de ácido sulfúrico y 1 ml de ácido nítrico, evaporar y nuevamente incinerar hasta peso constante: el peso del sulfato de sodio obtenido es entre 20,0 y 24,0 % de la muestra seca tomada.

Sensibilidad - A 50 ml de agua agregar 0,1 ml de solución de rojo congo (1 en 1.000). El color rojo de la solución cambia a violeta por el agregado de 0,05 ml de ácido clorhídrico 0,10 N y se restaura al agregar 0,05 ml de hidróxido de sodio 0,10 N.

Rojo de rutenio - (*Oxicloruro de rutenio amoniacal*) - $Ru_2(OH)_2Cl_4 \cdot 7NH_3 \cdot 3H_2O$ - (PM: 551,2) - Polvo rojo pardusco a púrpura oscuro. Soluble en agua.

Rosa de bengala, sal sódica - (*Sal disódica de 4,5,6,7-Tetracloro-2',4',5',7'-tetraiodofluoresceína*) - $C_{20}H_2Cl_4I_4Na_2O_5$ - (PM: 1.017,6) - Cristales finos de color rosa o polvo cristalino. Es prácticamente inodoro. Soluble en agua.

[NOTA: purificar el material comercial mediante el siguiente tratamiento: disolver 8 g en 200 ml de agua y ajustar hasta pH entre 10 y 11, empleando papel indicador de intervalo estrecho. Agregar 200 ml de acetona, agitando ligeramente, luego agregar ácido clorhídrico diluido (1 en 10) mientras se continúa agitando, hasta alcanzar pH 4,0. Agregar 400 ml más de agua, con agitación, y continuar agitando aproximadamente 5 minutos. Filtrar los cristales en un embudo filtrante y colocarlos nuevamente en el vaso de precipitados empleado para la cristalización. Recristalizar tres veces más del mismo modo y secar los cristales a 110 °C durante 12 horas. Almacenar en un recipiente ámbar en refrigerador a una temperatura entre 2 y 8 °C. Preparar este reactivo mensualmente].

Pureza cromatográfica - Disolver 100 mg de Rosa de bengala sódico, preparado según se describe anteriormente, en 100 ml de agua y aplicar 10 µl de la solución sobre papel cromatográfico apropiado. Desarrollar el cromatograma por cromatografía ascendente, empleando una mezcla de 1 parte de alcohol diluido (1 en 4) y 1 parte de amoníaco concentrado diluido (1 en 12). Examinar el cromatograma con luz natural y bajo luz ultravioleta a 360 nm: no se observa ninguna mancha coloreada ni fluorescente con excepción de la mancha del Rosa de bengala sódico.

S

Sacarosa - Emplear *Sacarosa*.

Safranina O - Consiste en una mezcla de cloruro de 3,7-diamino-2,8-dimetil-5-fenilfenazinio ($C_{20}H_{19}ClN_4$ - PM: 350,9) y cloruro de 3,7-diamino-2,8-dimetil-5-o-tolilfenazinio ($C_{21}H_{21}ClN_4$ - PM: 364,9) - Polvo rojo oscuro. Moderadamente soluble en alcohol al 70 %, proporcionando una solución roja transparente con fluorescencia rojo amarillenta.

Identificación -

A - Agregar a 10 ml de una solución al 0,5 % p/v, 5 ml de ácido clorhídrico: se produce una solución violeta azulada.

B - Agregar a 10 ml de una solución al 0,5 % p/v, 5 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 5): se produce un precipitado rojo pardusco.

C - Agregar a 100 mg, 5 ml de ácido sulfúrico: se produce una solución verde. Por dilución cambia a azul y finalmente a rojo.

Características de absorción - Disolver 50 mg en 250 ml de alcohol al 50 %. Diluir 3 ml de esta solución con alcohol al 50 % hasta obtener 200 ml. Determinar la absorbancia, en una celda de 1 cm, con un espectrofotómetro apropiado. El máximo de absorción está en el intervalo entre 530 y 533 nm, el cociente $(A - 15)/(A + 15)$ está entre 1,10 y 1,32, en la cual *A* es la longitud de onda de máxima absorción.

Sal de fast blue B - $C_{14}H_{12}N_4O_2 \cdot ZnCl_4$ - (PM: 475,5) - Polvo verde.

Pérdida por secado <680> - Secar al vacío a 110°C durante 1 hora: no pierde más de 5,0 % de su peso.

Absorbancia - Disolver 50 mg en 100 ml de agua. En un segundo envase disolver 100 mg de 2-naftol en 100 ml de 2-metoxietanol. Transferir 5 ml de la solución y 10 ml de la solución de 2-naftol a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con acetona. Para el blanco, transferir 5 ml de agua y 10 ml de solución de 2-naftol a un segundo matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con acetona. Determinar la absorbancia de la solución muestra, en una celda de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente a 545 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando el blanco para llevar a cero la lectura del aparato: la absorbancia no es menor de 0,80.

Sal de fast blue BB - $(C_{17}H_{18}ClN_3O_3)_2 \cdot ZnCl_2$ - (PM: 831,9) - Polvo amarillo que funde aproximadamente a 162 °C, con descomposición. Moderadamente soluble en agua.

Cloruro - Transferir aproximadamente 80 mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados. Agregar 25 ml de acetona, 25 ml de agua y 500 mg de nitrato de sodio. Agitar hasta disolución completa. Titular con nitrato de plata 0,01 N (SR), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Contiene no menos de 15,0 % de cloruro.

Sal disódica del ácido 3-(2-Piridil)5,6-di(2-furil)-1,2,4-triazina-5',5''-disulfónico - (PM: 494,4) $C_{16}H_8N_4Na_2O_8S_2$ - Polvo amarillo oscuro.

Sales biliares - Es un concentrado de bilis bovina, siendo su componente principal el desoxicolato sódico, determinado como ácido cólico. Soluble en agua y alcohol; las soluciones forman espuma cuando se agitan.

Stancias insolubles - Disolver 5 g en 100 ml de alcohol diluido (84 en 100), calentando si fuera necesario para favorecer la disolución. Filtrar dentro de los 15 minutos a través de un filtro previamente pesado y lavar con porciones pequeñas de alcohol diluido hasta que el último lavado sea incoloro o prácticamente incoloro luego secar el residuo a 105 °C durante 1 hora y pesar: el peso del residuo no es mayor de 0,1 %.

Valoración -

Solución estándar de ácido cólico - Disolver 50,0 mg de ácido cólico, exactamente pesados, en ácido acético diluido (6 en 10) para obtener 100 ml y mezclar. Almacenar en un refrigerador.

Procedimiento - Disolver 1,0 g, exactamente pesado, en 50 ml de ácido acético diluido (6 en 10). Filtrar la solución, si fuera necesario, a un matraz aforado de 100 ml, lavar el envase original y el filtro con porciones de ácido acético diluido (6 en 10), completar a volumen con ácido acético diluido (6 en 10) y mezclar. Diluir 10 ml de esta solución, exactamente medidos, con ácido acético diluido (6 en 10) hasta obtener 100 ml y mezclar. Transferir 1 ml de *Solución estándar de ácido cólico* y de la solución de Sales biliares a dos tubos de ensayo iguales. A cada tubo agregar 1ml, exactamente medido, de solución de furfural recientemente preparada (1 en 100); de inmediato colocar los tubos en un baño de hielo durante 5 minutos, agregar a cada tubo 13 ml, exactamente medidos, de ácido sulfúrico diluido, obtenido mezclando, cuidadosamente, 50 ml de ácido sulfúrico con 65 ml de agua. Mezclar el contenido de los tubos y colocarlos en un baño de agua mantenido a 70 °C durante 10 minutos. De inmediato transferir los tubos a un baño de hielo durante 2 minutos y determinar la absorbancia de cada solución a la longitud de onda de

máxima absorción, aproximadamente 670 nm, con un espectrofotómetro apropiado. Calcular la cantidad, en mg, de ácido cólico ($C_{24}H_{40}O_5$) en la cantidad tomada de las Sales biliares por la fórmula siguiente:

$$500(A_D/A_E)$$

en la cual A_D y A_E son las absorbancias de la solución de Sales biliares y de la *Solución estándar de ácido cólico*, respectivamente. Contiene no menos de 45 % de ácido cólico.

Salicilaldazina - $C_{14}H_{12}N_2O_2$ - (PM: 240,3) - Emplear uno de grado apropiado o preparar del siguiente modo. Disolver 300 mg de sulfato de hidracina en 5 ml de agua, agregar 1 ml de ácido acético glacial y 2 ml de una solución (1 en 5) de salicilaldehído en alcohol isopropílico preparada recientemente, mezclar y dejar reposar hasta que se forme un precipitado amarillo. Extraer la mezcla con dos porciones de 15 ml de cloruro de metileno. Combinar los extractos de cloruro de metileno y secar sobre sulfato de sodio anhidro. Decantar la solución de cloruro de metileno y evaporar hasta sequedad. Recristalizar el residuo de salicilaldazina a partir de una mezcla de tolueno caliente y metanol (60:40) con enfriamiento. Filtrar y secar los cristales al vacío.

Intervalo de fusión <260> - Entre 213 y 219 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 1 °C.

Cromatografía - Proceder según se indica en *Límite de Hidracina en Povidona*: el cromatograma presenta sólo una mancha.

Salicilaldehído - $2-HOC_6H_4CHO$ - (PM: 122,1) - Líquido transparente, de incoloro a verde amarillento. Densidad relativa: aproximadamente 1,17. Poco soluble en agua; soluble en alcohol y éter. Puede contener un estabilizante.

Temperatura de solidificación <180> - Entre 1,0 y 3,0 °C.

Índice de refracción <230> - Entre 1,573 y 1,574, a 20 °C.

Valoración - Cuando se analiza por cromatografía de gases, empleando aparatos y condiciones apropiadas, presenta una pureza de no menos de 98 %.

Salicilato de etilo - $C_9H_{10}O_3$ - (PM: 166,2) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver *100. Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 10 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μ m de metilsilicona. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 240 y 300°C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 250 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de salicilato de etilo no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,5216 y 1,5236, a 20 °C.

Salicilato de isopropilo - (PM: 180,2) - $C_6H_4OHCOOCH(CH_3)_2$ - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver *100. Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 1,8 m \times 2 mm con una fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano al 7 % sobre un soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y 310 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 50 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 250 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico principal no es menor de 97 % del área total.

Salicilato de sodio - Cumple con las especificaciones de *Salicilato de sodio* y con los requisitos del siguiente ensayo.

Nitrato - Disolver 100 mg en 5 ml de agua y verter cuidadosamente y sin mezclar la solución sobre 5ml de ácido sulfúrico: no aparece color rojo pardusco en la interfase de los dos líquidos.

Sal nitroso R - (*1-Nitroso-2-naftol-3,6-disulfonato disódico*) - $NOC_{10}H_4OH(SO_3Na)_2$ - (PM: 377,3) - Cristales o polvo cristalino amarillo. Moderadamente soluble en agua; insoluble en alcohol.

Sensibilidad - Disolver 500 mg de acetato de sodio en una solución de 0,4 mg de cloruro cobaltoso (0,1 mg de cobalto) en 5 ml de agua. Agregar 1 ml de ácido acético diluido y luego 1 ml de una solución de sal nitroso R (1 en 500): un color rojo, que se produce inmediatamente, persiste cuando la solución se calienta a ebullición con 1 ml de ácido clorhídrico durante 1 minuto.

Sal sódica del ácido 1-pentanosulfónico - Ver *1-Pentanosulfonato de sodio*.

Sebacato de bis(2-etilhexilo) - (*Diocil sebacato*) $C_8H_{17}OOC(CH_2)_8COOC_8H_{17}$ - (PM: 426,7) - Líquido amarillo pálido. Insoluble en agua. Apropiado para uso en cromatografía de gases. Índice de refracción: aproximadamente 1,448.

Densidad relativa <160> - Entre 0,913 y 0,917.

Intervalo de ebullición - Entre 243 y 248 °C, a 5 mm Hg.

Selenio - Se - (PA: 78,96) - Polvo rojo oscuro amorfo o polvo cristalino negro azulado. Insoluble en agua; soluble en soluciones de hidróxido de sodio o potasio o sulfuros.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - 1 g no produce más de 2 mg (0,2 %).

Metales pesados - Agregar al *Residuo de ignición* 3 ml de ácido clorhídrico y 2 ml de ácido nítrico, evaporar en un baño de vapor hasta sequedad, absorber el residuo en una mezcla de 2 ml de ácido clorhídrico diluido y 50 ml de agua caliente, enfriar, filtrar y lavar el filtro con agua suficiente para obtener 100 ml de filtrado (*Solución muestra*). A una alícuota de 30 ml de la *Solución muestra* agregar 10 ml de agua y 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): el color producido no es más oscuro que el de una *Solución control* preparada a partir de 3 ml de *Solución de plomo estándar* (ver 590. *Límite de Metales Pesados*, 0,03 mg de Pb), 0,2 ml de ácido clorhídrico 1 N, 37 ml de agua y 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR) (0,01 %).

Hierro - A 20 ml de la *Solución muestra* preparada en el ensayo para *Metales pesados* agregar 2 ml de ácido clorhídrico y diluir con agua a 47 ml: la solución no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,005 %).

Nitrógeno -

Solución de nitrógeno estándar - Disolver 382 mg de cloruro de amonio en agua para obtener 1 litro. Cada mililitro de esta solución equivale a 0,1 mg de nitrógeno (N).

Procedimiento - Calentar 1,0 g con 10 ml de ácido sulfúrico en un matraz de Kjeldahl hasta que la muestra se disuelva y el volumen de ácido se reduzca hasta aproximadamente 5 ml. Enfriar, diluir con precaución con 100 ml de agua, alcalinizar con solución de hidróxido de sodio (3 en 10) y destilar aproximadamente 75 ml de la solución en 5 ml de agua que contenga 2 gotas de ácido clorhídrico 1 N. Diluir el destilado con agua a 250 ml. A una alícuota de 50 ml de la solución agregar 1 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 10) y 2 ml de iodo mercuriato de potasio (SR): el color producido no es más intenso que el producido por 0,1 ml de *Solución de nitrógeno estándar* (0,01 mg de N) tratado de la misma manera que la muestra (0,005 %).

Azufre - Transferir 1,0 g, exactamente pesado, a un vaso de precipitados y agregar sucesivamente 5 ml de ácido nítrico, 10 ml de ácido clorhídrico y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Agregar 10 ml de ácido clorhídrico y evaporar de nuevo lentamente hasta sequedad. Recolectar el residuo en 30 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 30), filtrar y lavar el filtro con agua para obtener aproximadamente 100 ml de filtrado. Calentar el filtrado a ebullición y agregar lentamente, agitando, 5 ml de cloruro de bario (SR). Digerir en un baño de vapor durante 4 horas. Filtrar a través de papel de filtro de porosi-

dad fina, lavar el precipitado hasta que esté libre de cloruro, someter a ignición y pesar. El peso del residuo de sulfato de bario, multiplicado por 0,1374, representa el azufre (S) presente. Contiene no más de 0,5 mg de S (0,05 %).

Selenometionina - $C_5H_{11}NO_2Se$ - (PM: 196,1) - *Precaución* - Manipular con cuidado, ya que este reactivo es altamente tóxico.

Valoración - Pesar exactamente 750 mg, disolver en 100 ml de metanol, agregar cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N hasta punto final verde azulado. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 19,61 mg de $C_5H_{11}NO_2Se$. Contiene entre 97,0 y 103,0 %, calculado sobre la sustancia.

Intervalo de fusión <260> - Aprox. 260 °C, con descomposición.

Determinación de nitrógeno <200> - Determinar por el método Kjeldahl. Contiene entre 6,8 y 7,4 %, calculado sobre la sustancia.

Silicato de magnesio activado - Emplear uno de grado apropiado.

Silicato de magnesio para cromatografía - Gel de sílice y magnesia sumamente blanco, duro, pulverizado (malla 60 a 100). Apropiado para uso como adsorbente para cromatografía en columna.

Sílice cromatográfica, silanizada, calcinada, lavada con ácido - Emplear uno de grado apropiado.

Sílice, microesferas - Emplear uno de grado apropiado.

Sílice octilsilanizado para cromatografía, descativado para separación de compuestos básicos (gel de) - Gel de sílice de granulometría muy fina (3 a 10 μm) tratado antes de la introducción de grupos octadecilsililo por lavado cuidadoso e hidrólisis de la mayor parte de los enlaces siloxano con el objeto de reducir al mínimo la interacción con los compuestos básicos. Polvo blanco, fino, homogéneo. Prácticamente insoluble en agua y en alcohol.

Silicona (75 % fenil, metil) - Emplear uno de grado apropiado.

Sodio - Na - (PA: 22,99) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sodio, citrato de - Ver Citrato de sodio.

Sodio, metaperiodato de - Ver Metaperiodato de sodio.

Solución de bromuro de dimidio-azul sulfán - Disolver separadamente 0,5 g de bromuro de dimidio y 0,5 g de azul sulfán en 30 ml de una mezcla caliente de etanol y agua (1:9). Transferir ambas soluciones a un matraz aforado de 250 ml, mezclar y completar a volumen con el mismo solvente. Transferir

20 ml de esta solución a un matraz aforado de 500 ml, agregar 20 ml de una solución de ácido sulfúrico 14 % v/v diluida a 250 ml con agua y completar a volumen con agua. [NOTA: almacenar en envase inactivo].

Solución de formaldehído - HCHO - (PM: 30,0) y agua - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Solución de hidróxido de tetrametilamonio en metanol - $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$ - (PM: 91,2) - Se consigue comercialmente en concentraciones de 10 y 25 %. Las siguientes especificaciones se aplican específicamente a la concentración de 25 %; para otras concentraciones, pueden ser necesarios ajustes apropiados en los procedimientos.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 1 g de la solución y diluir con agua hasta aproximadamente 50 ml. Agregar fenolftaleína (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,1 N (SV) hasta la desaparición del color rosado. Cada mililitro de ácido clorhídrico 0,1 N (SV) equivale a 91,15 mg de $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$. Contiene entre 23 y 25 %.

Transparencia - Una porción de solución en un tubo de ensayo es transparente o sólo algo turbia, cuando se observa transversalmente.

Solución de hipoclorito de sodio - Es una solución de hipoclorito de sodio (NaOCl) en agua. Generalmente de color amarillo a verde amarillento. Tiene olor a cloro. Es afectada por la luz y se deteriora gradualmente. Almacenar en envases inactivos, preferentemente debajo de 25 °C.

Precaución - Esta solución es corrosiva y puede producir gases que son corrosivos y tóxicos. Es un oxidante potente que puede reaccionar violentamente con agentes reductores. Es irritante y corrosiva para la piel y mucosas.

Valoración - Transferir aproximadamente 3 ml a un matraz para yodo, previamente pesado, con tapón de vidrio y pesar exactamente. Agregar 50 ml de agua, 2 g de yoduro de potasio y 10 ml de ácido acético, insertar el tapón en el matraz y dejar reposar en la oscuridad durante 10 minutos. Retirar el tapón, lavar las paredes del matraz con agua y titular el yodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 3,723 mg de NaOCl. Contiene no menos de 5,25 %. Si se desea calcular el porcentaje de cloro disponible, observar que cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N consumido equivale a 3,545 mg de cloro disponible.

Calcio - Transferir 10,0 g a un vaso de precipitados de 150 ml, disolver en 10 ml de agua y agregar 5 ml de ácido clorhídrico y 2 g de yoduro de potasio. Calentar la mezcla durante 5 minutos, enfriar y agregar 2 ml de peróxido de hidrógeno al 30 %. Evaporar

hasta sequedad, enfriar y agregar 2 ml de ácido clorhídrico y 2 ml de peróxido de hidrógeno al 30 %. Lavar las paredes internas del vaso de precipitados con agua y evaporar hasta sequedad. Recolectar el residuo en 20 ml de agua y filtrar si fuera necesario. Agregar al filtrado hidróxido de amonio hasta que la solución sea apenas alcalina luego agregar 4 gotas de hidróxido de amonio y 5 ml de oxalato de amonio (SR): la turbidez producida dentro de los 15 minutos no excede la de un blanco que contenga 0,1 mg de Ca llevando a cabo el procedimiento completo (0,001%).

Fosfato (Ensayo para reactivos) - Transferir 2 g a un vaso de precipitados y agregar 5 ml de ácido clorhídrico y 2 g de yoduro de potasio. Calentar la solución durante 5 minutos y enfriar. Agregar 2 ml de peróxido de hidrógeno al 30 % y evaporar la solución hasta sequedad. Lavar las paredes del vaso de precipitados con agua, agregar 2 ml de ácido clorhídrico y 2 ml de peróxido de hidrógeno al 30 %. Evaporar nuevamente hasta sequedad: el residuo no presenta más de 0,01 mg de PO_4 (5 ppm).

Solución de peróxido de hidrógeno - Emplear *Agua oxigenada*.

Solución estándar de perclorato de holmio - Emplear una solución con una concentración de 40 g por litro, preparada disolviendo óxido de holmio en una solución de ácido perclórico que contiene 141 g por litro.

Solución isotónica de cloruro de sodio - Emplear Solución fisiológica (SR).

Soluciones reguladoras - Ver *Soluciones reguladoras* en *Soluciones*.

Sorbitol - Emplear *Sorbitol*.

Sudán III - $\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}$ - (PM: 352,4) - Polvo de color rojo a rojo pardo. Emplear uno de grado apropiado.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Hexano y acetato de etilo (80:20).

Procedimiento - Examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm. Presenta una sola mancha, con trazas de impurezas.

Sudán IV - $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}$ - (PM: 380,4) - Polvo marrón a marrón rojizo.

Valoración - Transferir aproximadamente 25 mg, exactamente pesados, a un matraz aforado de 100 ml. Disolver en cloroformo, completar a volumen con cloroformo y mezclar. Diluir 2,0 ml de la solución clorofórmica resultante a 50,0 ml. Determinar la

absorbancia de esta solución en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 520 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando cloroformo como blanco. Calcular el porcentaje de *Sudán IV* en la muestra tomada por la fórmula siguiente siguiente:

$$(100A)/(85C)$$

en la cual *A* es la absorbancia a 520 nm y *C* es la concentración de muestra, en g por litro. Contiene no menos de 90 %.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 2 horas: no pierde más de 10 % de su peso.

Sulfamato de Amonio - $\text{NH}_4\text{OSO}_2\text{NH}_2$ - (PM: 114,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfanilamida - $\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ - (PM: 172,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato ácido de potasio - (*Sulfato monopotásico*) - KHSO_4 - (PM: 136,2) - Cristales incoloros, transparentes e higroscópicos. Fácilmente soluble en agua proporcionando una solución fuertemente ácida.

Sulfato ácido de sodio - (*Bisulfato de sodio*) - NaHSO_4 - (PM: 120,1) - Muy soluble en agua hirviendo, fácilmente soluble en agua. Se descompone en alcohol dando sulfato de sodio y ácido sulfúrico libre.

Punto de fusión <260> - Aprox. 315 °C.

Sulfato ácido de tetrabutilamonio - $\text{C}_{16}\text{H}_{37}\text{NO}_4\text{S}$ (PM: 339,5) - Polvo cristalino blanco. Soluble en alcohol proporcionando una solución ligeramente turbia, incolora.

Valoración - Disolver aproximadamente 170 mg, exactamente pesados, en 40 ml de agua. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 33,95 mg de $\text{C}_{16}\text{H}_{37}\text{NO}_4\text{S}$. Contiene no menos de 97,0 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 169 y 173 °C.

Sulfato ácido de tetrahexilamonio - $\text{C}_{24}\text{H}_{53}\text{NO}_4\text{S}$ - (PM: 451,8) - Cristales blancos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 100 y 102 °C.

Sulfato cérico - $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ con una cantidad variable de agua - (PM: 332,2 - anhidro) - También puede contener sulfatos de otros elementos asociados de tierras raras. Cristales o polvo cristalino amarillo a amarillo anaranjado. Prácticamente insoluble en agua fría; lentamente soluble en ácidos minerales diluidos fríos, pero más fácilmente soluble cuando se calienta con estos solventes.

Valoración - Transferir 800 mg, exactamente pesados, a un erlenmeyer, agregar 25 ml de agua y 3 ml de ácido sulfúrico y calentar hasta disolver. Enfriar y agregar 60 ml de una mezcla de agua y ácido fosfórico (20:1). Agregar 25 ml de solución de ioduro de potasio (1 en 10), insertar el tapón en el erlenmeyer y dejar reposar durante 15 minutos. Reemplazar el aire sobre la solución por dióxido de carbono y, mientras continúa el flujo de dióxido de carbono, titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 33,22 mg de $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$. Contiene no menos de 80,0 %.

Cloruro (Ensayo para reactivos) - Disolver 1 g en una mezcla de 5 ml de ácido nítrico y 4 ml de agua. Filtrar, si fuera necesario, y diluir con agua a 20 ml. A 10 ml de la dilución, agregar 1 ml de nitrato de plata (SR), dejar reposar durante 10 minutos y filtrar hasta clarificar. A los restantes 10 ml de solución muestra, agregar 1 ml de nitrato de plata (SR): la turbidez producida no excede la de un control preparado mediante el agregado de 0,05 mg de Cl al filtrado obtenido a partir de los primeros 10 ml de solución muestra (0,01 %).

Metales pesados - Calentar 500 mg con una mezcla de 10 ml de agua y 0,5 ml de ácido sulfúrico hasta que se complete la disolución. Enfriar, diluir con agua a 50 ml y burbujear sulfuro de hidrógeno gaseoso a través de la solución hasta que ésta se sature: el precipitado que se forma es blanco o no más oscuro que amarillo pálido.

Hierro - Disolver 100 mg en una mezcla de 5 ml de agua y 2 ml de ácido clorhídrico, calentando, si fuera necesario, y enfriar. Transferir a una probeta con tapón de vidrio, diluir con agua a 25 ml y agregar 5 ml de tiocianato de amonio (SR) y 25 ml de éter. Agitar suave y completamente y dejar que las fases se separen: cualquier color rosado en la capa etérea no es más oscuro que el de un control, preparado en forma similar, conteniendo 0,02 mg de Fe (0,02 %).

Sulfato cérico amónico - (PM: 632,6) - $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 2(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - Cristales amarillos a anaranjado amarillento. Se disuelve lentamente en agua, pero más rápidamente en presencia de ácidos minerales.

Valoración - Pesar exactamente 1 g, disolver en 10 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 10) y agregar 40 ml de agua. Agregar ortofenantrolina (SR) y titular con sulfato ferroso amónico 0,1 N (SV) recientemente estandarizado.

Cada mililitro de sulfato ferroso amónico 0,1 N equivale a 63,26 mg de $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 2(\text{NH}_4)_2 \cdot \text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Contiene no menos de 94 %.

Hierro - Disolver 100 mg en 30 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 10) y agregar peróxido de hidrógeno (SR), gota a gota, hasta que la solución sea incolora. Agregar agua de amoníaco fuerte hasta que el pH esté entre 1 y 3, enfriar a temperatura ambiente, adicionalmente ajustar a pH 3,5 (empleando un electrodo de vidrio) y diluir a 50 ml. A 5 ml de esta solución, agregar 5 ml de agua, mezclar y agregar 6 ml de solución de clorhidrato de hidroxilamina (1 en 10) y 4 ml de una solución acidificada de ortofenantrolina (1 en 1.000): cualquier color rojo producido no es más oscuro que el de un control que contiene 0,1 mg de Fe y los volúmenes de ácido y peróxido de hidrógeno (SR) empleado con la muestra (0,1 %).

Fosfato - Disolver 200 mg en 30 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 10), agregar peróxido de hidrógeno al 30 % hasta que la solución sea incolora y calentar a ebullición para eliminar el exceso de peróxido. Enfriar y diluir a 100 ml. A 5 ml de la solución resultante, agregar 55 ml de agua y ajustar a pH entre 2 y 3 con hidróxido de amonio. [NOTA: ajustar el pH cuidadosamente, ya que la formación de un precipitado permanente dificultará las operaciones subsiguientes. Si se formara un precipitado permanente, descartar la solución y comenzar con una alícuota nueva de la solución muestra.] Agregar 500 mg de molibdato de amonio y ajustar a pH 1,8 (empleando un electrodo de vidrio) con ácido clorhídrico diluido (1 en 10). Calentar la solución a ebullición, enfriar, agregar 10 ml de ácido clorhídrico y diluir a 100 ml. Transferir a una ampolla de decantación, agregar 35 ml de éter, agitar vigorosamente, dejar separar y descartar la fase acuosa. Lavar la fase etérea dos veces agitando con porciones separadas de 10 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 10), descartando siempre la fase acuosa. Agregar 0,20 ml de una solución recientemente preparada de 2 g de cloruro estañoso en 100 ml de ácido clorhídrico, agitar bien y dejar que las fases se separen: el color azul en la fase etérea no es más oscuro que el de un control preparado al agregar el equivalente a 0,01 mg de PO_4 a 5 ml de ácido sulfúrico diluido (3 en 25) y tratados de la misma manera (0,1 %).

Sulfato cúprico - $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 249,7) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato cúprico anhidro - CuSO_4 - (PM: 159,6) - Polvo blanco o blanco grisáceo exento de un tinte azul. Con el agregado de una cantidad pequeña de agua, se torna azul. Soluble en agua. Almacenar en envases de cierre perfecto.

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,02 mg de Cl (0,002 %).

Sustancias no precipitadas por sulfuro de hidrógeno - Determinar según se indica para *Acetato cúprico*: el residuo no pesa más de 6 mg (0,15 %).

Sulfato de adenina - $(\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_5)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 404,4) - Cristales blancos o polvo cristalino. Luego de secar a 110 °C, funde aproximadamente a 200 °C, con descomposición. Poco soluble en agua; menos soluble en alcohol. Soluble en soluciones de hidróxido de sodio. No precipita con solución de yodo (SR) o iodomercuriato de potasio (SR) pero precipita con trinitrofenol (SR).

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 100 mg.

Agua - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 10,0 % de su peso.

Sulfato de amonio - $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - (PM: 132,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato de brucina - (PM: 1.013,1) - $(\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato de calcio - $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 172,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato de cinc - $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 287,5) - Polvo cristalino blanco o cristales transparentes, fluorescentes. Muy soluble en agua; prácticamente insoluble en alcohol.

Sulfato de dietilfenilendiamina - (*Sulfato de N,N'-dietil-p-fenilendiamina*) - $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ - (PM: 262,3) - Polvo blanco o ligeramente amarillento, soluble en agua. Funde a 185 °C aproximadamente, con descomposición. Almacenar en envases inactínicos.

Sulfato de dihidroquinidina - (PM: 785,0) - $(\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - Polvo cristalino blanco.

Valoración - Disolver aproximadamente 200 mg, exactamente pesados, en 20 ml de anhídrido acético, agregar 4 gotas de *p*-naftolbenceína (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) desde una microbureta de 10 ml hasta punto final verde. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 24,96 mg de $(\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$. Contiene no menos de 99 %.

Sulfato de dihidroquinina - (PM: 785,0) - $(\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - Polvo cristalino blanco.

Valoración - Disolver aproximadamente 200 mg, exactamente pesados, en 20 ml de anhídrido acético, agregar 4 gotas de *p*-naftolbenceína (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) desde una microbureta de 10 ml hasta punto final verde. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 24,96 mg de $(\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$. Contiene no menos de 99 %.

Sulfato de estricnina - (PM: 857,0) - $(C_{21}H_{22}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 5H_2O$ - Cristales incoloros o blancos, polvo cristalino blanco. Sus soluciones son levorrotatorias. Moderadamente soluble en agua y alcohol; poco soluble en cloroformo; insoluble en éter.

Solubilidad - Una solución de 500 mg en 25 ml de agua es transparente, incolora y se disuelve completamente.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,1 %.

Brucina - A 100 mg agregar 1 ml de ácido nítrico diluido (1 en 2): se puede observar un color amarillo pero no se observa un color pardo rojo o rojizo.

Sulfato de hidracina - $(NH_2)_2 \cdot H_2SO_4$ - (PM: 130,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato de iobenguano - (*Sal de hemisulfato de m-iodobencilguanidina*) - $C_8H_{10}IN_3 \cdot \frac{1}{2}H_2SO_4$ - (PM: 324,1) - Polvo blanco. Fácilmente soluble en metanol.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Alcohol butílico, agua y ácido acético (60:25:15).

Procedimiento - Examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm. No se observa más de una mancha de impurezas de no más de 0,5 %.

Sulfato de litio - $Li_2SO_4 \cdot H_2O$ - (PM: 128,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato de magnesio - $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - (PM: 246,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato de magnesio, anhidro - $MgSO_4$ - (PM: 120,4) - El sulfato de magnesio anhidro puede prepararse del siguiente modo: colocar una cantidad apropiada de sulfato de magnesio, preferentemente pulverizado, en un recipiente playo y exponer a una temperatura de aproximadamente 80 °C durante varias horas agitando ocasionalmente. Calentar de 275 a 300°C hasta que el peso sea prácticamente constante. Transferir el producto aún caliente a envases de cierre perfecto, ya que la sal anhidra es muy higroscópica.

Sulfato de manganeso - (*Sulfato de manganeso monohidrato*) - $MnSO_4 \cdot H_2O$ - (PM: 169,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato de p-metilaminofenol - (PM: 344,4) - $(p-CH_3NHC_6H_4OH)_2 \cdot H_2SO_4$ - Cristales pequeños o polvo cristalino blanco o blanco amarillento. Se decolora por exposición al aire. Soluble en agua fría;

fácilmente soluble en agua hirviendo; poco soluble en alcohol; insoluble en éter. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto.

Solubilidad en HCl - A 100 mg agregar 2 ml de ácido clorhídrico: se disuelve rápidamente y completamente.

o-Aminofenol - A la solución del ensayo anterior agregar 1 gota de cloruro férrico (SR): no se produce color pardo rojizo.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - El residuo no pesa más de 2 mg, determinado sobre 2 g (0,1 %).

Cloruro - A una solución de 1 g en 20 ml de agua agregar 1 ml de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata (SR): no se produce más que una ligera opalescencia.

Aptitud para el ensayo de fosfatos - Disolver 2 g en 100 ml de agua. A 10 ml de esta solución agregar 90 ml de agua y 20 g de bisulfato de sodio. Confirmar la aptitud de la solución del reactivo por el siguiente ensayo: agregar 1 ml de la solución del reactivo a cada una de cuatro soluciones que contengan 25 ml de ácido sulfúrico 0,5 N y 1 ml de una solución de 5 g de molibdato de amonio en 100 ml de ácido sulfúrico 1N. Agregar 0,005 mg de fosfato (PO_4) a una de las soluciones, 0,01 mg a la segunda y 0,02 mg a la tercera. Dejar reposar a temperatura ambiente durante 2 horas: las soluciones en los tres tubos presentan diferencias fácilmente perceptibles en color azul que corresponden a las cantidades relativas de fosfato agregado y el que contiene 0,005 mg de fosfato posee un color azul sensiblemente más profundo que el blanco.

Sulfato de níquel - $NiSO_4 \cdot 7H_2O$ - (PM: 280,9) - Polvo cristalino o cristales verdes, fácilmente en agua, poco soluble en alcohol.

Sulfato de potasio - K_2SO_4 - (PM: 174,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato de potasio y aluminio - (PM: 474,4) - $AlK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato de sodio - (*Sal de Glauber*) - (PM: 322,2) $Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$ - Cristales incoloros, inodoros o gránulos blancos. Es eflorescente. Funde a 32,5 °C. Fácilmente soluble en agua; soluble en glicerina; insoluble en alcohol. Almacenar en envases bien cerrados, protegidos del calor.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 10 g (0,01 %).

pH - El pH de una solución de 10 g en 200 ml de agua libre de amoníaco está entre 5,2 y 8,2.

Arsénico (Ensayo para reactivos) - La mancha producida por 3 g no excede la producida por 0,003 mg de As (1 ppm).

Calcio, magnesio y precipitado de R_2O_3 - Disolver 5 g en 75 ml de agua, filtrar y agregar 5 ml de oxalato de amonio (SR), 2 ml de fosfato de amonio (SR) y 10 ml de hidróxido de amonio. Agitar bien y dejar reposar durante toda la noche. Si se forma precipitado, filtrar, lavar con amoniaco (SR) (1 en 4) y someter a ignición: el residuo no pesa más de 1 mg (0,02 %).

Cloruro - Disolver 1 g en 50 ml de agua y filtrar si fuera necesario. A 25 ml de la solución agregar 1 ml de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata (SR): si se produce turbidez no debe exceder la de un control que contenga 0,01 mg de Cl (0,002 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 5 ppm.

Hierro <580> - 1 g disuelto en 47 ml de agua que contenga 2 ml de ácido clorhídrico, no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,001 %).

Compuestos nitrogenados (Ensayo para reactivos) 2 g no presentan más de 0,01 mg de N (5 ppm).

Sulfato de sodio anhidro - Na_2SO_4 - (PM: 142,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Para emplear en análisis de alcaloides por cromatografía de gases y líquidos, ajustar también al siguiente ensayo adicional.

Aptitud para la valoración de alcaloides - Transferir aproximadamente 10 mg de atropina, exactamente pesados, a un matraz aforado de 25 ml, disolver en alcohol y completar a volumen con alcohol. Transferir 3 ml de la solución a cada una de dos ampollas de decantación de 60 ml y agregar a cada una 10 ml de agua, 1 ml de hidróxido de sodio 1 N y 10 ml de cloroformo. Agitar completamente y dejar separar las fases. Filtrar la fase orgánica desde una ampolla de decantación a través de un papel separador de fases, previamente lavado con 5 ml de cloroformo y recolectar el filtrado en un envase apropiado. Agregar 10 ml de cloroformo a la ampolla de decantación, agitar vigorosamente y filtrar la fase orgánica a través del mismo papel separador de fases, recolectando y combinando los filtrados en el mismo envase. Designar los filtrados combinados como *Solución A*. Filtrar la fase orgánica de la segunda ampolla de decantación a través de 30 g del sulfato de sodio anhidro, colocado sobre una torunda de lana de vidrio en un embudo previamente lavado con cloroformo y recolectar el filtrado en un envase apropiado. Agregar 10 ml de cloroformo a la ampolla de decantación, agitar a vigorosamente y filtrar la fase orgánica a través de la misma porción de sulfato de sodio anhidro, recolectando y combinando los dos filtrados en el mismo envase. Designar los filtrados combinados como *Solución B*. Evaporar las dos soluciones al vacío a un volumen de aproximadamente 1 ml. Inyectar un volumen, exactamente medido, de *Solución A*

en un cromatógrafo de gases apropiado y registrar la altura del pico por duplicado. De manera similar, determinar la altura del picos de *Solución B* por duplicado. El valor promedio obtenido para la *Solución B* está dentro de 5,0 % del valor obtenido para la *Solución A*.

El cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) está equipado con un detector y una columna de vidrio de 1,2 m \times 4 mm con 3 % de fase estacionaria constituida por 50 % fenil silicona y 50 % de metilpolisiloxano sobre un soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C. [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Después de curada y acondicionada, mantener la columna, el inyector y el detector a aproximadamente 210, 225 y 240 °C, respectivamente. Se emplea helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 60 ml por minuto.

Sulfato de sodio decahidratado - Emplear Sulfato de sodio.

Sulfato de tetrabutil amonio hidrogenado - (*Sulfato ácido de tetrabutil monio*) - $C_{16}H_{37}NO_4S$ - (PM: 339,5) - Polvo blanco cristalino. Soluble n alcohol con la que produce una solución incolora levemente turbia.

Intervalo e fusión <260> - Entre 69 y 173 °C.

Valoración - Disolver aproximadamente 170 mg de sulfato de tetrabutil amonio hidrogenada en 40 ml de agua. Titular con hidróxido e sodio 0,1 N (SV), determinar el punto final potenciométricamente. Realizar una titulación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 33,95 mg de $C_{16}H_{37}NO_4S$. No debe contener menos de 97,0 %.

Sulfato de vanadilo - $VOSO_4 \cdot xH_2O$ - (PM: 163,01 - anhidro) - Cristales azules, higroscópicos. Lenta e incompleta solubilidad en agua.

Valoración - Pesar exactamente 400 mg de muestra seca obtenida en el ensayo para *Agua* y transferir con 15 a 20 ml de agua a un vaso de precipitados. Agregar 3 ml de ácido sulfúrico, cubrir el vaso de precipitados con un vidrio de reloj y calentar en un baño de vapor hasta que se disuelva completamente. Enfriar, diluir con 125 ml de agua y titular con permanganato de potasio 0,1 N (SV) hasta la producción de un color rosado que persiste durante 1 minuto. Cada mililitro de permanganato de potasio 0,1 N

equivale a 16,30 mg de VOSO_4 . Contiene no menos de 97 %.

Agua - Secar aproximadamente 1 g, exactamente pesado, a 220 °C hasta peso constante: no pierde más de 50,0 % de su peso.

Vanadio pentavalente - Calentar 1 g, exactamente pesado, con 50 ml de agua y 5 ml de ácido clorhídrico en un erlenmeyer hasta disolver. Enfriar, agregar 2 g de ioduro de potasio, insertar el tapón y dejar reposar durante 30 minutos. Agregar 50 ml de agua y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de tiosulfato 0,1 N equivale a 5,095 mg de vanadio (V). Contiene no más de 0,5 %, calculado sobre la sustancia seca.

Sustancias no precipitadas por amoníaco - Disolver 1,0 g calentando con 20 ml de agua y 2 ml de ácido clorhídrico. Diluir con agua a aproximadamente 75 ml y neutralizar al papel de tornasol con amoníaco (SR). Transferir la solución a una probeta de 100 ml, agregar lentamente 5 ml de amoníaco (SR) y agua suficiente hasta la marca de 100 ml y dejar reposar de la noche a la mañana. Decantar 50 ml de la solución sobrenadante a través de un filtro, agregar 5 gotas de ácido sulfúrico, evaporar hasta sequedad y someter a ignición: el residuo no pesa más de 10 mg (2,0 %).

Sulfato férrico - $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ - Polvo blanco grisáceo higroscópico o gránulos de color marrón rojizo, lentamente soluble en agua.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 700 mg y disolver en una mezcla de 50 ml de agua y 3 ml de ácido clorhídrico en un erlenmeyer con tapón de vidrio. Agregar 3 g de ioduro de potasio y dejar reposar en la oscuridad durante 30 minutos. Diluir con 100 ml de agua y titular con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 5,585 mg de Fe. Contiene no menos de 21,0 % y no más de 23,0 %.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - 10 g disueltos en una mezcla de 100 ml de agua y 5 ml de ácido sulfúrico, no presentan más de 2 mg de materia insoluble (0,02 %).

Cloruro - Disolver 1 g calentando con una mezcla de 10 ml de agua y 1 ml de ácido nítrico, agregar 4 ml de ácido nítrico adicional y diluir con agua a 50 ml. A 25 ml agregar 1 ml de ácido fosfórico y 1 ml de nitrato de plata (SR). Si se produce turbidez no excede la producida en un control que contiene 0,01 mg de ion cloruro (Cl), 1 ml de ácido nítrico, 1 ml de ácido fosfórico y 1 ml de nitrato de plata (SR) (0,002 %).

Hierro ferroso - Disolver 4 g calentando con 50 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 10), enfriar y titular con permanganato de potasio 0,1 N: no se requiere más de 0,16 ml para producir un color rosado permanente (0,02 % como Fe^{+2}).

[NOTA: ya que los reactivos empleados en los ensayos para *Cobre* y *Cinc* pueden contener cantidades excesivas de cobre y cinc, en primer lugar deben purificarse por extracción con *Solución de ditizona para extracción* (ver 600. *Límite de plomo*).]

Cobre - Disolver 1,2 g en 100 ml de agua. A 10 ml agregar 50 ml de una solución que contiene 5 g de tartrato de amonio y 5 ml de hidróxido de amonio. Agregar 10 ml de *Solución de ditizona estándar* (ver 600. *Límite de plomo*), agitar durante 2 minutos, extraer la fase de ditizona y comparar el color rosado con el de un control que contiene 6 μg de ion cobre (Cu) tratado de la misma manera. Si el color en la solución muestra es menos intenso que el de un control, la muestra contiene menos del límite de *Cobre* y *Cinc*. Si el color en la solución muestra es más intenso que el de un control, agregar 15 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 250) y agitar durante 2 minutos. Extraer la solución de ditizona y agitar con una segunda porción de 15 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 250) durante 2 minutos. Extraer la ditizona, combinar los dos extractos ácidos y reservar para el ensayo de *Cinc*. Si se produce un color rosado en la solución de ditizona no es más oscuro que el de la solución control tratada de la misma manera (0,005 %).

Cinc - A los extractos ácidos combinados retenidos del ensayo de *Cobre* agregar acetato de sodio 0,5 M para llevar a pH entre 5,0 y 5,5 y luego agregar 1 ml de tiosulfato de sodio 0,1 N. Agregar 10 ml de *Solución de ditizona estándar* (ver 600. *Límite de plomo*), agitar durante 2 minutos y dejar que las fases se separen. Drenar la ditizona y descartar la fase acuosa. Si se produce color rosado no es mayor que el de un control preparado agregando 0,006 mg de cinc (Zn) a los extractos ácidos combinados del control empleado en el ensayo para *Cobre* (0,005 %).

Nitrato - Disolver 10 g en 100 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 100), calentar a ebullición y verter, lentamente, en una mezcla de 140 ml de agua y 50 ml de agua de amoníaco fuerte. Filtrar a través de un filtro plegado mientras todavía está caliente, lavar con agua caliente hasta que el volumen de filtrado sea 300 ml, mezclar y enfriar. A 15 ml de esta solución agregar 1 ml de solución de cloruro de sodio (1 en 200), 0,10 ml de índigo carmín (SR) y 15 ml de ácido sulfúrico. El color azul no desaparece completamente después de 5 minutos (0,01 %).

Sustancias no precipitadas por amoníaco - Evaporar hasta sequedad 30 ml del filtrado obtenido en el

ensayo para *Nitrato* e incinerar suavemente: el peso del residuo no excede 1 mg (0,10 %).

Sulfato férrico amónico - $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (PM: 482,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato ferroso - $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 278,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato ferroso amónico - $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 392,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato mercúrico - HgSO_4 - (PM: 296,7) - Polvo fino, blanco, pesado. Es inodoro. Soluble en solución de cloruro de sodio (1 en 5).

Valoración - Pesar exactamente 500 mg y disolver en 50 ml de ácido nítrico diluido (1 en 2). Agregar 1 ml de solución de nitrato férrico (1 en 10) y titular con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Cada mililitro de tiocianato de amonio 0,1 N equivale a 10,03 mg de Hg. Contiene entre 67 y 67,5 % de Hg.

Residuo de ignición - Someter a ignición 10 g a una velocidad tal que se requiere de 1 a 2 horas para volatilizar la muestra y calcinar a 800 ± 25 °C durante 15 minutos: el residuo no pesa más de 1 mg (0,01 %).

Cloruro - Mezclar 1 g con 50 ml de agua, agregar 1 ml de ácido fórmico y agregar solución de hidróxido de sodio (1 en 10) gota a gota hasta que se forme una pequeña cantidad de precipitado. Calentar a reflujo la suspensión hasta que todo el mercurio se reduzca a metal y la solución sea transparente. Enfriar, filtrar a través de un papel libre de cloruro, lavar con dos porciones de 15 ml de agua y diluir con agua a 90 ml. A 30 ml agregar 1 ml de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata (SR), mezclar y dejar reposar durante 5 minutos: si se produce turbidez no excede la de un control preparado agregando 0,01 mg de Cl a 30 ml de agua tratado de la misma manera (0,003 %).

Hierro <580> - Al *Residuo de ignición* agregar 3 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 2), cubrir con un vidrio de reloj y digerir en un baño de vapor durante 20 minutos. Retirar el vidrio de reloj y evaporar hasta sequedad. Absorber el residuo en una mezcla de 1 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 2) y 30 ml de agua, filtrar si fuera necesario y diluir con agua a 100 ml. A 10 ml de la solución agregar 2 ml de ácido clorhídrico y diluir con agua a 47 ml: la solución no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,001 %).

Sales mercuriosas - Transferir 5,0 g a un erlenmeyer con tapón de vidrio, agregar 100 ml de solución de yoduro de potasio (15 en 100), 5,0 ml de iodo 0,1 N (SV) y 3 ml de ácido clorhídrico 1 N y dejar reposar en la oscuridad, con agitación frecuente, durante 1 hora. Titular el iodo en exceso con tiosulfa-

to sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final: no se requiere más de 0,38 ml de iodo 0,1 N, haciendo la corrección para el iodo consumido en un blanco (0,15 %).

Nitrato - Dispersar 1 g en 9 ml de agua, agregar 1 ml de solución de cloruro de sodio (1 en 200), mezclar y agregar 0,1 ml de índigo carmín (SR) y 10 ml de ácido sulfúrico: el color azul de la solución clara no desaparece totalmente dentro de los 5 minutos (0,005 %).

Sulfito de sodio - Emplear Sulfito de sodio, anhidro.

Sulfito de sodio anhidro - (*Sulfito de sodio desecado*) - Na_2SO_3 - (PM: 126,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

p-Sulfofenilazocromotropato sódico - (*Sal trisódica del ácido 4,5-dihidroxi-3-(p-sulfofenilazo)-2,7-naftalendisulfónico*) - $\text{C}_{16}\text{H}_9\text{N}_2\text{Na}_3\text{O}_{11}\text{S}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 624,5) - Polvo rojo brillante. Muy soluble en agua; insoluble en alcohol. Se combina con oxicluro de circonio para formar una laca de circonio rosada soluble.

Sulfuro de hidrógeno - H_2S - (PM: 34,1) - Gas incoloro, venenoso, más pesado que el aire. Soluble en agua. Se genera tratando sulfuro ferroso con ácido clorhídrico diluido o sulfúrico diluido. Pueden emplearse otros sulfuros que producen sulfuro de hidrógeno con ácidos diluidos. Está también disponible en forma de gas comprimido en cilindros.

Sulfuro de sodio - $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 240,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sustrato cromogénico para el ensayo de anti-factor X_a - Reactivo que consta de tripéptidos o tetrapéptidos sintéticos acoplados a un cromóforo. Tiene un grupo arginina en la porción aminoácido terminal, el cual le confiere su actividad específica, y tiene un extremo *p*-nitroanilina covalentemente unido al grupo carbonilo de la arginina. El péptido sintético imita la secuencia del péptido del sitio de acción del sustrato natural específico para el factor activado de coagulación a medir - (PM está entre: 600 y 750). El sustrato completo es incoloro y el factor de coagulación a medir cataliza la división del cromóforo (*p*-nitroanilina) del péptido. La cantidad liberada se mide directamente por el color del cromóforo. El sustrato, empleado para medir la actividad del *Anti-factor X_a* , es soluble en grado necesario y es reactivo a una concentración, basada en el peso molecular declarado en el rótulo, de 2,5 a 3,0 mM. Diferentes preparaciones de sustrato cromogénico difieren en sensibilidad y puede ser necesario determinar el periodo de incubación óptimo.

T

Tartrato de sodio - $\text{Na}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 230,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Tartrato de sodio y potasio - $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 282,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Telurito de potasio - (*Telurato de potasio IV*) - K_2TeO_3 - (PM: 253,8) - Polvo blanco, granular. Soluble en agua. Su solución es alcalina.

Valoración - Pesar exactamente 120 mg, transferir a un vaso de precipitados y disolver en una mezcla de 10 ml de ácido nítrico, 10 ml de ácido sulfúrico y 25 ml de agua. Calentar a ebullición, hasta que se generen gases copiosos de trióxido de azufre. Enfriar, agregar con cuidado 100 ml de agua, calentar a ebullición, agregar 6 g de fluoruro de sodio. Titular la solución caliente con permanganato de potasio 0,1 N (SV). Cada mililitro de permanganato de potasio 0,1N equivale a 12,69 mg de K_2TeO_3 . Contiene no menos de 98 %

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,1 mg de Cl (0,01 %).

Teobromina - $\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_2$ - (PM: 180,2) - Sólido cristalino blanco. Muy poco soluble en agua y alcohol; casi insoluble en éter y cloroformo.

Valoración - Disolver aproximadamente 34 mg, exactamente pesados, en 50 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 18,02 mg de $\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_2$. Contiene no menos de 95 %.

Tetrabromofenoltaleinato de etilo - (PM:662,0) - $\text{C}_{22}\text{H}_{14}\text{Br}_4\text{O}_4$ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Tetracloruro de carbono - CCl_4 - (PM: 153,8) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Tetracloruro de titanio - TiCl_4 - (PM: 189,7) - Líquido transparente, incoloro. Desprende gases al aire. *Precaución* - *Reacciona violentamente con agua.*

Valoración - Pesar exactamente 750 mg en 100 ml de ácido sulfúrico 2 N contenidos en una bureta gravimétrica Smith. Verter la solución a través de una columna de reducción de cinc-mercurio en 50 ml de sulfato férrico amónico 0,1 N (SV). Eluir con 100 ml de ácido sulfúrico 2 N y 100 ml de agua. Agregar 10 ml de ácido fosfórico y titular con permanganato de potasio

0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de permanganato de potasio 0,1 N equivale a 18,97 mg de TiCl_4 . Contiene no menos de 99,5 %.

Intervalo de ebullición (Ensayo para Reactivos) - Entre 135 y 140 °C.

Tetracosano - $\text{C}_{24}\text{H}_{50}$ - (PM: 338,7) - Polvo blanco.

Intervalo de fusión <260> - Entre 51 y 53 °C.

Tetradecano - $\text{C}_{14}\text{H}_{30}$ - (PM: 198,4) - Líquido transparente, incoloro.

Valoración - Analizar por cromatografía gas-líquido empleando un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 2,4 m × 3 mm con una fase estacionaria constituida por un compuesto de polietilenglicol (p.m.p aproximadamente 15.000) [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido], sobre un soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C. [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener la columna, el inyector y el detector a aproximadamente 250, 200 y 280 °C, respectivamente. Se emplea helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 27,5 ml por minuto. Presenta una pureza no menor de 98 %.

Intervalo de fusión <260> - *Método II.* Entre 4 y 8 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 2 °C.

Índice de refracción - Entre 1,4280 y 1,4300 a 20 °C.

Tetraetilenglicol - $\text{C}_8\text{H}_{18}\text{O}_5$ - (PM: 194,2) - Líquido casi incoloro. Índice de refracción: aproximadamente 1,46.

Valoración - Cuando se analiza por cromatografía de gas-líquido, empleando un cromatógrafo de gases y condiciones apropiadas, presenta una pureza no menor de 90 %.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 177 y 187 °C, a una presión de 9 mm Hg.

Tetraetilenpentamina - $\text{C}_8\text{H}_{23}\text{N}_5$ - (PM: 189,3) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y

una columna capilar de 30 m × 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de C₈H₂₃N₅ no es menor de 30 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,503 y 1,507, a 20 °C.

Tetrafenilborato de sodio - NaB(C₆H₅)₄ - (PM: 342,2) - Polvo blanco a ligeramente amarillo, voluminoso; fácilmente soluble en acetona y agua.

Tetrafluoroborato de p-nitrobencenodiazonio - NO₂C₆H₄N₂BF₄ - (PM: 236,9) - Cristales color amarillo oro. Soluble en acetonitrilo. *Precaución - Sensible a los golpes; mantener refrigerado.*

Valoración - Transferir aproximadamente 30 mg, exactamente pesados, a un matraz aforado de 100 ml de vidrio inactínico. Disolver en ácido clorhídrico 0,01 N, completar a volumen con ácido clorhídrico 0,01 N y mezclar. Empleando material de vidrio inactínico, diluir 2,0 ml de la solución resultante con metanol de grado espectrofotométrico a 50,0 ml. Determinar la absorbancia de esta solución en una celda de 1 cm aproximadamente a 255 nm, empleando metanol como blanco. Calcular la absortividad de la solución dividiendo la absorbancia medida por la concentración en g por ml. Calcular el título por la fórmula siguiente:

$$100a/59,4$$

en la cual *a* es la absortividad de la solución. Contiene no menos de 95,0 %.

Tetrahidrofurano - C₄H₈O - (PM: 72,1) - Líquido incoloro, de olor acre característico. Miscible con agua y solventes orgánicos comunes. Cuando se mezcla con agua, genera calor y se contrae el volumen; cuando se mezcla con cloroformo, genera considerable calor. Cualquier conservante apropiado, que no exceda 0,1 %, agregado para impedir formación de peróxidos, debe declararse en el rótulo. Conservar en envases inactínicos totalmente llenos.

Densidad relativa <160> - Entre 0,884 y 0,886.

Intervalo de destilación <240> - Método II. Entre 65 y 66 °C.

Acidez - Mezclar 5,0 ml con 10 ml de agua y 1 gota de rojo de metilo (SR): cualquier color rosado producido cambia a amarillo por el agregado de no más de 0,25 ml de hidróxido de sodio 0,020 N.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa.* No más de 0,1 %.

Residuo de evaporación - Evaporar 10 ml (12 g) en un baño de vapor hasta sequedad y secar el residuo a 105 °C durante 1 hora: si contiene un conservante, el peso del residuo no es mayor de 2 mg. Si no se declara ningún conservante en el rótulo, el peso del residuo no es mayor de 1 mg.

Tetrahidrofurano libre de estabilizador - Emplear uno de grado apropiado.

1,2,3,4-Tetrahidronaftaleno - C₁₀H₁₂ - (PM: 132,2) - Líquido incoloro.

Índice de refracción <230> - 1,5401, a 20 °C.

Tetrakis [3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato] de pentaeritritilo - C₇₃H₁₀₈O₁₂ - (PM: 1.178) - Polvo cristalino blanco a ligeramente amarillento. Prácticamente insoluble en agua; muy soluble en acetona; soluble en metanol; poco soluble en hexano.

Intervalo de fusión - Entre 110 a 125 °C.

Forma α - 120 a 125 °C.

Forma β - 110 a 115 °C.

1,1,3,3-Tetrametilbutilamina - (*ter*-Octilamina) - (PM: 129,3) - (CH₃)₃CCH₂C(CH₃)₂NH₂ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

4,4'-Tetrametildiaminodifenilmetano - [*4,4'*-Metilenbis(*N,N*-dimetilnilina)] - (PM: 254,4) [(CH₃)₂NC₆H₄]₂CH₂ - Cristales casi blancos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 87 y 90 °C.

Tetrametiletilendiamina - (PM: 116,2) - (CH₃)₂NCH₂CH₂N(CH₃)₂ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Tetrametilsilano - (CH₃)₄Si - (PM: 88,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Tetróxido de osmio - (*Ácido ósmico; Anhídrido perósmico*) - OsO₄ - (PM: 254,2) - Gránulos cristalinos o cristales incoloros o algo amarillos, higroscópicos. De olor pungente. Se descompone a la luz. Lentamente soluble en agua; soluble en alcohol y éter, con descomposición. Se ablanda aproximadamente a 35 °C, funde entre 40 y 42 °C y el punto de ebullición es aproximadamente 130 °C.

Precaución - Los vapores de Tetróxido de osmio son venenosos y altamente irritantes para los ojos y las membranas respiratorias.

Solubilidad - Disolver 200 mg en 1 ml de tetracloruro de carbono: se obtiene una solución transparente y apenas amarilla y no se observa residuo insoluble apreciable.

Materia no volátil - Evaporar la solución remanente del ensayo para *Solubilidad* en un baño de vapor en una campana extractora bien ventilada

hasta sequedad y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 0,4 mg (0,2 %).

Metales pesados - Al residuo del ensayo para *Materia no volátil* agregar 2 ml de ácido clorhídrico y evaporar la solución hasta sequedad. Tomar el residuo con unos ml de agua, diluir con agua a 25 ml y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): cualquier color pardo producido no es más oscuro que el de un control que contiene 0,01 mg de Pb (0,005 %).

Tierra cromatográfica silanizada lavada con ácido y base - Emplear uno de grado apropiado.

Tierra de diatomeas calcinada - Forma de sílice (SiO₂) que consiste en frústulas y fragmentos fundidos de diatomeas. Es un polvo amorfo, fino, claro rosado o blanco. Insoluble en agua, ácidos y en soluciones diluidas de hidróxidos alcalinos.

Pérdida por ignición - Pesar exactamente 4 g y someter a ignición hasta peso constante: no pierde más de 10,0 % de su peso.

Impurezas orgánicas - No se oscurece apreciablemente con la calcinación.

Pérdida por secado <680> - Secar a 110 °C durante 2 horas: no pierde más de 2,0 % de su peso.

Tierra de diatomeas calcinada y fundida - Emplear uno de grado apropiado.

Tierra de diatomeas silanizada - Emplear uno de grado apropiado.

Tierra de Fuller para cromatografía - (*Muy fina y moderadamente gruesa*) - Polvo o gránulos de color gris o blanco grisáceo constituido principalmente por silicato hidratado de aluminio-magnesio.

Determinación del tamaño de partícula - (ver 290. *Distribución del tamaño de partícula en polvos*).

Materia soluble - 20 g, tratados con 50 ml de agua fría y filtrados, producen no más de 60 mg de residuo al evaporar el filtrado (0,3 %). Una segunda porción de 20 g, tratada con 50 ml de alcohol frío y filtrada, produce no más de 14 mg al evaporar el filtrado (0,07%).

Pérdida por secado <680> - Secarlo a 105 °C durante 6 horas: pierde entre 7,0 y 10,0 % de su peso.

[NOTA: ajustar el contenido de agua, si fuera necesario, secando al vacío a temperatura ambiente, restaurando el agua requerida y equilibrando mediante agitación durante 2 horas.]

Tierra sílicea para cromatografía - Para cromatografía de gases, emplear un grado especialmente preparado que reúna la siguiente descripción general: tierra sílicea purificada de tamaño de partí-

cula apropiado que haya sido lavada con ácido y/o base. Puede ser silanizada o no.

Para cromatografía de partición en columna es esencial que el material esté exento de sustancias interferentes. Si se conoce o se piensa que existen interferencias, purificar el material del siguiente modo: colocar una torunda de lana de vidrio en la base de una columna cromatográfica que posea un diámetro de 100 mm o mayor y agregar la *Tierra sílicea purificada* a una altura igual a 5 veces el diámetro de la columna. Agregar un volumen de ácido clorhídrico equivalente a un tercio del volumen de la tierra sílicea y dejar percolar el ácido a través de la columna. Lavar la columna con metanol, emplear volúmenes pequeños al principio para lavar las paredes de la columna y continuar lavando con metanol hasta que el último lavado sea neutro al papel de tornasol humedecido. Extruir la columna lavada en un cristizador, calentar en un baño de vapor para remover el exceso de metanol y secar a 105 °C hasta que el material se reduzca a polvo y esté exento de trazas de metanol. Almacenar el material seco en envases bien cerrados.

Tierra sílicea silanizada para cromatografía - Transferir aproximadamente 450 g de tierra sílicea purificada a un cristizador de vidrio abierto y colocarlo en un desecador al vacío que contenga 30 ml de un silanizante apropiado, por ej., una mezcla de dimetildiclorosilano y trimetilclorosilano (1:1) o una mezcla de dimetildiclorosilano y metiltriclorosilano (2:1). Aplicar vacío intermitentemente durante varias horas, hasta que no quede silano líquido. Suspender la tierra sílicea purificada tratada en agua y agitar suavemente para dejar decantar cualquier partícula no recubierta. Recolectar el material silanizado de la superficie, lavar en un embudo de vidrio sinterizado con metanol caliente hasta que el filtrado no sea ácido y secar a 110 °C.

Timol - C₆H₃[CH₃][OH][CH(CH₃)₂]_{1,3,4} - (PM: 150,2) - Cristales incoloros, a menudo grandes o polvo blanco, cristalino, que posee un olor aromático. Es afectado por la luz. Tiene mayor densidad que el agua, pero cuando se licúa por fusión es menos denso que el agua. Sus soluciones alcohólicas son neutras al tornasol. Muy poco soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol, cloroformo, éter y aceite de oliva. Soluble en ácido acético glacial y en aceites fijos o volátiles. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto.

Intervalo de fusión <260> - Entre 48 y 51 °C, pero cuando se funde permanece líquido a una temperatura considerablemente inferior.

Materia no volátil - Volatilizar 2 g en un baño de vapor y secar a 105 °C hasta peso constante: el residuo no pesa más de 1 mg (0,05 %).

Tioacetamida - C_2H_5NS - (PM: 75,1) - Emplear uno de grado apropiado.

Tiocianato de amonio - NH_4SCN - (PM: 76,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Tiocianato de potasio - $KSCN$ - (PM: 97,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Tiocianato mercúrico - $Hg(SCN)_2$ - (PM: 316,8) - Polvo cristalino blanco. Muy poco soluble en agua; soluble en soluciones de cloruro de sodio; poco soluble en alcohol y éter.

2,2'-Tiodietanol - $(HOCH_2CH_2)_2S$ - (PM: 122,2) - Líquido amarillo pálido a incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 1,83 m \times 4 mm con 10 % de fase estacionaria constituida por un compuesto de polietilenglicol TPA (polietilenglicol de alto peso molecular y un diepóxido que se esterifica con ácido tereftálico); sobre un soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener la columna, el inyector y el detector a aproximadamente 200, 250 y 310 °C, respectivamente. Contiene no menos de 98 % de $C_4H_{10}O_2S$.

Índice de refracción - Entre 1,4250 y 1,4270, a 20 °C.

3,3'-tiodipropionato de didodecilo - $C_{30}H_{58}O_4S$ - (PM: 514,8) - Polvo cristalino blanco. Prácticamente insoluble en agua; fácilmente soluble en acetona y éter de petróleo; poco soluble en alcohol. Punto de fusión: aproximadamente a 39 °C.

3,3'-tiodipropionato de dioctadecilo - $C_{42}H_{82}O_4S$ - (PM: 683) - Polvo cristalino blanco. Prácticamente insoluble en agua; fácilmente soluble en cloruro de metileno; soluble en acetona, alcohol y éter de petróleo. Intervalo de fusión: entre 58 y 67 °C.

Tioglicolato de sodio - $HSCH_2COONa$ - (PM: 114,1) - Polvo cristalino blanco, de olor leve característico. Muy soluble en agua; poco soluble en alcohol. Es higroscópico, se oxida al aire. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto. No debe emplearse si presenta color amarillo pálido o más oscuro.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 250 mg y disolver en 50 ml de agua libre de oxígeno.

no. Agregar 5 ml de ácido clorhídrico diluido, calentar a ebullición durante 2 minutos, enfriar y titular la solución con iodo 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Cada mililitro de iodo 0,1 N equivale a 11,41 mg de $HSCH_2COONa$. Contiene no menos de 75 %.

Materia insoluble - Una solución de 1 g en 10 ml de agua es transparente y la disolución es prácticamente completa.

Sulfuro - Disolver 500 mg en 10 ml de agua en un matraz apropiado, agregar 2 ml de ácido clorhídrico, luego colocar una tira de papel de filtro, humedecido en acetato de plomo (SR), sobre la boca del matraz y llevar a ebullición la solución: no se oscurece el papel de acetato de plomo.

Tiosulfato de sodio - $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ - (PM: 248,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Tiourea - $(NH_2)_2CS$ - (PM: 76,1) - Cristales blancos, inodoros o polvo blanco, cristalino. Soluble en agua y alcohol.

Valoración - Transferir 1 g, exactamente pesado, a un matraz aforado de 250 ml, disolver en 50 ml de agua y completar a volumen con agua. Transferir 20 ml de la solución bien mezclada a un matraz apropiado y agregar 25,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV) y 10 ml de amoníaco (SR). Agitar vigorosamente durante 2 minutos, calentar a ebullición y enfriar. Agregar 60 ml de ácido nítrico diluido, agitar vigorosamente, filtrar y lavar el residuo con agua. Agregar 2 ml de sulfato férrico amónico (SR) al filtrado y lavados combinados y titular con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 3,806 mg de $(NH_2)_2CS$. Contiene no menos de 99 %.

Solubilidad - Una solución de 1 g en 20 ml de agua es transparente e incolora y se disuelve completamente.

Intervalo de fusión <260> - *Método I*. Entre 176 y 182 °C.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 2 horas: no pierde más de 0,5 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1,5 mg (0,15 %).

Sensibilidad - Disolver 280 mg de subnitrato de bismuto en 12 ml de ácido nítrico y diluir con agua a 200 ml. Diluir 1 ml de esta solución con agua a 100 ml y agregar a 10 ml de la dilución 1 ml de solución muestra (1 en 5): se produce inmediatamente un color amarillo característico.

L-Tirosina - $C_9H_{11}NO_3$ (PM: 181,2) - Polvo cristalino blanco o casi blanco, cristales blancos o incoloros. Prácticamente insoluble en acetona y etanol; ligeramente soluble en agua, fácilmente

soluble en ácido clorhídrico diluido y en soluciones de hidróxidos alcalinos.

L-Tiroxina sódica - Emplear *Levotiroxina sódica*.

Titanio - Ti - (PA: 47,88) - Contiene no menos de 99,0 % de Ti. Metal en polvo, hilo delgado (diámetro no superior a 0,5 mm) o en esponja. Punto de fusión: aproximadamente a 1668 °C. Densidad: aproximadamente 4,507 g por cm³.

o-Tolidina - (4, 4'-Diamino-3, 3'-dimetilbifenil) - (NH₂)(CH₃)C₆H₃ · C₆H₃(CH₃)(NH₂)-4,3,3N,4N - (PM: 212,3) - Cristales o polvo cristalino blanco a rojizo. Poco soluble en agua; soluble en alcohol, éter y en ácidos diluidos. Conservar en envases inactivos de cierre perfecto.

Precaución - Evitar el contacto con o-tolidina y mezclas que contengan o-tolidina y realizar todos los ensayos bajo campana extractora bien ventilada.

Intervalo de fusión <260> - Entre 129 y 131 °C.

Tolualdehído - (*o-Tolualdehído*) - C₈H₈O - (PM: 120,2) - Emplear uno de grado apropiado.

p-Tolualdehído - C₈H₈O - (PM: 120,2) - Líquido incoloro a amarillo claro.

Valoración - Analizar por cromatografía de gas-líquido empleando un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,8 m × 3 mm con 5 % de fase estacionaria constituida por poliéster de succinato de dietilenglicol, sobre un soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diátomea con Na₂CO₃ y calcinada a 900 °C. [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el detector, la columna y el inyector a aproximadamente 125, 125 y 205 °C, respectivamente. Se emplea nitrógeno como gas transportador con un caudal de aproximadamente 12 ml por minuto. La muestra es una solución al 5 % en disulfuro de carbono. Presenta una pureza no menor a 98 %.

Índice de refracción <230> - Entre 1,544 y 1,546, a 20 °C.

Tolueno - C₆H₅CH₃ - (PM: 92,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Toluensulfonamida - (*4-metilbencenosulfonamida; p-toluensulfonamida*) - C₇H₉NO₂S - (PM: 171,2) - Polvo blanco cristalino. Soluble en alcohol y soluciones de hidróxidos alcalinos; muy poco soluble en agua y éter.

Punto de fusión - Aprox.136 °C.

o-Toluensulfonamida - (*2-metilbencenosulfamida*) - C₇H₉NO₂S - (PM: 171,2) - Polvo blanco cristalino. Soluble en alcohol y soluciones de hidróxidos alcalinos; muy poco soluble en agua y éter.

Punto de fusión - Aprox.156 °C.

p-Toluensulfonamida - Ver Toluensulfonamida.

o-Toluidina - (*2-Aminotolueno; 2-Metilanilina*) - C₆H₄(CH₃)(NH₂)-1,2 - (PM: 107,2) - Líquido amarillo claro que se transforma en rojizo pardo al exponerlo al aire y la luz. Poco soluble en agua; soluble en alcohol, éter y en ácidos diluidos. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto.

Densidad relativa <160> - Aproximadamente 1,008, a 20 °C.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 200 y 202 °C.

p-Toluidina - C₇H₉N - (PM: 107,2) - Cristales o escamas blancas a tostadas. Fácilmente soluble en alcohol, acetona, metanol y en ácidos diluidos; poco soluble en agua.

Valoración - Disolver 400 mg, exactamente pesados, en 100 ml de ácido acético glacial y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 10,72 mg de CH₃C₆H₄NH₂. Contiene no menos de 98 %, calculado sobre la sustancia seca.

Pérdida por secado - Pesar exactamente alrededor de 1 g y secar a 30 °C hasta peso constante: no pierde más de 2 % de su peso.

Tornasol - Un pigmento azul obtenido a partir de diversas especies de *Rocella decandolle*, *Lecanora acharius* u otros líquenes (Fam. Parmeliaceae).

Descripción - Cubos, masas, fragmentos o gránulos, de color azul índigo o violeta profundo. Tiene un olor combinado de índigo y violetas y colorea la saliva de color azul profundo. Las sustancias indicadoras que contiene son solubles en agua y menos solubles o insolubles en alcohol.

Ceniza - Produce no más de 60,0 % de ceniza.

n-Triacontano - C₃₀H₆₂ - (PM: 422,8) - Emplear uno de grado apropiado.

2,4,6-Triamino-5-nitrosopirimidina - C₄H₆N₆O - (PM: 154,1) - Polvo rosado.

Valoración - Disolver aproximadamente 34 mg, exactamente pesados, en 50 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV),

determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 15,41 mg de $C_4H_6N_6O$. Contiene no menos de 97 %.

Tributirina - (*Tributirato de glicerilo*) - $C_{15}H_{26}O_6$ - (PM: 302,4) - Líquido incoloro, aceitoso. Insoluble en agua; muy soluble en alcohol y éter.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,8 m × 3 mm con una fase estacionaria constituida por poliéster de succinato de dietilenglicol, sobre un soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C. [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 270 y 300 °C, respectivamente. Se emplea nitrógeno como gas transportador. El área del pico de tributirina no es menor de 98 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,4345 y 1,4365, a 20 °C.

Contenido de ácido - Transferir 1,0 g, exactamente pesado, a un vaso de precipitados, agregar 75 ml de metanol y disolver por agitación. Cuando la disolución es completa, agregar 25 ml de agua y titular con hidróxido de potasio 0,05 N (SV), empleando fenolftaleína (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de potasio 0,05 N equivale a 88,1 mg de ácido butírico. Contiene no más de 0,5 %.

Tricetohidrendeno monohidrato - Ver Nihidrina.

Tricloroetano - Ver Metilcloroformo.

Triclorofluorometano - CCl_3F - (PM: 137,4) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de conductividad térmica y una columna de vidrio de 1,8 m × 2,0 mm con 10 % de fase estacionaria constituida por aceite de dimetilpolisiloxano, sobre un soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C. [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutra-

lidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 50 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 0 °C y se programa un ascenso de 3 °C por minuto hasta 50 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de CCl_3F no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,380 y 1,384, a 20 °C.

Triclorotrifluoroetano - Emplear uno de grado apropiado.

Tricloruro de antimonio - (*Cloruro antimonioso*) - $SbCl_3$ - (PM:228,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Tricloruro de titanio - (*Cloruro titanoso*) - $TiCl_3$ - (PM: 154,2) - Polvo negro, higroscópico, inestable al aire. Soluble en agua, la solución deposita ácido tánico en contacto con el aire. Está disponible generalmente como soluciones acuosas del 15 al 20 %, violeta-azul oscuras. Almacenar la solución en botellas bien cerradas, de vidrio inactivo con tapón.

n-Tricosano - $C_{23}H_{48}$ - (PM: 324,6) - Masa incolora o blanca, más o menos translúcida, mostrando una estructura cristalina. Inodoro o prácticamente inodoro. Tiene un aspecto algo grasoso. Insoluble en agua y alcohol; soluble en cloroformo, éter, aceites volátiles y la mayoría de los aceites fijos calientes; poco soluble en alcohol absoluto. Hierve a aproximadamente 380 °C.

Intervalo de fusión <260> - Entre 47 y 49 °C.

Aptitud - Determinar su aptitud en el ensayo para *Sustancias relacionadas en Clorhidrato de dextropropoxifeno* del siguiente modo. Disolver una cantidad apropiada en cloroformo para obtener una solución que contiene 20 µg por ml. Procediendo según se indica en el ensayo para *Sustancias relacionadas en Clorhidrato de dextropropoxifeno*, inyectar un volumen apropiado de la solución en el cromatógrafo y registrar el cromatograma de la *Solución estándar* preparada según se indica en el ensayo para *Sustancias relacionadas*: sólo un pico principal se obtiene a partir de la solución de n-tricosano y no se observan picos menores a, o cerca de, los picos obtenidos para dextropropoxifeno, acetoxi, o carbinol en el cromatograma de la *Solución estándar*.

Trietanolamina - Emplear *Trolamina*.

Trietilamina - $(C_2H_5)_3N$ - (PM: 101,2) - Líquido incoloro, de fuerte olor amoniacal. Poco

soluble en agua. Miscible con alcohol, éter y agua fría. Almacenar en envases bien cerrados.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 89 y 90 °C.

Absorbancia - Transferir 1 ml a un matraz aforado de 50 ml, agregar 10 ml de metanol y 1 ml de ácido clorhídrico y completar a volumen con cloroformo. La absorbancia de esta solución, determinada a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 285 nm, con un espectrofotómetro apropiado, no excede 0,01. [NOTA: si la absorbancia excede 0,01, purificar la trietilamina del siguiente modo: calentar a reflujo 100 ml con 20 ml de agua y 2 g de hidrosulfito de sodio durante no menos de 8 horas, lavar con agua, secar por reflujo, empleando una trampa de Dean-Stark y destilar, recolectar sólo los primeros 75 ml de filtrado. Almacenar sobre carbonato de sodio anhidro o carbonato de potasio anhidro.]

Trietilenglicol - $C_6H_{14}O_4$ - (PM: 150,2) - Líquido incoloro a amarillo pálido. Es higroscópico. Miscible con agua, alcohol y tolueno.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,85 m × 3 mm con un soporte constituido por un copolímero de estireno-divinilbenceno con un área superficial nominal de menos de 50 m² por g y un diámetro de poro promedio de 0,3 a 0,4 μm. Mantener el inyector, la columna y el detector a aproximadamente 250, 230 y 310 °C, respectivamente. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico $C_6H_{14}O_4$ no es menor de 97 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,4550 y 1,4570, a 20 °C.

Trifenilmetano - $C_{19}H_{16}$ - (PM: 244,3) - Polvo marrón claro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m × 0,25 mm recubierta con una capa de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano de 1 μm. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 300 °C. La temperatura de la columna se mantiene a 200 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 300 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de $C_{19}H_{16}$ no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 92 y 94 °C.

2,2,2-Trifluoroetanol - CF_3CH_2OH - (PM: 100,0) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*)

equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m × 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de una fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 100 y 150 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 0 °C y se programa un ascenso de 10°C por minuto hasta alcanzar 150 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de CF_3CH_2OH no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión - Entre 77 y 80 °C.

2,2,2-Trifluoroetildifluorometil éter - (*Difluoro-metil-2,2,2-trifluoroetil éter*) - $C_3H_3F_5O$ - (PM: 150,1) - Líquido transparente. Emplear uno de grado apropiado.

Intervalo de fusión <260> - Entre 28 y 30 °C.

5-(Trifluorometil)uracilo - $C_5H_3F_3N_2O_2$ - (PM: 180,1) - Polvo blanco a casi blanco.

Identificación -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol y ácido acético (17:2:1).

Procedimiento - Examinar los cromatogramas bajo luz ultravioleta a 366 nm. Se debe observar una única mancha.

Trifluoruro de boro - BF_3 - (PM: 67,8) - Emplear uno de grado apropiado.

Trimetilclorosilano - Ver Clorotrimetilsilano.

2,2,4-Trimetilpentano - (*Isooctano*) - C_8H_{18} - (PM: 114,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

2,4,6-Trimetilpiridina - (*5-Colidina*) - $C_8H_{11}N$ - (PM: 121,2) - Líquido claro, incoloro, de olor aromático. Soluble en agua fría y menos soluble en agua caliente; soluble en alcohol, cloroformo y metanol. Miscible con éter.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,85 m × 3 mm con una fase estacionaria constituida por un compuesto de polietilenglicol (p.m.p aproximadamente 15.000 [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido]), sobre un soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C. [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido

luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el inyector, la columna y el detector a aproximadamente 180, 165 y 270 °C, respectivamente. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico $C_8H_{11}N$ no es menos de 98 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,4970 y 1,4990, a 20 °C.

N-(Trimetilsilil)-imidazol - $C_6H_{12}N_2Si$ - (PM: 140,3) - Líquido transparente, incoloro a amarillo claro.

Índice de refracción - Entre 1,4744 y 1,4764, a 20 °C.

3-(Trimetilsilil)-1-propano sulfonato de sodio - (2,2-Dimetil-2-silapentano-5-sulfonato sódico) - $C_6H_{15}SiNaO_3S$ - (PM: 218,3) - Emplear uno de grado apropiado.

Trinitrofenol - Ver Ácido pícrico.

Trióxido de arsénico - As_2O_3 - (PM: 197,8) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Trióxido de cromo - CrO_3 - (PM: 100,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

L-Triptofano - $C_{11}H_{12}N_2O_2$ - (PM: 204,2) - Laminillas o polvo blanco o ligeramente amarillo. Poco soluble en alcohol y agua; soluble en ácidos diluidos y en soluciones de hidróxidos alcalinos.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 300 mg, disolverlos en una mezcla de 3 ml de ácido fórmico y 50 ml de ácido acético glacial, agregar 2 gotas de cristal violeta (SR). Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) hasta punto final verde. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 20,42 mg de $C_{11}H_{12}N_2O_2$. Contiene entre 98,0 y 102,0 %, calculado sobre la sustancia seca.

Rotación específica <170> - Entre -30,0° y -33,0°, determinado en una solución que contiene 1,0 g de muestra, previamente secada a 105 °C durante 3 horas, en 100 ml.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 3 horas: no pierde más de 0,3 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,1 %.

Tirosina - Disolver 100 mg en 3 ml de ácido sulfúrico diluido, agregar 10 ml de sulfato mercúrico (SR) y calentar en un baño de vapor durante 10 minutos. Filtrar, lavar con 5 ml de sulfato mercúrico (SR) y agregar al filtrado combinado 0,5 ml de solución de nitrito de sodio (1 en 20): no se produce color rojo dentro de los 15 minutos.

Triptona - Emplear Digerido pancreático de caseína.

Tris(2-aminoetil)amina - $C_6H_{18}N_4$ - (PM: 146,2) - Líquido amarillo. Soluble en metanol.

Valoración - Disolver aproximadamente 80 mg en 30 ml de metanol. Agregar 40 ml de agua y titular con ácido clorhídrico 1 N, determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido clorhídrico 1 N equivale a 48,75 mg de $C_6H_{18}N_4$. Contiene no menos de 98,0%.

Índice de refracción - Entre 1,4956 y 1,4986, a 20 °C.

1,3,5-tris(3,5-di-ter-butil-4-hidroxibencil)-s-triazina-2,4,6-(1H,3H,5H) triona - $C_{48}H_{69}N_3O_6$ - (PM: 784,1) - Polvo blanco cristalino.

Intervalo de fusión - Entre 218 y 222 °C.

Tris(hidroximetil)aminometano - Emplear un reactivo analítico apropiado. Ver Trometamina.

Trombina bovina - Preparación de una enzima obtenida a partir de plasma bovino y capaz de transformar el fibrinógeno en fibrina. Polvo blanco amarillento. Conservar a una temperatura menor de 0 °C.

Trombina humana - Trombina humana desecada. Es una preparación de una enzima que transforma el fibrinógeno humano en fibrina. Se obtiene a partir de plasma humano líquido y puede prepararse por precipitación con sales apropiadas y solventes orgánicos en condiciones controladas de pH, fuerza iónica y temperatura. Polvo blanco amarillento. Fácilmente soluble en una solución de 9 mg de cloruro de sodio por ml, dando una solución turbia, amarillo pálido.

Tromboplastina - Polvo color amarillo ligero o suspensión opalescente o turbia. Presenta actividad tromboquinasa obtenida a partir del cerebro y/o tejido del pulmón, extraído con acetona, de conejos recientemente sacrificados. Puede contener cloruro de sodio y cloruro de calcio en proporciones apropiadas y puede contener un conservante apropiado. Puede tener el olor característico de tejido animal seco. Se emplea en forma de suspensión para la determinación del tiempo y actividad de protrombina en sangre. Su actividad tromboquinasa es tal que da un tiempo de coagulación entre 11 a 16 segundos con plasma humano normal y concentración apropiada de iones de calcio. Almacenar en envases de cierre perfecto, preferentemente a una temperatura debajo de 5 °C.

Pérdida por secado <680> - [NOTA: este ensayo es aplicable sólo a la forma seca.] Secar al vacío

a 60°C durante 6 horas: no pierde más de 5,0 % de su peso.

Trometamina -

[*Tris(hidroxi metil)aminometano; THAM; 2-Amino-2-(hidroxi metil)-1,3-propanodiol*] - $C_4H_{11}NO_3$ - (PM: 121,1) - Emplear Tris(hidroxi metil)amino metano grado analítico.

Tropeolina OO - (*Naranja ácido 5*) - (PM: 375,4) - $C_{18}H_{14}N_3NaO_3S$ - Escamas amarillo anaranjadas o polvo amarillo. Soluble en agua.

Intervalo de pH - Entre 1,4 (rojo) y 2,6 (amarillo).

Tungstato sódico - $Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$ - (PM: 329,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

U

Uracilo - $C_4H_4N_2O_2$ - (PM: 112,1) - Polvo cristalino color blanco o crema. Funde encima de 300 °C. Poco soluble en agua; menos soluble en alcohol; soluble en amoníaco (SR) y en hidróxido de sodio (SR). Sus soluciones no producen precipitado con los precipitantes usuales de alcaloides.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 100 mg.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 2 horas: no pierde más de 2 % de su peso.

Urea - NH_2CONH_2 - (PM: 60,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Uretano - (*Carbamato de etilo*) - $C_3H_7NO_2$ - (PM: 89,1) - Polvo blanco con pequeños trozos. Fácilmente soluble en agua.

Intervalo de fusión <260> - Entre 48 y 50 °C.

Uridina - $C_9H_{12}N_2O_6$ - (PM: 244,2) - Polvo blanco.

Valoración -

Fase móvil - Metanol y acetato de amonio 0,2 M (90:10), ajustar con ácido fosfórico a pH 7,0.

Procedimiento - Inyectar aproximadamente 20 µl en un equipo para cromatografía de líquidos (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 15 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice porosa de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal es de aproximadamente 2,0 ml por minuto. El área del pico $C_9H_{12}N_2O_6$ no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 166 y 171 °C.

V

Valerofenona - $C_{11}H_{14}O$ - (PM: 162,2) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar recubierta con una capa de $1\ \mu\text{m}$ de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y $300\ ^\circ\text{C}$, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a $150\ ^\circ\text{C}$ y se programa un ascenso de $10\ ^\circ\text{C}$ por minuto hasta $300\ ^\circ\text{C}$. Se emplea helio como gas transportador. La respuesta del pico $C_{11}H_{14}O$ no debe ser menor de $98\ \%$ de la respuesta total.

Índice de refracción $<230>$ - Aproximadamente $1,5149$, a $20\ ^\circ\text{C}$.

Intervalo de ebullición - Entre 105 y $107\ ^\circ\text{C}$, a una presión de $5\ \text{mm Hg}$.

Vanadato de amonio - (*Metavanadato de amonio*) - NH_4VO_3 - (PM: 117,0) - Polvo blanco, cristalino. Poco soluble en agua fría; soluble en agua caliente y amoníaco (SR).

Valoración - Pesar exactamente alrededor de $500\ \text{mg}$, transferirlos a un envase apropiado, agregar $30\ \text{ml}$ de agua y $2\ \text{ml}$ de ácido sulfúrico diluido (1 en 4), agitar por rotación hasta disolver y hacer pasar dióxido de azufre gaseoso a través de la solución hasta que la solución se torne color azul brillante. Calentar a ebullición suavemente mientras se hace pasar una corriente de dióxido de carbono a través de la solución para eliminar el dióxido de azufre en exceso y luego enfriar. Titular con permanganato de potasio $0,1\ \text{N}$ (SV). Cada mililitro de permanganato de potasio $0,1\ \text{N}$ consumido equivale a $11,7\ \text{mg}$ de NH_4VO_3 . Contiene no menos de $98,0\ \%$.

Solubilidad en hidróxido de amonio - Disolver $1\ \text{g}$ en una mezcla de $3\ \text{ml}$ de hidróxido de amonio y $50\ \text{ml}$ de agua caliente: la solución es transparente e incolora.

Carbonato - A $500\ \text{mg}$ agregar $1\ \text{ml}$ de agua y $2\ \text{ml}$ de ácido clorhídrico diluido: no se produce efervescencia.

Cloruro - Disolver $250\ \text{mg}$ en $40\ \text{ml}$ de agua caliente, agregar $2\ \text{ml}$ de ácido nítrico y dejar reposar durante $1\ \text{hora}$. Filtrar y agregar al filtrado $0,5\ \text{ml}$ de nitrato de plata (SR): si se produce turbidez no debe exceder la de un blanco conteniendo $0,5\ \text{mg}$ de Cl ($0,2\ \%$).

Sulfato - Disolver $500\ \text{mg}$ en $50\ \text{ml}$ de agua caliente y agregar $2\ \text{ml}$ de ácido clorhídrico diluido y $1,5\ \text{g}$ de clorhidrato de hidroxilamina. Calentar a $60\ ^\circ\text{C}$ durante $3\ \text{minutos}$, filtrar, enfriar y agregar al filtrado $2\ \text{ml}$ de cloruro de bario (SR): no se produce turbidez o precipitado alguno dentro de $30\ \text{minutos}$.

Verde brillante - (*Verde de malaquita G*) - $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ - (PM: 482,6) - Cristales brillantes color amarillo oro. Soluble en agua y alcohol. Máximo de absorción a $623\ \text{nm}$.

Verde de malaquita G - Ver Verde brillante.

Violeta de p-iodonitrotetrazolio - [*Cloruro de 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-feniltetrazolio*] - $\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{ClIN}_5\text{O}_2$ - (PM: 505,7) - Polvo de color amarillo claro.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de $0,25\ \text{mm}$ de espesor.

Fase móvil - Alcohol amílico, ácido fórmico y agua (8:1:1).

Revelador - Solución de tiosulfato de sodio al $0,1\ \%$.

Procedimiento - Pulverizar con *Revelador* sobre la placa y examinar bajo luz ultravioleta a $254\ \text{nm}$. Presenta una sola mancha, con trazas de impurezas.

Punto de fusión $<260>$ - Aprox. $240\ ^\circ\text{C}$, con descomposición.

X

Xantidrol - $C_{13}H_{10}O_2$ - (PM: 198,2) - Polvo cristalino amarillo pálido. Insoluble en agua; soluble en alcohol, cloroformo y éter. Soluble en ácido acético glacial, dando una solución prácticamente incolora; cuando el polvo se trata con ácido clorhídrico diluido, se produce un color amarillo limón.

Intervalo de fusión <260> - Entre 121 y 123 °C.

Residuo de ignición <270> - Someter a ignición 500 mg con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 10 mg (2,0 %).

Xantina - $C_5H_4N_4O_2$ - (PM: 152,1) - Polvo blanco, cristalino. Se descompone con el calentamiento. Poco soluble en agua y alcohol; soluble en hidróxido de sodio (SR); moderadamente soluble en ácido clorhídrico diluido. Cuando se somete a la reacción de murexida se produce un color púrpura con el amoníaco; con el agregado posterior de hidróxidos alcalinos, el color no desaparece pero cambia a violeta.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 100 mg.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 2 horas: no pierde más de 1 % de su peso.

Xileno - C_8H_{10} - (PM: 106,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

o-Xileno - C_8H_{10} - (PM: 106,2) - Líquido transparente, incoloro, móvil e inflamable. Insoluble en agua; miscible con alcohol y éter.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,8 m x 3 mm empacada con 1,75 % de silicato de aluminio hidratado más 5,0 % de diisododecil ftalato sobre un soporte constituido por tierra silíceas para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C. [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el detector, el inyector y la columna a aproximadamente 280, 180 y 80 °C, respectivamente. Se emplea helio como gas transportador con un caudal de aproxima-

damente 27,5 ml por minuto. Presenta una pureza no menor de 95 %.

Índice de refracción - Entre 1,5040 y 1,5060, a 20 °C.

p-Xileno - C_8H_{10} - (PM: 106,2) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m x 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μ m de una fase estacionaria constituida por polietilenglicol (p.m.p de 950 a 1.050). Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 130 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 50 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 100 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de C_8H_{10} no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,493 y 1,497, a 20 °C.

Xileno cianol FF - $C_{25}H_{27}N_2NaO_6S_2$ - (PM: 538,6) - Polvo de color gris azulado a azul oscuro. Soluble en agua.

Valoración - Transferir aproximadamente 50 mg, exactamente pesados, a un matraz aforado de 100 ml, disolver en agua, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 2,0 ml de la solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con solución reguladora de fosfato pH 7,0 (ver *Soluciones reguladoras*) y mezclar. Determinar la absorbancia de la solución en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente a 614 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando agua como blanco. Calcular la absorbancia (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*): la absorbancia no es menor de 55,9, correspondiendo aproximadamente a 83 % de $C_{25}H_{27}N_2NaO_6S_2$.

Pérdida por secado <680> - Secar a 110 °C hasta peso constante: no pierde más de 6,0 % de su peso.

Xilosa - $C_5H_{10}O_5$ - (PM: 150,1) - Emplear un grado apropiado.

INDICADORES, PAPELES Y PAPELES INDICADORES

INDICADORES

Los indicadores se emplean en los ensayos y valoraciones de este compendio para indicar la finalización de una reacción química en el análisis volumétrico o para indicar la concentración de ion hidrógeno (pH) de las soluciones. Las soluciones indicadoras necesarias se enumeran entre las *Soluciones de reactivos*, abreviadas como (SR).

Las soluciones de indicadores básicos y del grupo de las ftaleínas se preparan mediante disolución en alcohol. En el caso de indicadores que contienen un grupo ácido, este grupo debe, en primer lugar, neutralizarse con hidróxido de sodio del siguiente modo:

Triturar 100 mg del indicador en un mortero de superficie lisa con el volumen de hidróxido de sodio 0,05 N especificado en las indicaciones para preparar la *Solución de reactivo*, o con el equivalente de hidróxido de sodio 0,02 N. Cuando se ha disuelto el indicador, diluir la solución con agua a 200 ml (0,05%). Almacenar las soluciones en envases inactivos apropiados.

Enumerados en orden ascendente según el límite inferior del intervalo, los indicadores de pH útiles son: azul de timol, pH 1,2 - 2,8; amarillo de metilo, pH 2,9 - 4,0; azul de bromofenol, pH 3,0 - 4,6; verde de bromocresol, pH 4,0 - 5,4; rojo de metilo, pH 4,2 - 6,2; púrpura de bromocresol, pH 5,2 - 6,8; azul de bromotimol, pH 6,0 - 7,6; rojo de fenol, pH 6,8 - 8,2; azul de timol, pH 8,0 - 9,2 y timolftaleína, pH 8,6-10,0.

Alfazorina 2G - Emplear uno de grado apropiado.

Amarillo brillante (C.I. 24.890) - (PM: 592,5) - $C_{26}H_{18}N_4Na_2O_8S$ - Polvo anaranjado o color óxido. Soluble en agua.

Pérdida por secado <680> - Secar al vacío a 60°C durante 1 hora: no pierde más de 5 % de su peso.

Amarillo de metilo - $C_{14}H_{15}N_3$ - (*p*-Dimetilaminoazobenceno) - (PM: 225,3) - Cristales amarillos que funden entre 114 y 117 °C. Insoluble en agua; soluble en alcohol, cloroformo, éter, ácidos minerales diluidos y aceites. Intervalo de transición: de pH 2,9 a 4,0. Cambio de color: de rojo a amarillo.

Azo violeta - [*4*-(*p*-Nitrofenilazo)resorcinol] - $C_{12}H_9N_3O_4$ - (PM: 259,2) - Polvo rojo. Funde aproximadamente a 193 °C, con descomposición.

Azul de bromocresol - Ver Verde de bromocresol.

Azul de bromofenol - $C_{19}H_{10}Br_4O_5S$ - (*3',3'',5',5''*-Tetrabromofenolsulfoftaleína) - (PM: 670,0) - Cristales rosados. Insoluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones de hidróxidos alcalinos. Intervalo de transición: de pH 3,0 a 4,6. Cambio de color: de amarillo a azul.

Azul de bromofenol sódico - (*Sal sódica de 3',3'',5',5''*-Tetrabromofenolsulfoftaleína) - (PM: 646,4) - $C_{19}H_9Br_4O_5SNa$ - Cristales rosados. Soluble en agua y en alcohol. Intervalo de transición: de pH 3,0 a 4,6. Cambio de color: de amarillo a azul.

Azul de bromotimol - $C_{27}H_{28}Br_2O_5S$ - (*3',3''*-Dibromotimolsulfoftaleína) - (PM: 624,4) - Polvo color crema. Insoluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones de hidróxidos alcalinos. Intervalo de transición: de pH 6,0 a 7,6. Cambio de color: de amarillo a azul.

Azul de hidroxinaftol - $C_{20}H_{14}N_2O_{11}S_3$ - (PM: 554,5) - Sal disódica del ácido 1-(2-naftolazo-3,6-disulfónico)-2-naftol-4-sulfónico depositado sobre cristales de cloruro de sodio - Cristales azules pequeños. Fácilmente soluble en agua. En el intervalo de pH entre 12 y 13, su solución es de color rojo rosado en presencia de ion calcio y azul profundo en presencia de edetato disódico en exceso.

Aptitud para la determinación de calcio - Disolver 300 mg en 100 ml de agua, agregar 10 ml de hidróxido de sodio (SR) y 1,0 ml de solución de cloruro de calcio (1 en 200) y diluir con agua a 165 ml: la solución es rojizo rosada. Agregar 1,0 ml de edetato disódico 0,05 M: la solución vira a azul profundo.

Azul de oracet B - (*Solvente azul 19*) - Una mezcla de ($C_{21}H_{16}N_2O_2$) 1-metilamino-4-anilinoantraquinona y de ($C_{20}H_{14}N_2O_2$) 1-amino-4-anilinoantraquinina - Cuando se emplea para titulación en medios no acuosos, su color cambia de azul (básico), púrpura (neutro) a rosado (ácido).

Azul de timol - (*Timolsulfoftaleína*) - $C_{27}H_{30}O_5S$ (PM: 466,6) - Polvo cristalino de color oscuro. Poco soluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones de álcalis diluidos. *Ácido* - Intervalo de transición: de pH 1,2 a 2,8. Cambio de color: de rojo a amarillo. *Alcalino* - Intervalo de transición:

de pH 8,0 a 9,2. Cambio de color: de amarillo a azul.

Azul nilo, clorhidrato - $C_{20}H_{20}ClN_3O$ - (PM: 353,9) - (*Azul nilo A, como clorhidrato; Cloruro de 5-amino-9-(diethylamino)benzo [a] fenoxazin-7-io*) - Poco soluble en alcohol y en ácido acético glacial. Intervalo de transición: de pH 9,0 a 13,0. Cambio de color: de azul a rosado.

Cristal violeta - (*Cloruro de hexametil p-rosanilina*) - $C_{25}H_{30}ClN_3$ - (PM: 408,0) - Cristales verde oscuro. Poco soluble en agua; moderadamente soluble en alcohol y en ácido acético glacial. Sus soluciones son color violeta profundo.

Sensibilidad - Disolver 100 mg en 100 ml de ácido acético glacial y mezclar. Transferir 1 ml de solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con ácido acético glacial: la solución es color azul-violeta y no presenta un tinte rojizo. Transferir 20 ml de la solución diluida a un vaso de precipitados y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), agregando el ácido perclórico lentamente desde una microbureta: no se consumen más de 0,10 ml de ácido perclórico 0,1 N para producir un color verde-esmeralda.

Fenolftaleína - [*3,3-Bis(p-hidroxifenil)ftalida*] - $C_{20}H_{14}O_4$ - (PM: 318,3) - Polvo blanco o débilmente amarillento blanco, cristalino. Insoluble en agua; soluble en alcohol. Intervalo de transición: de pH 8,0 a 10,0. Cambio de color: de incoloro a rojo.

p-Naftolbenceína - (PM: 374,4) - (4-[α -(4-Hidroxil-1-naftil)bencilideno]-1(4H)-naftalenona) - (4-HOC₁₀H₆)C:(C₁₀H₆-4:O)(C₆H₅) - Polvo pardo rojizo. Insoluble en agua; soluble en alcohol, éter y ácido acético glacial. Intervalo de transición: de pH 8,8 a 10,0. Cambio de color: de anaranjado a verde.

Naranja de metilo - (*Heliantina o tropeolina D*) - $C_{14}H_{14}N_3NaO_3S$ - (PM: 327,3) - Sal sódica del ácido dimetilaminoazobenceno sulfónico o dimetilaminoazobenceno sulfonato sódico. Polvo o escamas cristalinas de color amarillo anaranjado. Poco soluble en agua fría; fácilmente soluble en agua caliente; insoluble en alcohol. Intervalo de transición: de pH 3,2 a 4,4. Cambio de color: de rosado a amarillo.

Naranja de xilenol - $C_{31}H_{28}N_2Na_4O_{13}$ - (*N,N'-[3H-2,1-Benzoxatiol-3-ilidenbis-[(6-hidroxil-5-metil-3,1-fenil)metilén]]bis[N-(carboximetil)glicina] S,S-dióxido*) - (PM: 760,6) - Polvo anaranjado. Soluble en alcohol y agua. En solución ácida, es color amarillo limón y sus complejos metálicos son intensamente rojos. Proporciona un punto final diferenciado cuando un metal, como por ej., bismuto, cadmio, lantano, plomo,

mercurio, escandio, torio o cinc se titula con edetato disódico.

Negro de eriocromo T - [*1-(1-Hidroxil-2-naftilazo)-5-nitro-2-naftol-4-sulfonato de sodio*] - (PM: 461,4) - $C_{20}H_{12}N_3NaO_7S$ - Polvo negro pardusco que tiene un débil brillo metálico. Soluble en alcohol, metanol y agua caliente.

Sensibilidad - A 10 ml de una solución (1 en 200.000) en una mezcla de partes iguales de metanol y agua agregar solución de hidróxido de sodio (1 en 100) hasta pH 10: la solución es color azul y exenta de turbidez. Agregar 0,01 mg de ion magnesio (Mg): el color de la solución se torna de color rojo violeta y con el agregado continuado de ion magnesio adquiere una coloración rojo vino.

Negro de eriocromo T triturado - Reducir a polvo 200 mg de negro de eriocromo T a polvo fino con 20 g de cloruro de potasio.

Púrpura de bromocresol - (*Dibromo-o-cresolsulfoftaleína*) - $C_{21}H_{16}Br_2O_5S$ - (PM: 540,2) - Polvo cristalino blanco a rosado. Insoluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones de hidróxidos alcalinos. Intervalo de transición: de pH 5,2 a 6,8. Cambio de color: de amarillo a púrpura.

Rojo congo - Ver Rojo congo en *Especificaciones de reactivos*.

Rojo cresol - (*o-Cresolsulfoftaleína*) - $C_{21}H_{18}O_5S$ - (PM: 382,4) - Polvo rojo-pardo. Poco soluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones diluidas de hidróxidos alcalinos. Intervalo de transición: de pH 7,2 a 8,8. Cambio de color: de amarillo a rojo.

Rojo de fenol - [*4,4'-(3H-2,1-Benzoxatiol-3-iliden)difenol, S,S-dióxido*] - $C_{19}H_{14}O_5S$ - (PM: 354,4) - Polvo cristalino, varía el color de rojo brillante a rojo oscuro. Muy poco soluble en agua; fácilmente soluble en soluciones de carbonatos e hidróxidos alcalinos; poco soluble en alcohol. Intervalo de transición: de pH 6,8 a 8,2. Cambio de color: de amarillo a rojo.

Rojo de metilo - (PM: 305,8) - (*Ácido 2-[[4-(dimetilamino)fenil]azo]benzoico, clorhidrato*) - 2-[4-(CH₃)₂NC₆H₄N:N]C₆H₄COOH] . HCl - Polvo rojo oscuro o cristales de color violeta. Moderadamente soluble en agua; soluble en alcohol. Intervalo de transición: de pH 4,2 a 6,2. Cambio de color: de rojo a amarillo.

Rojo de metilo sódico - (*Sal sódica del ácido 2-[[4-(dimetilamino)fenil]azo] benzoico*) - (PM: 291,3) - 2-[4-(CH₃)₂NC₆H₄N:N]C₆H₄COONa - Polvo naranja pardusco. Fácilmente soluble en agua fría y alcohol.

Intervalo de transición: de pH 4,2 a 6,2. Cambio de color: de rojo a amarillo.

Rojo de quinaldina - (*Ioduro de 5-dimetilamino-2-estiriletil quinolinio*) - $C_{21}H_{23}IN_2$ - (PM: 430,3) - Polvo de color azul oscuro a negro. Moderadamente soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol. Funde aproximadamente a 260 °C, con descomposición. Intervalo de transición: de pH 1,4 a 3,2. Cambio de color: de incoloro a rojo.

Rojo neutro - (*3-Amino-7-dimetilamino-2-metilfenazina monoclorhidrato*) - $C_{15}H_{16}N_4 \cdot HCl$ - (PM: 288,8) - Polvo grueso color rojizo a verde aceituna. Moderadamente soluble en agua y alcohol. Intervalo de transición: de pH 6,8 a 8,0. Cambio de color: de rojo a anaranjado.

Sal sódica de púrpura de bromocresol - (PM: 562,2) - $C_{21}H_{15}Br_2O_5SNa$ - Polvo negro. Soluble en agua. Intervalo de transición: de pH 5,0 a 6,8. Cambio de color: de amarillo verdoso a púrpura-violeta.

Intervalo de fusión <260> - Entre 261 y 264 °C.

Sal sódica de verde de bromocresol - Emplear uno de grado apropiado.

Sal trisódica del ácido 2-(4-sulfofenilazo)-1,8-dihidroxi-3,6 naftaleno disulfónico - (*Sal trisódica del ácido 4,5-dihidroxi-3-(p-sulfofenilazo)-2,7-naftalenodisulfónico*) - $C_{16}H_9N_2O_{11}S_3Na_3$ - (PM: 570,4) - Polvo rojo. Soluble en agua.

Sulfito de bismuto - Emplear uno de grado apropiado.

Solución mezcla de azul sulfán y bromuro de dimidium -

Timolftaleína - $C_{28}H_{30}O_4$ - (PM: 430,5) - Polvo cristalino blanco a algo amarillo. Insoluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones de hidróxidos alcalinos. Intervalo de transición: de pH 9,3 a 10,5. Cambio de color: de incoloro a azul.

Tornasol - Polvo azul. Parcialmente soluble en agua y alcohol. Intervalo de transición: de pH aproximadamente 4,5 a 8. Cambio de color: de rojo a azul. El papel de tornasol no es apropiado para determinar el pH de alcaloides, carbonatos y bicarbonatos.

Verde brillante - Ver Verde brillante en la *Especificaciones de reactivos*.

Verde de bromocresol - (*Azul de bromocresol; Tetrabromo m-cresolsulftaleína*) - $C_{21}H_{14}Br_4O_5S$ - (PM: 698,0) - Polvo blanco o amarillo pálido. Poco soluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones de hidróxidos alcalinos. Intervalo de transición: de pH 4,0 a 5,4. Cambio de color: de amarillo a azul.

Verde de malaquita, oxalato - (PM: 927,0) - $[4-NH(CH_3)_2C_6H_4C(C_6H_5):C_6H_4-4-N(CH_3)_2(OCO_2H)]_2(COO)_2$ - Es el oxalato, cristalizado con ácido oxálico, de un colorante derivado del trifenilmetano. Polvo verde oscuro, de brillo metálico. Moderadamente soluble en agua; soluble en ácido acético glacial. Intervalo de transición: de pH 0,0 a 2,0. Cambio de color: de amarillo a verde.

PAPELES Y PAPELES INDICADORES

Los papeles y papeles indicadores son tiras de papel de dimensión y grado apropiado (ver *Papel de filtro cuantitativo*, en *Especificaciones de reactivos*) impregnadas con un indicador o un reactivo. Algunos papeles pueden obtenerse comercialmente. Aquellos requeridos en los ensayos y valoraciones de este compendio pueden ser preparados según se indica a continuación.

Tratar el papel de filtro con ácido clorhídrico y lavarlo con agua hasta que el último lavado ya no de reacción ácida con rojo de metilo. Luego tratar con amoníaco (SR) y lavar nuevamente con agua hasta que el último lavado no sea alcalino a la fenolftaleína.

Luego de un secado minucioso, saturar el papel con la concentración apropiada de soluciones indicadoras y cuidadosamente secar al aire, a menos que se especifique de otro modo, suspendiéndolos

en varillas de vidrio u otro material inerte en un espacio exento de ácido, álcali y otros gases.

Cortar el papel en tiras de tamaño conveniente y almacenar los papeles en envases inactivos, bien cerrados, protegidos de la humedad.

Papel de acetato de plomo - Generalmente de un tamaño aproximado de 6 mm por 80 mm. Usar acetato de plomo (SR) y secar el papel a 100 °C, evitando el contacto con metales.

Papel de amarillo de metilo - Emplear una solución (1 en 2000) de amarillo de metilo en alcohol.

Papel de bromuro mercúrico - Emplear bromuro mercúrico alcohólico (SR). Almacenar protegido de la luz.

Papel de cúrcuma - Emplear una solución preparada del siguiente modo: macerar 20 g de polvo de cúrcuma, la raíz seca de *Curcuma longa Linne*

(Fam. Zingiberaceae), con cuatro porciones de 100 ml de agua fría, decantando la porción líquida transparente cada vez y descartándola. Secar el residuo a una temperatura no mayor de 100 °C. Macerar con 100 ml de alcohol durante varios días y filtrar.

Sensibilidad - Sumergir una tira del papel, de longitud de aproximadamente 1,5 cm, en una solución de 1,0 mg de ácido bórico en 5 ml de agua, previamente mezclada con 1 ml de ácido clorhídrico. Luego de 1 minuto remover el papel del líquido y dejarlo secar: el color amarillo cambia a pardo. Luego humedecer el papel con amoníaco (SR): el color del papel cambia a negro verdoso.

Papel de fenoltaleína - Emplear una solución (1 en 1.000) de fenoltaleína en alcohol diluido.

Papel de iodato - almidón - Emplear una mezcla de volúmenes iguales de almidón (SR) y solución de iodato de potasio (1 en 20).

Papel de yoduro - almidón - Emplear una solución de 500 mg de yoduro de potasio en 100 ml de almidón recientemente preparado (SR).

Papel de sulfato cúprico - Emplear sulfato cúprico (SR).

Papel de tornasol azul - Generalmente de un tamaño aproximado de 6 mm × 50 mm. Cumple con los requisitos de los siguientes ensayos.

Fosfato (Ensayo para reactivos) - Cortar 5 tiras en piezas pequeñas, mezclar con 500 mg de nitrato de magnesio en un crisol de porcelana y someter a ignición. Agregar al residuo 5 ml de ácido nítrico y

evaporar hasta sequedad: el residuo no presenta más de 0,02 mg de PO₄.

Residuo de ignición - Someter a ignición cuidadosamente 10 tiras del papel hasta peso constante: el peso del residuo corresponde a no más de 0,4 mg por tira de aproximadamente 3 cm².

Ácidos de colofonia - Sumergir una tira del papel azul en una solución de 100 mg de nitrato de plata en 50 ml de agua: el color del papel no cambia en 30 segundos.

Sensibilidad - Dejar caer una tira de 10 a 12 mm en un vaso de precipitados que contenga 100 ml de ácido 0,0005 N y agitar continuamente: el color del papel cambia dentro de los 45 segundos. El ácido 0,0005 N se prepara diluyendo 1 ml de ácido clorhídrico 0,1 N con agua purificada hervida recientemente y enfriada a 200 ml.

Papel de tornasol rojo - Generalmente de un tamaño aproximado de 6 mm × 50 mm. El papel de tornasol rojo cumple con los requisitos de los ensayos para *Fosfato*, *Residuo de ignición* y *Ácidos de colofonia* en Papel de tornasol azul.

Sensibilidad - Dejar caer una tira de 10 a 12 mm en un vaso de precipitados que contenga 100 ml de hidróxido de sodio 0,0005 N y agitar continuamente: el color del papel cambia dentro de los 30 segundos. El hidróxido de sodio 0,0005 N es preparado diluyendo 1 ml de hidróxido de sodio 0,1 N con agua purificada recientemente hervida y enfriada a 200 ml.

Papel indicador de pH de intervalo corto - Emplear uno grado apropiado.

SOLUCIONES

Soluciones Reguladoras

Muchos ensayos y valoraciones de este compendio requieren el ajuste o mantenimiento de un pH especificado mediante el agregado de soluciones reguladoras. En las mediciones de pH, las soluciones reguladoras estándar son necesarias como referencia. La preparación de estas soluciones, en algunos casos, están descritas en las secciones en las cuales su empleo se especifica; por ej., en <770>. *Valoración microbiológica de antibióticos* se describe la preparación de varias soluciones reguladoras de fosfato.

Se dice que una solución está regulada si resiste cambios en la actividad de un ion con el agregado de sustancias que se supone cambian la actividad de ese ion. Las soluciones reguladas son sistemas en los que el ion está en equilibrio con sustancias capaces de atraparlo o liberarlo.

La capacidad de la solución reguladora está relacionada con la cantidad de material que puede agregarse a una solución sin causar un cambio significativo en la actividad del ion. Se define como la relación entre la cantidad de ácido o base agregados (en equivalentes g por litro) y el cambio en pH (en unidades de pH).

Las soluciones reguladoras se emplean para establecer y mantener una actividad iónica dentro de límites estrechos. Los sistemas más empleados son para: (a) establecer la actividad del ion hidrógeno para la calibración de medidores de pH, (b) la preparación de formas farmacéuticas isotónicas, (c) procedimientos analíticos y (d) mantener la estabilidad de diversas formas farmacéuticas. Las soluciones reguladoras empleadas en sistemas fisiológicos se eligen cuidadosamente de modo que no interfieran con la actividad farmacológica del medicamento o la función normal del organismo. Es esencial que las soluciones reguladoras empleadas en los análisis químicos sean compatibles con la sustancia a determinar y los reactivos empleados.

Soluciones reguladoras estándar

Las soluciones estándar de pH definido pueden obtenerse fácilmente a partir de soluciones reguladoras preparadas con reactivos apropiados. Además, pueden obtenerse comercialmente.

Los reactivos requeridos se describen en *Especificaciones de reactivos*. Secar previamente los reactivos cristalinos, excepto el ácido bórico, entre 110 y 120 °C durante 1 hora.

[NOTA: cuando se especifica agua para disolver o diluir las sustancias bajo ensayo en determinaciones de pH, emplear agua].

Almacenar las soluciones preparadas en envases químicamente resistentes de cierre perfecto como por ej., envases de vidrio Tipo I. Emplear las soluciones dentro de los 3 meses de preparadas.

Soluciones reguladoras estándar para diversos intervalos entre pH 1,2 y 10,0 pueden ser preparadas por combinaciones apropiadas de las soluciones 0,2 M descritas aquí, empleando las proporciones especificadas en las tablas siguientes. Los volúmenes dados en las tablas son para preparar 200 ml de solución reguladora.

1- *Ácido clorhídrico 0,2 M e Hidróxido de sodio 0,2 M* - Proceder según se indica en *Soluciones volumétricas*.

2- *Biftalato de potasio 0,2 M* - Disolver 40,85 g de biftalato de potasio [$\text{KHC}_6\text{H}_4(\text{COO})_2$] en agua y diluir con agua a 1 litro.

3- *Fosfato monobásico de potasio 0,2 M* - Disolver 27,22 g de fosfato monobásico de potasio (KH_2PO_4) en agua y diluir con agua a 1 litro.

4- *Ácido bórico y cloruro de potasio 0,2 M* - Disolver 12,37 g de ácido bórico (H_3BO_3) y 14,91 g de cloruro de potasio (KCl) en agua y diluir con agua a 1 litro.

5- *Cloruro de potasio 0,2 M* - Disolver 14,91 g de cloruro de potasio (KCl) en agua y diluir con agua a 1 litro.

6- *Ácido acético 2 N* - Proceder según se indica en *Soluciones volumétricas*.

Composición de las soluciones reguladoras estándar

Solución reguladora de ácido clorhídrico -

Transferir 50 ml de la solución de cloruro de potasio a un matraz aforado de 200 ml, agregar el volumen especificado de la solución de ácido clorhídrico y completar a volumen con agua.

pH	ClH (ml)
1,2	85,0
1,3	67,2
1,4	53,2
1,5	41,4
1,6	32,4
1,7	26,0
1,8	20,4
1,9	16,2
2,0	13,0
2,1	10,2
2,2	7,8

Solución reguladora de ftalato -

Transferir 50 ml de la solución de biftalato de potasio a un matraz aforado de 200 ml, agregar el volumen especificado de la solución de ácido clorhídrico y completar a volumen con agua.

pH	ClH (ml)
2,2	49,5
2,4	42,2
2,6	35,4
2,8	28,9
3,0	22,3
3,2	15,7
3,4	10,4
3,6	6,3
3,8	2,9
4,0	0,1

Solución reguladora de ftalato neutralizada -

Transferir 50 ml de la solución de biftalato de potasio a un matraz aforado de 200 ml, agregar el volumen especificado de la solución de hidróxido de sodio y completar a volumen con agua

pH	NaOH (ml)
4,2	3,0
4,4	6,6
4,6	1,1
4,8	6,5
5,0	22,6
5,2	28,8
5,4	34,1
5,6	38,8
5,8	42,3

Solución reguladora de fosfato -

Transferir 50 ml de la solución de fosfato monobásico de potasio a un matraz aforado de 200 ml, agregar el volumen especificado de la solución de hidróxido de sodio y completar a volumen con agua.

pH	NaOH (ml)
5,8	3,6
6,0	5,6
6,2	8,1
6,4	11,6
6,6	16,4
6,8	22,4
7,0	29,1
7,2	34,7
7,4	39,1
7,6	42,4
7,8	44,5
8,0	46,1

Solución reguladora alcalina de borato -

Transferir 50 ml de la solución de ácido bórico y de cloruro de potasio a un matraz aforado de

200 ml, agregar el volumen especificado de la solución de hidróxido de sodio y completar a volumen con agua.

pH	NaOH (ml)
8,0	3,9
8,2	6,0
8,4	8,6
8,6	11,8
8,8	15,8
9,0	20,8
9,2	26,4
9,4	32,1
9,6	36,9
9,8	40,6
10,0	43,7

Solución reguladora de acetato -

Transferir la cantidad especificada de acetato de sodio ($\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) a un matraz aforado de 1 litro, agregar el volumen especificado de la solución de ácido acético y completar a volumen con agua.

pH	pH (medido)	$\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (g)	CH_3COOH (ml)
4,1	4,10	1,50	19,5
4,3	4,29	1,99	17,7
4,5	4,51	2,99	14,0
4,7	4,70	3,59	11,8
4,9	4,90	4,3	49,1
5,1	5,11	5,08	6,3
5,2	5,18	5,23	5,8
5,3	5,30	5,61	4,4
5,4	5,40	5,76	3,8
5,5	5,48	5,98	3,0

SOLUCIONES COLORIMÉTRICAS (SC)

Estas soluciones se emplean en la preparación de los estándares colorimétricos para ciertos principios activos y para el ensayo de carbonización con ácido sulfúrico que se especifica en varias monografías (ver 350. *Ensayo de sustancias fácilmente carbonizables*). Almacenar las soluciones en envases apropiadamente resistentes, de cierre perfecto.

La comparación de colores tal como se indica en los ensayos de este compendio se hace preferentemente en tubos de Nessler armonizados o en un colorímetro apropiado bajo condiciones que aseguren que la solución colorimétrica de referencia y la de la muestra se tratan en forma similar. Los tubos deben contener el mismo volumen de solución y observarse transversalmente contra un fondo blanco. Es particularmente importante que las soluciones se comparen a la misma temperatura, preferentemente 25 °C.

Cloruro cobaltoso (SC) - Disolver aproximadamente 65 g de cloruro cobaltoso ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) en cantidad suficiente de una mezcla de 25 ml de ácido clorhídrico y 975 ml de agua para obtener 1 litro. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz de iodo de 250 ml, agregar 5 ml de peróxido de hidrógeno (SR) y 15 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 5), calentar a ebullición durante 10 minutos, enfriar y agregar 2 g de ioduro de potasio y 20 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 4). Cuando se ha disuelto el precipitado, titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 23,79 mg de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Ajustar el volumen final de la solución mediante el agregado de suficiente cantidad de la mezcla de ácido clorhídrico y agua para que cada ml contenga a 59,5 mg de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

Cloruro férrico (SC) - Disolver aproximadamente 55 g de cloruro férrico ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) en suficiente cantidad de una mezcla de 25 ml de ácido clorhídrico y 975 ml de agua para obtener 1 litro. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz de iodo de 250 ml, agregar 15 ml de agua, 3 g de ioduro de potasio y 5 ml de ácido clorhídrico y dejar que la mezcla repose durante 15 minutos. Diluir con 100 ml de agua y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 27,03 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Ajustar el volumen final de la solución mediante el agregado de suficiente cantidad de la mezcla de ácido clorhídrico y agua para que cada ml contenga a 45,0 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

Sulfato cúprico (SC) - Disolver aproximadamente 65 g de sulfato cúprico ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) en suficiente cantidad de una mezcla de 25 ml de ácido clorhídrico y 975 ml de agua para obtener 1 litro. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz de iodo de 250 ml, agregar 40 ml de agua, 4 ml de ácido acético, 3 g de ioduro de potasio y 5 ml de ácido clorhídrico y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 24,97 mg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Ajustar el volumen final de la solución mediante el agregado de suficiente cantidad de la mezcla de ácido clorhídrico y agua para que cada ml contenga a 62,4 mg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

SOLUCIONES INDICADORAS

Soluciones indicadoras ver *Soluciones de reactivos*

SOLUCIONES DE REACTIVOS (SR)

Algunas de las siguientes soluciones de reactivos están destinadas a emplearse como indicadores en el análisis volumétrico ácido-base. Tales soluciones deben ajustarse de modo que, cuando 0,15 ml de la solución indicadora se agregan a 25 ml de agua, 0,25 ml de ácido o álcali 0,02 N, respectivamente, producirá el cambio de color característico. Soluciones similares están destinadas a ser empleadas en mediciones de pH. Cuando no se dan indicaciones especiales para su preparación, la misma solución es apropiada para ambos fines.

Cuando se indica el empleo de una solución volumétrica como solución de reactivo, la estandarización de la solución empleada como "SR" no es necesaria.

En general, la directiva para preparar una solución "en el día de su uso" indica que la solución es de estabilidad limitada y debe prepararse en el día en el que se la va a emplear.

Para la preparación de *Soluciones de reactivos*, emplear reactivos de la calidad especificada en *Especificaciones de Reactivos*.

Acetaldehído (SR) - Mezclar 4 ml de acetaldehído, 3 ml de alcohol y 1 ml de agua. Preparar esta solución en el día de su uso.

Acetato cúprico (SR) - Disolver 100 mg de acetato cúprico en aproximadamente 5 ml de agua a la cual se le ha agregado unas pocas gotas de ácido acético. Diluir a 100 ml y filtrar, si fuera necesario.

Acetato cúprico fuerte (SR) - (*Reactivo de Barfoed*) - Disolver 13,3 g de acetato cúprico en una mezcla de 195 ml de agua y 5 ml de ácido acético.

Acetato de amonio (SR) - Disolver 10 g de acetato de amonio en agua para obtener 100 ml.

Acetato de dicitohexilamina (SR) - Disolver 50 g de dicitohexilamina en 150 ml de acetona, enfriar en un baño de hielo y agregar, con agitación, una solución de 18 ml de ácido acético glacial en 150 ml de acetona. Recristalizar el precipitado formado, calentando la mezcla a ebullición y dejándola enfriar en un baño de hielo, recolectar los cristales en un embudo filtrante, lavar con un volumen pequeño de acetona y secar al aire. Disolver 300 mg del acetato dicitohexilamina obtenido en 200 ml de una mezcla de cloroformo y éter saturado con agua (6:4). Emplear de inmediato.

Acetato de fenilhidracina (SR) - Disolver 10 ml de fenilhidracina y 5 ml de ácido acético glacial en agua para obtener 100 ml.

Acetato de plomo (SR) - Disolver 9,5 g de cristales claros, transparentes de acetato de plomo en agua recientemente hervida para obtener 100 ml. Almacenar en botellas de cierre perfecto.

Acetato de plomo alcohólico (SR) - Disolver 2 g de cristales transparentes de acetato de plomo en alcohol para obtener 100 ml. Almacenar en envases de cierre perfecto.

Acetato de potasio (SR) - Disolver 10 g de acetato de potasio en agua para obtener 100 ml.

Acetato de sodio (SR) - Disolver 13,6 g de acetato de sodio en agua para obtener 100 ml.

Acetato de uranilo y cinc (SR) - Disolver 50 g de acetato de uranilo en una mezcla de 15 ml de ácido acético glacial y agua para obtener 500 ml. Luego disolver 150 g de acetato de cinc en una mezcla de 15 ml de ácido acético glacial y agua para obtener 500 ml. Mezclar las dos soluciones, dejar reposar durante toda la noche y filtrar a través de un filtro seco, si fuera necesario.

Acetato de uranilo y cobalto (SR) - Disolver, calentando, 40 g de acetato de uranilo en una mezcla de 30 g de ácido acético glacial y agua suficiente para obtener 500 ml. En forma similar, preparar una solución que contenga 200 g de acetato cobaltoso en una mezcla de 30 g de ácido acético glacial y agua suficiente para obtener 500 ml. Mezclar las dos soluciones aún calientes y enfriar a 20 °C. Mantener la temperatura a 20 °C durante aproximadamente 2 horas para separar el exceso de sales de la solución y luego filtrar a través de un filtro seco.

Acetato mercúrico (SR) - Disolver 6,0 g de acetato mercúrico en ácido acético glacial para obtener 100 ml. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto.

Acetona regulada (SR) - Disolver 8,15 g de acetato de sodio y 42 g de cloruro de sodio en aproximadamente 100 ml de agua y agregar 68 ml de ácido clorhídrico 0,1 N y 150 ml de acetona. Mezclar y diluir con agua a 500 ml.

Ácido acético glacial (SR) - Determinar el contenido de agua de una muestra de ácido acético glacial por *Titulación volumétrica directa* (ver 120. *Determinación de agua*). Si el ácido contiene más de 0,05 % de agua, agregar unos pocos ml de anhídrido acético, mezclar, dejar reposar de la noche a la mañana, y nuevamente determinar el contenido de agua. Si el ácido contiene menos de 0,02 % de agua, agregar agua suficiente para obtener una

concentración final entre 0,02 y 0,05 %, mezclar, dejar reposar de la noche a la mañana y nuevamente determinar el contenido de agua. Repetir el ajuste con anhídrido acético o agua, según sea necesario, hasta que la solución resultante contenga entre 0,02 y 0,05 % de agua.

Ácido aminonaftolsulfónico (SR) - Pesar exactamente 5 g de sulfito de sodio, 94,3 g de bisulfito de sodio y 700 mg de ácido 1,2,4-aminonaftolsulfónico y mezclar. Preparar ácido aminonaftolsulfónico (SR) el día de uso disolviendo 1,5 g de la mezcla seca en 10 ml de agua.

Ácido cromotrópico (SR) - Disolver 50 mg de ácido cromotrópico o su sal sódica en 100 ml de ácido sulfúrico al 75 %, preparado agregando cuidadosamente 75 ml de ácido sulfúrico a 33,3 ml de agua.

Ácido diazobencenosulfónico (SR) - Transferir 1,57 g de ácido sulfanílico, previamente secado a 105°C durante 3 horas, a un vaso de precipitados, agregar 80 ml de agua y 10 ml de ácido clorhídrico diluido y calentar en un baño de vapor hasta disolver. Enfriar a 15 °C (se puede separar algo del ácido sulfanílico pero se disuelve posteriormente) y agregar lentamente, con agitación constante, 6,5 ml de solución de nitrito de sodio (1 en 10). Luego diluir con agua a 100 ml.

Ácido fenoldisulfónico (SR) - Disolver 2,5 g de fenol en 15 ml de ácido sulfúrico en un matraz apropiado. Agregar 7,5 ml de ácido sulfúrico fumante, agitar y calentar a 100 °C durante 2 horas. Transferir el producto, mientras permanece líquido, a una botella con tapón de vidrio y, si fuera necesario, calentar en un baño de agua hasta licuarlo.

Ácido fosfomolibdico (SR) - Disolver 20 g de ácido fosfomolibdico en alcohol para obtener 100 ml. Filtrar la solución y emplear sólo el filtrado transparente.

Ácido fosfotúngstico (SR) - Disolver 1 g de ácido fosfotúngstico en agua para obtener 100 ml.

Ácido metafosfórico - ácido acético (SR) - Disolver 15 g de ácido metafosfórico en 40 ml de ácido acético glacial y agua suficiente para obtener 500 ml. Almacenar en un sitio frío y emplear dentro de los 2 días de preparado.

Ácido oxálico (SR) - Disolver 6,3 g de ácido oxálico en agua para obtener 100 ml.

Ácido pícrico (SR) - Ver Trinitrofenol (SR).

Ácido sulfanílico (SR) - Disolver 800 mg de ácido sulfanílico en 100 ml de ácido acético. Almacenar en envases de cierre perfecto.

Ácido sulfanílico diazotado (SR) - Disolver, calentando, 0,9 g de ácido sulfanílico en 9 ml de ácido clorhídrico y diluir con agua a 100 ml. Enfriar 10 ml de esta solución en agua helada y agregar 10 ml de una solución de nitrito de sodio (4,5 en 100) previamente enfriada en agua helada. Dejar reposar a 0 °C durante por lo menos 15 minutos (la solución se puede mantener durante 3 días a esta temperatura). Inmediatamente antes de usar, agregar 20 ml de solución de carbonato de sodio (1 en 10).

Ácido sulfomolibdico (SR) - Disolver, calentando, 2,5 g de molibdato de amonio en 20 ml de agua, agregar 50 ml de ácido sulfúrico 12 N y diluir con agua a 100 ml. Almacenar esta solución en un envase de polietileno.

Ácido sulfúrico (SR) - Agregar una cantidad de ácido sulfúrico de concentración conocida a un volumen de agua suficiente para ajustar la concentración final entre 94,5 y 95,5 % (p/p) de H₂SO₄. [NOTA: debido a que la concentración de ácido puede cambiar con el tiempo o con el uso, la concentración debe controlarse con frecuencia y las soluciones cuya valoración indique más de 95,5 o menos de 94,5 % deben ser descartadas].

Ácido sulfúrico - formaldehído (SR) - Agregar 1 gota de formaldehído (SR) por cada ml de ácido sulfúrico y mezclar. Preparar esta solución antes de usar.

Ácido tánico (SR) - Disolver 1 g de ácido tánico en 1 ml de alcohol y diluir con agua a 10 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Ácido tartárico (SR) - Disolver 3 g de ácido tartárico en agua para obtener 10 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Ácido *p*-toluensulfónico (SR) - Disolver 2 g de ácido *p*-toluensulfónico en 10 ml de una mezcla de acetona y agua (7:3).

Albúmina (SR) - Separar cuidadosamente la clara de la yema de un huevo de gallina fresco. Agitar la clara con 100 ml de agua hasta obtener una mezcla homogénea y filtrar. Preparar la solución en el día de su uso.

Alcohol - fenol (SR) - Disolver 780 mg de fenol en alcohol para obtener 100 ml.

Alizarinsulfonato sódico (SR) - Disolver 100mg de alizarinsulfonato sódico en 100 ml de agua y filtrar.

Almidón (SR) - Mezclar 1 g de almidón soluble con 10 mg de yoduro mercuríco rojo y agua fría suficiente para obtener una pasta fina. Agregar 200 ml de agua a ebullición y calentar durante 1

minuto a ebullición con agitación continua. Enfriar y emplear sólo la solución transparente. [NOTA: pueden emplearse soluciones indicadoras de almidón estabilizadas, disponibles comercialmente].

Almidón - yoduro de potasio (SR) - Disolver 500 mg de yoduro de potasio en 100 ml de almidón (SR) recientemente preparado. Preparar esta solución antes de usar.

Amarillo de metilo (SR) - Diluir con alcohol una solución madre comercialmente disponible de amarillo de metilo en alcohol para obtener una solución con una concentración de 0,10 mg por ml.

Amarillo de metilo-azul de metileno (SR) - Disolver 1 g de amarillo de metilo y 100 mg de azul de metileno en 125 ml de metanol.

Aminoacetato de sodio (SR) - (*Glicinato de sodio (SR)*) - Disolver 3,75 g de ácido aminoacético en aproximadamente 500 ml de agua, agregar 2,1 g de hidróxido de sodio y diluir con agua a 1 litro. Mezclar 9 ml de la solución resultante con 1 ml de ácido acético glacial diluido (1 en 300). La solución de ensayo posee un pH entre 10,4 y 10,5.

Amoníaco (SR) - Contiene entre 9,5 y 10,5 % de NH₃. Preparar diluyendo 400 ml de *Agua de Amoníaco fuerte* con agua hasta obtener 1 litro.

Amoníaco alcohólico (SR) - Solución de amoníaco gaseoso en alcohol. Líquido transparente, incoloro con olor fuerte a amoníaco. Densidad relativa: aproximadamente 0,80. Contiene entre 9 y 11 % de NH₃. Almacenarlo en envases resistentes a los álcalis, en un sitio frío.

Amoníaco - cianuro (SR) - Disolver 2 g de cianuro de potasio en 15 ml de hidróxido de amonio y diluir con agua a 100 ml.

Amoníaco concentrado (SR) - Emplear *Agua de Amoníaco Fuerte*.

Antrona (SR) - 12 horas antes de usar, disolver rápidamente 35 mg de antrona en una mezcla caliente de 35 ml de agua y 65 ml de ácido sulfúrico. De inmediato enfriar en un baño de hielo a temperatura ambiente y filtrar a través de lana de vidrio. Dejar la solución en reposo a temperatura ambiente durante 30 minutos antes de usar.

Azul brillante G (SR) - Transferir 25 mg de azul brillante G a un matraz aforado de 100 ml, agregar 12,5 ml de alcohol y 25 ml de ácido fosfórico, completar a volumen con agua y mezclar.

Azul de bromocresol (SR) - Ver Verde de bromocresol (SR).

Azul de bromofenol (SR) - Disolver 100 mg de azul de bromofenol en 100 ml de alcohol diluido y filtrar si fuera necesario.

Azul de bromotimol (SR) - Disolver 100 mg de azul de bromotimol en 100 ml de alcohol diluido y filtrar si fuera necesario.

Azul de metileno (SR) - Disolver 125 mg de azul de metileno en 100 ml de alcohol y diluir con alcohol a 250 ml.

Azul de Oracet B (SR) - Corresponde a una solución 1 en 200 de azul de oracet B en ácido acético glacial.

Azul de tetrazolio (SR) - Disolver 500 mg de azul de tetrazolio en alcohol para obtener 100 ml.

Azul de timol (SR) - Disolver 100 mg de azul de timol en 100 ml de alcohol y filtrar si fuera necesario.

Betanaftol (SR) - Ver 2-Naftol (SR).

Bisulfito de sodio (SR) - Disolver 10 g de bisulfito de sodio en agua para obtener 30 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Bitartrato de sodio (SR) - Disolver 1 g de bitartrato de sodio en agua para obtener 10 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Bromo (SR) - (*Agua de bromo*) - Una solución saturada de bromo, preparada agitando 2 a 3 ml de bromo con 100 ml de agua fría en una botella con tapón de vidrio, el cual debe lubricarse con vaselina. Almacenar en envases inactivos, en un sitio frío.

Bromo - acetato de sodio (SR) - Disolver 100 g de acetato de sodio en 1 litro de ácido acético glacial, agregar 50 ml de bromo y mezclar.

p-Bromoanilina (SR) - Agregar 8 g de p-bromoanilina a una mezcla de 380 ml de ácido acético glacial saturado con tiourea, 10 ml de solución de cloruro de sodio (1 en 5), 5 ml de solución de ácido oxálico (1 en 20) y 5 ml de solución de fosfato dibásico de sodio (1 en 10) en una botella de vidrio inactivo. Mezclar y dejar reposar de la noche a la mañana antes de usar. Proteger de la luz y emplear dentro de los 7 días.

Bromuro de iodo (SR) - Disolver 20 g de bromuro de iodo en ácido acético glacial para obtener 1 litro. Almacenar en envases de vidrio inactivo.

Bromuro mercúrico alcohólico (SR) - Disolver 5 g de bromuro mercúrico en 100 ml de alcohol, calentando suavemente para facilitar la disolución. Almacenar en envases de vidrio inactivo.

Carbonato de amonio (SR) - Disolver 20 g de carbonato de amonio y 20 ml de amoníaco (SR) en agua para obtener 100 ml.

Carbonato de potasio (SR) - Disolver 7 g de carbonato de potasio anhidro en agua para obtener 100 ml.

Carbonato de sodio (SR) - Disolver 10,6 g de carbonato de sodio anhidro en agua para obtener 100 ml.

Citrato cúprico alcalino (SR) - Disolver, calentando, 173 g de citrato de sodio dihidratado y 117 g de carbonato de sodio monohidratado en aproximadamente 700 ml de agua y filtrar a través de papel, si fuera necesario, para obtener una solución transparente. En un envase separado, disolver 17,3 g de sulfato cúprico en aproximadamente 100 ml de agua y lentamente agregar esta solución, con agitación constante, a la primera solución. Enfriar la mezcla, agregar agua para obtener 1 litro y mezclar.

Clorhidrato de hidroxilamina (SR) - Disolver 3,5 g de clorhidrato de hidroxilamina en 95 ml de alcohol al 60 % y agregar 0,5 ml de solución azul de bromofenol (1 en 1000) e hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N hasta que se desarrolle un tinte verdoso en la solución. Luego agregar alcohol al 60 % hasta obtener 100 ml.

Clorhidrato de metafenilendiamina (SR) - Disolver 1 g de clorhidrato metafenilendiamina en 200 ml de agua. La solución debe ser incolora cuando se emplea. Si fuera necesario, decolorar calentando con carbón activado.

Clorhidrato de 3-metil-2-benzotiazolinona hidrazona (SR) - Disolver 100 mg de clorhidrato de 3-metil-2-benzotiazolinona hidrazona monohidrato en 10 ml de agua, diluir la solución resultante con metanol a 100 ml y mezclar.

Cloro (SR) - (*Agua de cloro*) - Una solución saturada de cloro en agua. Transferir la solución en envases pequeños, completamente llenos, resistentes a la luz. Esta solución, aun cuando está protegida de la luz y el aire, suele deteriorarse. Almacenar en un sitio frío, oscuro. Para obtener la concentración más alta, preparar esta solución en el día de su uso.

Cloroformo acidificado (SR) - A 100 ml de cloroformo, agregar 10 ml de ácido clorhídrico. Agitar, dejar reposar y separar las dos fases.

Cloruro cobaltoso (SR) - Disolver 2 g de cloruro cobaltoso en 1 ml de ácido clorhídrico y agua suficiente para obtener 100 ml.

Cloruro de amonio (SR) - Disolver 10,5 g de cloruro de amonio en agua para obtener 100 ml.

Cloruro de amonio-hidróxido de amonio (SR) - Mezclar volúmenes iguales de agua e hidróxido de amonio y saturar con cloruro de amonio.

Cloruro de bario (SR) - Disolver 12 g de cloruro de bario en agua para obtener 100 ml.

Cloruro de calcio (SR) - Disolver 7,5 g de cloruro de calcio en agua para obtener 100 ml.

Cloruro de yodo (SR) - Disolver 16,5 g de monoclóruo de yodo en 1 litro de ácido acético glacial.

Cloruro de metileno acidificado (SR) - A 100 ml de cloruro de metileno, agregar 10 ml de ácido clorhídrico. Agitar, dejar reposar la solución y separar las dos fases. Emplear la fase inferior.

Cloruro de oro (SR) - Disolver 1 g de cloruro de oro en 35 ml de agua.

Cloruro de paladio regulado (SR) - Pesar 500 mg de cloruro de paladio en un vaso de precipitados de 250 ml, agregar 5 ml de ácido clorhídrico concentrado y calentar la mezcla en un baño de vapor. Agregar 200 ml de agua caliente en porciones pequeñas con calentamiento continuo hasta que la disolución se complete. Transferir la solución a un matraz aforado de 250 ml y completar a volumen con agua. Transferir 50 ml a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 10 ml de acetato de sodio 1 M y 9,6 ml de ácido clorhídrico 1 N. Completar a volumen con agua.

Cloruro de sodio alcalino (SR) - Disolver 2 g de hidróxido de sodio en 100 ml de agua, saturar la solución con cloruro de sodio y filtrar.

Cloruro de trifeniltetrazolio (SR) - Disolver 500 mg de cloruro de trifeniltetrazolio en alcohol absoluto para obtener 100 ml.

Cloruro estañoso (SR) - Disolver 8 g de cloruro estañoso en 500 ml de ácido clorhídrico. Almacenar en envases de vidrio y emplear dentro de los 3 meses de preparado.

Cloruro estañoso concentrado (SR) - Disolver 40 g de cloruro estañoso en 100 ml de ácido clorhídrico. Almacenar en envases de vidrio y emplear dentro de los 3 meses de preparado.

Cloruro férrico (SR) - Disolver 9 g de cloruro férrico en agua para obtener 100 ml.

Cloruro férrico ácido (SR) - Mezclar 60 ml de ácido acético glacial con 5 ml de ácido sulfúrico, agregar 1 ml de cloruro férrico (SR), mezclar y enfriar.

Cloruro mercúrico (SR) - Disolver 6,5 g de cloruro mercúrico en agua para obtener 100 ml.

Cloruro platínico (SR) - Disolver 2,6 g de cloruro platínico en agua para obtener 20 ml.

Cobaltonitrito de sodio (SR) - Disolver 10 g de cobaltonitrito de sodio en agua para obtener 50 ml y filtrar si fuera necesario.

Colorante de Mallory - Disolver 500 mg de azul de anilina soluble en agua, 2 g de naranja G y 2 g de ácido oxálico en 100 ml de agua.

Cristal violeta (SR) - Disolver 100 mg de cristal violeta en 10 ml de ácido acético glacial.

Cromato de potasio (SR) - Disolver 10 g de cromato de potasio en agua para obtener 100 ml.

Diclorhidrato de N-(1-naftil)etilendiamina (SR) - Disolver 100 mg de diclorhidrato de N-(1-naftil)etilendiamina en 100 ml de una mezcla de acetona y agua (7:3).

Diclorofluoresceína (SR) - Disolver 100 mg de diclorofluoresceína en 60 ml de alcohol, agregar 2,5 ml de hidróxido de sodio 0,1 N, mezclar y diluir con agua a 100 ml.

Dicromato de potasio (SR) - Disolver 7,5 g de dicromato de potasio en agua para obtener 100 ml.

Dietilditiocarbamato de plata (SR) - Disolver 1 g de dietilditiocarbamato de plata en 200 ml de piridina recientemente destilada. Almacenar en envases resistentes a la luz y emplear dentro de los 30 días.

Difenilamina (SR) - Disolver 1,0 g de difenilamina en 100 ml de ácido sulfúrico. La solución debe ser incolora.

Difenilcarbazona (SR) - Disolver 1 g de difenilcarbazona en cristales en 75 ml de alcohol, luego agregar alcohol para obtener 100 ml. Almacenar en una botella oscura.

2,7-Dihidroxinaftaleno (SR) - Disolver 100 mg de 2,7-dihidroxinaftaleno en 1 litro de ácido sulfúrico y dejar reposar la solución hasta que el color amarillo desaparezca. Si la solución es muy oscura, descartarla y preparar una solución nueva con ácido sulfúrico de distinta procedencia. Esta solución es estable durante aproximadamente 1 mes si se almacena en una botella de material inactivo.

Diiodofluoresceína (SR) - Disolver 500 mg de diiodofluoresceína en una mezcla de 75 ml de alcohol y 30 ml de agua.

p-Dimetilaminobenzaldehído (SR) - Disolver 125 mg de p-dimetilaminobenzaldehído en una mezcla enfriada de 65 ml de ácido sulfúrico y 35 ml

de agua y agregar 0,05 ml de cloruro férrico (SR). Emplear dentro de los 7 días de preparada.

Dinitrofenilhidracina (SR) - Mezclar cuidadosamente 10 ml de agua y 10 ml de ácido sulfúrico y enfriar. A la mezcla, contenida en un erlenmeyer con tapón de vidrio, agregar 2 g de 2,4- dinitrofenilhidracina y agitar hasta disolución. Agregarle a la solución 35 ml de agua, mezclar, enfriar y filtrar.

Ditizona (SR) - Disolver 25,6 mg de ditizona en 100 ml de alcohol. Almacenar en un sitio frío y emplear dentro de los 2 meses de preparada.

Edetato disódico (SR) - Disolver 1 g de edetato disódico en 950 ml de agua, agregar 50 ml de alcohol y mezclar.

Enzima fosfática (SR) - Disolver 5 g de enzima fosfática en agua para obtener 50 ml. Preparar esta solución el día de uso.

Eosina (SR) - (Indicador de adsorción) - Disolver 50 mg de eosina en 10 ml de agua.

Eriocromo cianina (SR) - Disolver 750 mg de eriocromo cianina R en 200 ml de agua, agregar 25 g de cloruro de sodio, 25 g de nitrato de amonio y 2 ml de ácido nítrico y diluir con agua a 1 litro.

Fenilhidracina - ácido sulfúrico (SR) - Disolver 65 mg de clorhidrato de fenilhidracina en 100 ml de una mezcla enfriada de volúmenes iguales de ácido sulfúrico y agua.

Fenolftaleína (SR) - Disolver 1 g de fenolftaleína en 100 ml de alcohol.

Fenolftaleína (SR 1) - Disolver 100 mg de fenolftaleína en 80 ml de alcohol diluir a 100 ml con agua.

Ensayo de sensibilidad - A 0,1 ml de solución de fenolftaleína, agregar 100 ml de agua. La solución debe ser incolora. No se requieren más de 0,2 ml de hidróxido de sodio 0,02 N para cambiar el color del indicador a rosa.

Ferricianuro de potasio (SR) - Disolver 1 g de ferricianuro de potasio en 10 ml de agua. Preparar esta solución antes de usar.

Ferricianuro de potasio amoniacal (SR) - Disolver 2 g de ferricianuro de potasio en 75 ml de agua, agregar 25 ml de hidróxido de amonio y mezclar.

Ferrocianuro de potasio (SR) - Disolver 1 g de ferrocianuro de potasio en 10 ml de agua. Preparar esta solución antes de usar.

Floroglucinol (SR) - Disolver 500 mg de floroglucinol en 25 ml de alcohol. Almacenar en envases inactivos, de cierre perfecto.

Fluido gástrico simulado (SR) - Disolver 2,0 g de cloruro de sodio y 3,2 g de pepsina purificada, derivada de la mucosa estomacal porcina, con una actividad de 800 a 2.500 unidades por mg de proteína, en 7,0 ml de ácido clorhídrico y agua suficiente para obtener 1 litro. Esta solución tiene un pH de aproximadamente 1,2.

Fluido intestinal simulado (SR) - Disolver 6,8 g de fosfato monobásico de potasio en 250 ml de agua, mezclar y agregar 77 ml de hidróxido de sodio 0,2 N y 500 ml de agua. Agregar 10,0 g de pancreatina purificada, mezclar y ajustar la solución resultante con hidróxido de sodio 0,2 N o ácido clorhídrico 0,2N hasta pH $6,8 \pm 0,1$. Diluir con agua a 1 litro.

Fluoruro de sodio (SR) - Secar aproximadamente 500 mg de fluoruro de sodio a 200 °C durante 4 horas. Pesar exactamente 222 mg del material seco y disolver en agua para obtener 100,0 ml. Transferir 10 ml de esta solución en un matraz aforado de 1 litro y completar a volumen con agua. Cada ml de esta solución corresponde a 0,01 mg de flúor (F).

Folin - Ciocalteu para fenoles (SR) - En un erlenmeyer de 1500 ml, introducir 100 g de tungstato de sodio, 25 g de molibdato de sodio, 700 ml de agua, 50 ml de ácido fosfórico y 100 ml de ácido clorhídrico. Calentar a reflujo la mezcla suavemente durante aproximadamente 10 horas y agregar 150 g de sulfato de litio, 50 ml de agua y unas pocas gotas de bromo. Calentar a ebullición la mezcla, sin refrigerante, durante aproximadamente 15 minutos o hasta expulsar el exceso de bromo. Enfriar, diluir con agua a 1 litro y filtrar: el filtrado no tiene tinte verdoso. Antes de usar, diluir 1 parte del filtrado con 1 parte de agua.

Formaldehído (SR) - Emplear Solución de formaldehído (ver en *Especificaciones de reactivos*).

Fosfato dibásico de amonio (SR) - (*Fosfato de Amonio (SR)*) - Disolver 13 g de fosfato dibásico de amonio en agua para obtener 100 ml.

Fosfato dibásico de sodio (SR) - Disolver 12 g de cristales transparentes de fosfato dibásico de sodio en agua para obtener 100 ml.

Fosfotungstato de molibdeno (SR) - (*Reactivo de Folin-Denis*) - A aproximadamente 350 ml de agua dentro de un balón, agregar 50 g de tungstato sódico, 12 g de ácido fosfomolibdico y 25 ml de ácido fosfórico. Adosar un refrigerante al balón y calentar a ebullición la mezcla durante 2 horas, enfriar, diluir con agua a 500 ml y mezclar. Alma-

cenar en envases inactínicos, de cierre perfecto y en un sitio frío.

Fosfotungstato sódico (SR) - Agregar a una solución de 20 g de tungstato sódico en 100 ml de agua, ácido fosfórico suficiente para dar una reacción fuertemente ácida frente al tornasol y filtrar. Cuando se requiera esta solución, decantar la solución transparente de cualquier sedimento que pueda estar presente. Almacenar en envases inactínicos, de cierre perfecto.

Fucsina-ácido sulfuroso (SR) - Disolver 200 mg de fucsina básica en 120 ml de agua caliente y dejar enfriar la solución. Agregar una solución de 2 g de sulfito de sodio anhidro en 20 ml de agua; luego agregar 2 ml de ácido clorhídrico. Diluir la solución con agua a 200 ml y dejar reposar durante no menos de 1 hora. Preparar esta solución antes de usar.

Fucsina-pirogalol (SR) - Disolver 100 mg de fucsina básica en 50 ml de agua que previamente se ha calentado a ebullición durante 15 minutos y dejado enfriar levemente. Enfriar, agregar 2 ml de una solución saturada de bisulfito de sodio, mezclar y dejar reposar durante no menos de 3 horas. Agregar 0,9 ml de ácido clorhídrico, mezclar y dejar reposar de la noche a la mañana. Agregar 100 mg de pirogalol, agitar hasta disolución y diluir con agua a 100 ml. Almacenar en una botella de vidrio ámbar, en un refrigerador.

Gelatina (SR) - (para la valoración de *Corticotrofina solución inyectable*) - Disolver 340 g de precursor de gelatina tratada con ácido (Tipo A) en agua para obtener 1.000 ml. Calentar la solución en autoclave a 115 °C durante 30 minutos contados a partir de que la temperatura de la línea de salida ha alcanzado 115 °C. Enfriar la solución y agregar 10 g de fenol y 1.000 ml de agua. Almacenar en envases de cierre perfecto, en un refrigerador.

Glicerina básica (SR) - Agregar agua a 200 g de glicerina para obtener un peso total de 235 g. A continuación agregar 142,5 ml de hidróxido de sodio 1 N y 47,5 ml de agua.

Glucosa oxidasa - cromogénica (SR) - Una solución que contiene, en cada ml, 0,5 μmol de 4-aminoantipirina, 22,0 μmol de p-hidroxibenzoato de sodio, no menos de 7,0 unidades de glucosa oxidasa y no menos de 0,5 unidades de peroxidasa y regulada a pH $7,0 \pm 0,1$.

Aptitud - Cuando se emplea para determinar glucosa en Inulina, evaluar que no se produzca color significativo después de la reacción con fructosa y que se obtenga una pendiente apropiada de

absorbancia en función de la concentración de glucosa.

Hematoxilina de Delafield (SR) - Preparar 400 ml de una solución saturada de alumbre de amonio (*Solución A*). Disolver 4 g de hematoxilina en 25 ml de alcohol, mezclarlo con *Solución A* y dejar reposar durante 4 días en un erlenmeyer tapado con una torunda de algodón purificado y expuesto a la luz y al aire (*Solución B*). Luego filtrar la *Solución B* y agregarla a la *Solución C*, que consta de una mezcla de 100 ml de glicerina y 100 ml de metanol. Mezclar y dejar reposar la mezcla en un sitio caliente, expuesto a la luz, durante 6 semanas hasta que se colorea de oscuro. Almacenar en botellas perfectamente tapadas. Para teñir tejido endocrino, diluir esta solución de reactivo con un volumen igual de agua.

Hidrato de cloral (SR) - Disolver 50 g de hidrato de cloral en una mezcla de 15 ml de agua y 10 ml de glicerina.

Hidrosulfito de sodio alcalino (SR) - Disolver 25 g de hidróxido de potasio en 35 ml de agua y 50 g de hidrosulfito de sodio en 250 ml de agua. Cuando se requiere la solución de reactivo, mezclar 40 ml de la solución de hidróxido con los 250 ml de la solución de hidrosulfito. Preparar esta solución antes de usar.

Hidróxido de bario (SR) - Una solución saturada de hidróxido de bario en agua recientemente hervida. Preparar la solución el día de uso.

Hidróxido de calcio (SR) - Emplear *Solución tópica de hidróxido de calcio*.

Hidróxido de potasio (SR) - Disolver 6,5 g de hidróxido de potasio en agua para obtener 100 ml.

Hidróxido de potasio alcohólico (SR) - Emplear *Hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N* (ver en *Soluciones volumétricas*).

Hidróxido de sodio (SR) - Disolver 4,0 g de hidróxido de sodio en agua para obtener 100 ml.

Hidróxido de tetrametilamonio (SR) - Emplear una solución acuosa que contenga, cada 100 ml, el equivalente de 10 g de hidróxido de tetrametilamonio anhidro.

8-Hidroxiquinolina (SR) - Disolver 5 g de 8-hidroxiquinolina en alcohol para obtener 100 ml.

Hierro - fenol (SR) - (*Reactivo Hierro-Kober*) - Disolver 1,054 g de sulfato ferroso amónico en 20 ml de agua y agregar 1 ml de ácido sulfúrico y 1 ml de peróxido de hidrógeno al 30 %. Mezclar, calentar hasta que cese la efervescencia y diluir con agua a 50 ml. A 3 volúmenes de esta solución contenido

en un matraz aforado agregar ácido sulfúrico, enfriando, para obtener 100 volúmenes. Purificar el fenol mediante destilación, descartando el primer 10 % y el último 5 %, recolectar el destilado, excluyendo la humedad, en un erlenmeyer seco y previamente pesado, con tapón de vidrio, de aproximadamente dos veces el volumen de fenol. Solidificar el fenol en un baño de hielo, rompiendo la capa superficial con una varilla de vidrio para asegurar una cristalización completa. Pesar el erlenmeyer y su contenido, agregar al fenol 1,13 veces su peso de solución de hierro-ácido sulfúrico preparada según se indica, insertar el tapón en el erlenmeyer y dejar reposar, sin enfriamiento pero mezclando ocasionalmente, hasta que el fenol licue. Agitar la mezcla vigorosamente, dejar reposar en la oscuridad durante 16 a 24 horas, y nuevamente pesar el erlenmeyer y su contenido. A la mezcla agregar 23,5 % de su peso de una solución de 100 volúmenes de ácido sulfúrico en 110 volúmenes de agua, mezclar, transferir a una botella con tapón de vidrio seca y almacenar en la oscuridad, protegida de humedad atmosférica. Emplear dentro de los 6 meses de preparada. Agregar el reactivo desde una bureta de diámetro interno pequeño, protegida de la humedad, capaz de entregar 1 ml en 30 segundos o menos, sin lubricante en su robinete con excepción del reactivo. Limpiar la punta de la bureta antes de cada agregado.

Hipobromito de sodio (SR) - A una solución de 20 g de hidróxido de sodio en 75 ml de agua, agregar 5 ml de bromo. Luego que se disuelva, diluir con agua a 100 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Hipoclorito de sodio (SR) - Emplear Solución de hipoclorito de sodio (ver en *Especificaciones de reactivos*).

Índigo carmín (SR) - (*Indigotindisulfonato de sodio (SR)*) - Disolver una cantidad de indigotindisulfonato de sodio, equivalente a 180 mg de $C_{16}H_8N_2O_2(SO_3Na)_2$, en agua para obtener 100 ml. Emplear dentro de los 60 días de preparado.

Indofenol - acetato (SR) - (para la valoración de *Corticotrofina solución inyectable*) - A 60 ml de *Solución estándar de 2,6-diclorofenol-indofenol* (ver en *Soluciones volumétricas*) agregar agua hasta obtener 250 ml. Agregar a la solución resultante un volumen igual de solución de acetato de sodio preparado recientemente al disolver 13,66 g de acetato de sodio anhidro en agua hasta obtener 500 ml y ajustando con ácido acético 0,5 N a pH 7. Almacenar en un refrigerador y emplear dentro de las 2 semanas de preparada.

Iodo (SR) - Emplear *Iodo 0,1 N* (ver en *Soluciones volumétricas*).

Iodobismutato de potasio (SR) - Disolver 12,5 g de ácido tartárico en 25 ml de agua y luego disolver 1,06 g de subnitrito de bismuto en esta mezcla (*Solución A*). Disolver 20 g de ioduro de potasio en 25 ml de agua (*Solución B*). Disolver 100 g de ácido tartárico en 450 ml de agua (*Solución C*). Agregar las *Soluciones A* y *B* a la *Solución C* y mezclar.

Iodohidroxiquinoleinsulfonato sódico (SR) - Disolver 8,8 g de ácido iodohidroxiquinoleín sulfónico en 200 ml de agua y agregar 6,5 ml de hidróxido de sodio 4 N. Diluir con agua a 250 ml, mezclar y filtrar.

Iodo-ioduro de potasio (SR) - Disolver 500 mg de iodo y 1,5 g de ioduro de potasio en 25 ml de agua.

Iodomercuriato de potasio (SR) - (*Reactivo de Mayer*) - Disolver 1,358 g de cloruro mercúrico en 60 ml de agua. Disolver 5 g de ioduro de potasio en 10 ml de agua. Mezclar las dos soluciones y diluir con agua a 100 ml.

Iodomercuriato de potasio alcalino (SR) - (*Reactivo de Nessler*) - Disolver 10 g de ioduro de potasio en 10 ml de agua y agregar lentamente agitando, una solución saturada de cloruro mercúrico hasta que un leve precipitado rojo permanezca sin disolverse. A esta mezcla, agregar una solución de 30 g de hidróxido de potasio en 60 ml de agua previamente enfriada en baño de hielo luego agregar 1 ml adicional de la solución saturada de cloruro mercúrico. Diluir con agua a 200 ml. Dejar que el precipitado sedimente y extraer el líquido transparente. Una porción de 2 ml de este reactivo, cuando se agrega a 100 ml de una solución (1 en 300.000) de cloruro de amonio en agua libre de amoníaco, produce inmediatamente un color pardo amarillento.

Iodoplatinato (SR) - Disolver 300 mg de cloruro platínico en 97 ml de agua. De inmediato antes de usar, agregar 3,5 ml de ioduro de potasio (SR) y mezclar.

Iodoplatinato de potasio (SR) - Disolver 200 mg de cloruro platínico en 2 ml de agua, mezclar con 25 ml de solución de ioduro de potasio (1 en 25) y agregar agua para obtener 50 ml.

Ioduro cúprico alcalino (SR) - Disolver 7,5 g de sulfato cúprico ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) en aproximadamente 100 ml de agua. En un envase separado disolver 25g de carbonato de sodio anhidro, 20 g de bicarbonato de sodio y 25 g de tartrato de sodio y

potasio en aproximadamente 600 ml de agua. Con agitación constante, agregar la solución de sulfato cúprico al fondo de la solución de tartrato alcalino a través de un embudo que toca el fondo del envase. Agregar 1,5 g de ioduro de potasio, 200 g de sulfato de sodio anhidro, 50 a 150 ml de iodato de potasio 0,02 M y agua en cantidad suficiente para obtener 1 litro.

Ioduro de potasio (SR) - Disolver 16,5 g de ioduro de potasio en agua para obtener 100 ml. Almacenar en envases inactivos.

Ioduro mercúrico (SR) - (*Reactivo de Valsler*) - Agregar lentamente solución de ioduro de potasio (1 en 10) a ioduro mercúrico rojo hasta que este último se disuelva casi totalmente y filtrar el exceso. Una solución que contiene 10 g de ioduro de potasio en 100 ml disuelve aproximadamente a 14 g de HgI_2 a 20 °C.

Locke-Ringer (SR) - (*Solución de Locke-Ringer*).

Cloruro de sodio	9,0 g
Cloruro de potasio	0,42 g
Cloruro de calcio	0,24 g
Cloruro de magnesio	0,2 g
Bicarbonato de sodio	0,5 g
Dextrosa	0,5 g

Agua, recientemente destilada en un matraz de vidrio grueso, c.s.p. 1000 ml

Preparar en el día de uso. Los componentes (excepto la dextrosa y el bicarbonato de sodio) pueden prepararse como soluciones madre y diluirse según sea necesario.

Mezcla de magnesia (SR) - Disolver 5,5 g de cloruro de magnesio y 7 g de cloruro de amonio en 65 ml de agua, agregar 35 ml de amoníaco (SR), dejar la mezcla aparte durante unos pocos días en una botella de cierre perfecto y filtrar. Si la solución no es transparente, filtrar antes de usar.

Molibdato de amonio (SR) - Disolver 6,5 g de ácido molíbdico finamente pulverizado en una mezcla de 14 ml de agua y 14,5 ml de hidróxido de amonio. Enfriar la solución y agregarla lentamente, agitando, a una mezcla enfriada de 32 ml de ácido nítrico y 40 ml de agua. Dejar reposar durante 48 horas y filtrar a través de un crisol de vidrio sinterizado de porosidad fina. Esta solución se deteriora con el tiempo y no es apropiada para su empleo si luego del agregado de 2 ml de fosfato dibásico de sodio (SR) a 5 ml de la solución, no se forma un precipitado amarillo abundante inmediata-

tamente o luego de un calentamiento suave. Almacenarlo en la oscuridad. Si se forma un precipitado durante el almacenamiento, emplear solo la solución sobrenadante transparente.

Molibdovanádico (SR) - En un vaso de 150 ml, mezclar 4,0 g de molibdato de amonio finamente pulverizado y 100 mg de vanadato de amonio finamente pulverizado. Agregar 70 ml de agua y triturar las partículas con una varilla de vidrio. Luego de unos minutos, se obtiene una solución transparente. Agregar 20 ml de ácido nítrico y diluir a 100 ml con agua.

Monocloruro de iodo (SR) - Disolver 10 g de ioduro de potasio y 6,44 g de iodato de potasio en 75 ml de agua en un envase con tapón de vidrio. Agregar 75 ml de ácido clorhídrico y 5 ml de cloroformo y ajustar a un color de iodo débil (en el cloroformo) agregando ioduro de potasio diluido o solución de iodato de potasio. Si se libera demasiado iodo, emplear al principio una solución más fuerte de iodato de potasio que 0,01 M, haciendo el ajuste final con iodato de potasio 0,01 M. Almacenar en un sitio oscuro, y reajustar a un color de iodo débil según sea necesario.

1-Naftol (SR) - Disolver 1 g de 1-naftol en 25 ml de metanol. Preparar esta solución el día de uso.

2-Naftol (SR) - (*Betanaftol (SR)*) - Disolver 1 g de 2-naftol en 100 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 100).

p-Naftolbencéina (SR) - Disolver 250 mg de p-naftolbencéina en 100 ml de ácido acético glacial.

Naranja de metilo (SR) - Disolver 100 mg de naranja de metilo en 100 ml de agua y filtrar si fuera necesario.

Naranja de xilenol (SR) - Disolver 100 mg de naranja de xilenol en 100 ml de alcohol.

Negro de eriocromo (SR) - Disolver 200 mg de negro de eriocromo T y 2 g de clorhidrato de hidroxilamina en metanol para obtener 50 ml.

Ninhidrina (SR) - (*Tricetohidrinđeno monohidrato (SR)*) - Disolver 200 mg de ninhidrina en agua para obtener 10 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Nitrato cérico amónico (SR) - Disolver 6,25 g de nitrato cérico amónico en 10 ml de ácido nítrico 0,25 N. Emplear dentro de los 3 días de preparada.

Nitrato de bario (SR) - Disolver 6,5 g de nitrato de bario en agua para obtener 100 ml.

Nitrato de plata (SR) - Emplear Nitrato de plata 0,1 N (ver *Soluciones volumétricas*).

Nitrato de plata amoniacal (SR) - Disolver 1 g de nitrato de plata en 20 ml de agua. Agregar amoníaco (SR), gota a gota, agitando constantemente, hasta que el precipitado casi se disuelva pero no completamente. Filtrar y almacenar en envases de material inactínico, de cierre perfecto.

Nitrato de torio (SR) - Disolver 1 g de nitrato de torio en agua para obtener 100 ml. Filtrar, si fuera necesario.

Nitrato mercúrico (SR) - Disolver 40 g de óxido mercúrico (rojo o amarillo) en una mezcla de 32 ml de ácido nítrico y 15 ml de agua. Almacenar en envases de vidrio inactínico.

Nitrato mercurioso (SR) - Disolver 15 g de nitrato mercurioso en una mezcla de 90 ml de agua y 10 ml de ácido nítrico diluido. Almacenar en botellas de material inactínico en las cuales se ha colocado un glóbulo pequeño de mercurio.

p-Nitroanilina (SR) - A 350 mg de p-nitroanilina, agregar 1,5 ml de ácido clorhídrico y mezclar. Diluir con agua a 50 ml, mezclar y dejar sedimentar. Colocar 5 ml del líquido claro sobrenadante en un matraz aforado de 100 ml y sumergirlo en un baño de hielo. Mientras está en el baño de hielo, agregar 1 ml de ácido clorhídrico luego agregar, en pequeñas porciones, 2 ml de solución de nitrito de sodio (1 en 100), completar a volumen con agua y mezclar.

Nitrofenantrolina (SR) - Disolver 150 mg de 5-nitro-1,10-fenantrolina en 15 ml de solución de sulfato ferroso recientemente preparada (1 en 140).

Nitroferriicianuro sódico (SR) - Disolver 1 g de nitroferriicianuro sódico en agua para obtener 20 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Ortofenantrolina (SR) - Disolver 150 mg de ortofenantrolina en 10 ml de una solución de sulfato ferroso, preparada mediante disolución de 700 mg de cristales claros de sulfato ferroso en 100 ml de agua. La solución de sulfato ferroso debe estar preparada inmediatamente antes de disolver la ortofenantrolina. Almacenar en envases bien cerrados.

Oxalato de amonio (SR) - Disolver 3,5 g de oxalato de amonio en agua para obtener 100 ml.

Óxido cúprico amoniacal (SR) - (*Reactivo de Schweitzer*) - Disolver 10 g de sulfato cúprico en 100 ml de agua, agregar suficiente solución de hidróxido de sodio (1 en 5) hasta precipitar el hidróxido de cobre, recolectar este último en un filtro y lavarlo con agua fría exenta de sulfato. Disolver el precipitado, que debe mantenerse húmedo durante todo el procedimiento, en la canti-

dad mínima de amoníaco (SR) necesaria para disolución completa.

Pasta de ioduro-almidón (SR) - Calentar 100 ml de agua en un vaso de precipitados de 250 ml hasta ebullición, agregar una solución de 750 mg de ioduro de potasio en 5 ml de agua. Luego agregar 2 g de cloruro de cinc disuelto en 10 ml de agua y mientras continúa la ebullición agregar, con agitación, una suspensión homogénea de 5 g de almidón soluble en 30 ml de agua fría. Continuar calentando a ebullición durante 2 minutos luego enfriar. Almacenar en envases bien cerrados en un sitio frío.

La pasta de ioduro-almidón (SR) debe mostrar una línea azul definida cuando una varilla de vidrio, sumergida en una mezcla de 1 ml de nitrito de sodio 0,1 M, 500 ml de agua y 10 ml de ácido clorhídrico, se pasa sobre un extendido de la pasta.

Perclorato de metiltionina (SR) - A 500 ml de una solución de perclorato de potasio (1 en 1.000), agregar, gota a gota, agitando constantemente, solución de azul de metileno (1 en 100) hasta observar una leve turbidez permanente. Dejar que el precipitado sedimente, decantar el líquido sobrenadante a través de papel y emplear solo la solución transparente.

Permanganato de potasio (SR) - Emplear Permanganato de potasio 0,1 N (ver *Soluciones volumétricas*).

Peróxido de hidrógeno (SR) - Emplear *Agua oxigenada*.

Picrato alcalino (SR) - Mezclar 20 ml de solución de trinitrofenol (1 en 100) con 10 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 20), diluir con agua a 100 ml y mezclar. Emplear dentro de los 2 días de preparado.

Piridina-pirazolona (SR) - A 100 ml de una solución saturada de 1-fenil-3-metil-2-pirazolin-5-ona, agregar 20 ml de una solución (1 en 1000) de 3,3N-dimetil-1,1N-difenil-[4,4N-bi-2-pirazolina]-5,5N-diona en piridina. Almacenar en una botella de material inactínico y emplear dentro de los 3 días de preparada.

Piroantimoniato de potasio (SR) - Disolver 2 g de piroantimoniato de potasio en 95 ml de agua caliente. Enfriar rápidamente, agregar una solución que contenga 2,5 g de hidróxido de potasio en 50 ml de agua y 1 ml de solución de hidróxido de sodio (8,5 en 100). Dejar reposar durante 24 horas, filtrar y diluir con agua a 150 ml.

Pirogalol alcalino (SR) - Disolver 500 mg de pirogalol en 2 ml de agua. Disolver 12 g de

hidróxido de potasio en 8 ml de agua. Las soluciones deben prepararse en el momento y mezclar inmediatamente antes de usar.

Platino-cobalto (SR) - Disolver 1,246 g de cloroplatinato de potasio (K_2PtCl_6) y 1,000 g de cloruro de cobalto ($CoCl_2 \cdot 6H_2O$) en agua, agregar 100 ml de ácido clorhídrico y diluir con agua a 1 litro.

Polisulfuro de amonio (SR) - Líquido amarillo, preparado saturando el sulfuro de amonio (SR) con azufre.

Púrpura de bromocresol (SR) - Disolver 250 mg de púrpura de bromocresol en 20 ml de hidróxido de sodio 0,05 N y diluir con agua a 250 ml.

Púrpura de *m*-cresol (SR) - Disolver 100 mg de púrpura de metacresol en 13 ml de hidróxido de sodio 0,01 N, diluir con agua a 100 ml y mezclar.

Púrpura de metilo (SR) - Ver Rojo de metilo-azul de metileno (SR).

Quinona (SR) - Disolver 500 mg de *p*-benzoquinona en 2,5 ml de ácido acético glacial y diluir con alcohol a 50 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Reactivo de Biuret - Disolver 1,5 g de sulfato cúprico y 6,0 g de tartrato de sodio y potasio en 500 ml de agua en un matraz aforado de 1 litro. Agregar 300 ml de solución de hidróxido de sodio libre de carbonato (1 en 10), diluir con solución de hidróxido de sodio libre de carbonato (1 en 10) a 1 litro y mezclar.

Reactivo de Denigès - Ver Sulfato mercúrico (SR).

Reactivo de Mayer - Ver Iodomercuriato de potasio (SR).

Reactivo de Millon - Transferir 2 ml de mercurio a un erlenmeyer, agregar 20 ml de ácido nítrico. Agitar el erlenmeyer bajo una campana extractora para deshacer el mercurio en glóbulos pequeños. Luego de aproximadamente 10 minutos, agregar 35 ml de agua y, si aparece un precipitado o cristales, agregar ácido nítrico diluido suficiente (1 en 5, preparado a partir de ácido nítrico al que se le hayan retirado los óxidos haciendo pasar aire a través de él hasta que se torne incoloro) para disolver el sólido separado. Agregar solución de hidróxido de sodio (1 en 10) gota a gota, mezclando minuciosamente, hasta que el precipitado grueso que se forma luego del agregado de cada gota ya no se redissuelve pero se dispersa para formar una suspensión. Agregar 5 ml adicionales de ácido nítrico diluido y mezclar. Preparar esta solución al momento de usar.

Reactivo de Nessler - Ver Iodomercuriato de potasio alcalino (SR).

Reactivo de Schweitzer - Ver Óxido cúprico amoniacal (SR).

Reineckato de amonio (SR) - Agitar aproximadamente 500 mg de reineckato de amonio con 20 ml de agua con frecuencia durante 1 hora y filtrar. Emplear dentro de los 2 días de preparado.

Resorcinol (SR) - Disolver 1 g de resorcinol en ácido clorhídrico para obtener 100 ml.

Rojo congo (SR) - Disolver 500 mg de rojo congo en una mezcla de 10 ml de alcohol y 90 ml de agua.

Rojo cresol (SR) - Triturar 100 mg de rojo cresol en un mortero con 26,2 ml de hidróxido de sodio 0,01N hasta disolución completa luego diluir la solución con agua a 250 ml.

Rojo cresol - azul de timol (SR) - Agregar 15 ml de azul de timol (SR) a 5 ml de rojo cresol (SR) y mezclar.

Rojo de fenol (SR) - (*Fenolsulfoftaleína (SR)*) - Disolver 100 mg de fenolsulfoftaleína en 100 ml de alcohol y filtrar si fuera necesario.

Rojo de metilo (SR) - Disolver 100 mg de rojo de metilo en 100 ml de alcohol y filtrar si fuera necesario.

Rojo de metilo (SR 1) - Disolver 50 mg de rojo de metilo en una mezcla de 1,86 ml de hidróxido de sodio 0,1 M y de 50 ml de alcohol. Diluir a 100 ml con agua.

Ensayo de sensibilidad - A 0,1 ml de solución de rojo de metilo, agregar 100 ml de agua y 0,05 ml de ácido clorhídrico 0,02 M. La solución es roja. El viraje del indicador al amarillo no requiere más de 0,1ml de hidróxido de sodio 0,02 M.

Rojo de metilo-azul de metileno (SR) - (*Púrpura de metilo (SR)*) - Agregar 10 ml de rojo de metilo (SR) a 10 ml de azul de metileno (SR) y mezclar.

Rojo de metilo metanólico (SR) - Disolver 1 g de rojo de metilo en 100 ml de metanol y filtrar, si fuera necesario. Almacenar en envases inactivos y emplear dentro de los 21 días de preparado.

Rojo de quinaldina (SR) - Disolver 100 mg de rojo de quinaldina en 100 ml de alcohol.

Rojo de rutenio (SR) - Disolver 10 g de acetato de plomo en agua, diluir con agua a 100 ml y agregar 80 mg de rojo de rutenio. La solución es de color rojo-vino. [NOTA: si fuera necesario, agregar

rojo de rutenio adicional para obtener un color rojo-vino.]

Rojo neutro (SR) - Disolver 100 mg de rojo neutro en 100 ml de alcohol al 50 %.

Salicilato de hierro (SR) - Disolver 500 mg de sulfato férrico amónico en 250 ml de agua que contiene 10 ml de ácido sulfúrico diluido y agregar agua para obtener 500 ml. A 100 ml de la solución resultante agregar 50 ml de una solución de salicilato de sodio al 1,15%, 20 ml de ácido acético diluido y 80 ml de una solución de acetato de sodio al 13,6 %, luego agregar agua hasta obtener 500 ml. Almacenar en un envase inactivo de cierre perfecto. Emplear dentro de las dos semanas de preparada.

Solución de Fehling - Ver Tartrato cúprico alcalino (SR).

Solución de Locke - Ringer - Ver Locke - Ringer (SR).

Solución estándar de plomo - Ver <590>. *Límite de metales pesados.*

Solución fisiológica (SR) - Disolver 9,0 g de cloruro de sodio en agua para obtener 1 litro. [NOTA: cuando en este compendio se especifica *Solución fisiológica libre de piretógenos (SR)*, se empleará solución fisiológica (SR) que cumpla con los requisitos de <340>. *Ensayo de piretógenos.*]

Solución fisiológica libre de piretógenos (SR) - Ver Solución fisiológica (SR).

Solución de Lugol (SR) - Disolver 5 g de iodo y 10 g de yoduro de potasio en 100 ml de agua.

Solución reguladora de acetato (SR) - Disolver 320 g de acetato de amonio en 500 ml de agua, agregar 5 ml de ácido acético glacial, diluir con agua a 1 litro y mezclar. Esta solución tiene un pH entre 5,9 y 6,0.

Solución reguladora de ácido acético-acetato de amonio (SR) - Disolver 77,1 g de acetato de amonio en agua, agregar 57 ml de ácido acético glacial y diluir con agua a 1 litro.

Solución reguladora de amoníaco-cloruro de amonio (SR) - Disolver 67,5 g de cloruro de amonio en agua, agregar 570 ml de hidróxido de amonio y diluir con agua a 1 litro.

Subacetato de plomo (SR) - Triturar 14 g de monóxido de plomo con 10 ml de agua hasta obtener una pasta suave y transferir la mezcla a una botella, empleando 10 ml de agua adicionales para lavar. Disolver 22 g de acetato de plomo en 70 ml de agua y agregar la solución a la mezcla de óxido de plomo. Agitar vigorosamente durante 5 minutos

y luego agitar con frecuencia durante 7 días. Finalmente filtrar, y agregar suficiente agua recientemente hervida a través del filtro hasta obtener 100 ml.

Subacetato de plomo diluido (SR) - Diluir 3,25 ml de subacetato de plomo (SR) con agua, recientemente hervida y enfriada, para obtener 100 ml. Almacenar en envases pequeños, completamente llenos, de cierre perfecto.

Sudán III (SR) - Disolver 50 mg de sudán III en 25 ml de alcohol, calentando si fuera necesario. Enfriar, agregar 25 ml de glicerina, y mezclar. Filtrar si queda material sin disolver.

Sudán IV (SR) - Disolver 500 mg de sudán IV en cloroformo para obtener 100 ml.

Sulfanílico - 1-naftilamina (SR) - Disolver 500 mg de ácido sulfanílico en 150 ml de ácido acético. Disolver 100 mg de clorhidrato de 1-naftilamina en 150 ml de ácido acético y mezclar las dos soluciones. El color rosado, que se puede desarrollar al dejar reposar la solución, puede ser eliminado por tratamiento con cinc.

Sulfato cúprico (SR) - Disolver 12,5 g de sulfato cúprico en agua para obtener 100 ml.

Sulfato de amonio cúprico (SR) - A sulfato cúprico (SR) agregar amoníaco (SR), gota a gota, hasta que el precipitado formado al principio se disuelva casi totalmente pero no completamente. Dejar sedimentar y decantar la solución transparente. Preparar esta solución el día de uso.

Sulfato de calcio (SR) - Una solución saturada de sulfato de calcio en agua.

Sulfato de magnesio (SR) - Disolver 12 g de cristales de sulfato de magnesio, seleccionados por la ausencia de fluorescencia, en agua para obtener 100 ml.

Sulfato de potasio (SR) - Disolver 1 g de sulfato de potasio en agua para obtener 100 ml.

Sulfato férrico amónico (SR) - Disolver 8 g de sulfato férrico amónico en agua para obtener 100 ml.

Sulfato ferroso (SR) - Disolver 8 g de cristales transparentes de sulfato ferroso en aproximadamente 100 ml de agua recientemente hervida y completamente enfriada. Preparar esta solución antes de usar.

Sulfato ferroso ácido (SR) - Disolver 7 g de cristales de sulfato ferroso en 90 ml de agua recientemente hervida y completamente enfriada y agregar ácido sulfúrico para obtener 100 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Sulfato mercúrico (SR) - (*Reactivo de Denigès*) Mezclar 5 g de óxido mercúrico amarillo con 40 ml de agua, y agregar lentamente, con agitación, 20 ml de ácido sulfúrico agitando luego agregar otros 40 ml de agua y agitar hasta disolución completa.

Sulfuro de amonio (SR) - Saturar amoniaco (SR) con sulfuro de hidrógeno y agregar dos tercios de su volumen de amoniaco (SR). Residuo de ignición: no más de 0,05 %. La solución no se enturbia o por sulfato de magnesio (SR) o por cloruro de calcio (SR) (*carbonato*). Esta solución no es apropiada para usar si se forma un precipitado abundante de azufre. Almacenarlo en pequeñas botellas de vidrio inactivo, completamente llenas, en un sitio frío y oscuro.

Sulfuro de hidrógeno (SR) - Una solución saturada de sulfuro de hidrógeno, preparada haciendo pasar H₂S a través de agua fría. Almacenarlo en botellas pequeñas de material inactivo, completamente llenas. No es apropiado a menos que posea un olor fuerte a H₂S y que produzca inmediatamente un precipitado copioso de sulfuro cuando se agrega a un volumen igual de cloruro férrico (SR). Almacenar en un sitio frío y oscuro.

Sulfuro de sodio (SR) - Disolver 1 g de sulfuro de sodio en agua para obtener 10 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Sulfuro de sodio (SR1) - Disolver en caliente 12 g de sulfuro de sodio en 45 ml de una mezcla de glicerina al 85 % p/p y agua (29:10). Dejar enfriar y diluir a 100 ml con la misma mezcla de solventes. La solución debe ser incolora.

Tartrato cúprico alcalino (SR) - (*Solución de Fehling*) - *Solución de cobre (A)* - Disolver 34,66 g de cristales pequeños, cuidadosamente seleccionados de sulfato cúprico, que no presenten trazas de fluorescencia por humedad adherida, en agua para obtener 500 ml. Almacenar esta solución en envases pequeños, de cierre perfecto. *Solución de tartrato alcalino (B)* - Disolver 173 g de tartrato de sodio y potasio cristalizado y 50 g de hidróxido de sodio en agua para obtener 500 ml. Almacenar esta solución en envases pequeños resistentes a los álcalis. Para usar, mezclar volúmenes exactamente iguales de Soluciones A y B en el momento requerido.

Tartrato de sodio (SR) - Disolver 11,5 g de tartrato de sodio en agua para obtener 100 ml.

Tetrabromofenoltaleinato de etilo (SR) - Disolver 100 mg de tetrabromofenoltaleinato de etilo en 90 ml de ácido acético glacial y diluir con ácido

acético glacial a 100 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Tetrafenilborato de sodio (SR) - Disolver 1,2 g de tetrafenilborato de sodio en agua para obtener 200 ml. Si fuera necesario, agitar durante 5 minutos con 1 g de óxido de aluminio hidratado recientemente preparado y filtrar para clarificar.

Timoltaleína (SR) - Disolver 100 mg de timoltaleína en 100 ml de alcohol y filtrar, si fuera necesario.

Tioacetamida (SR) - Disolver 4 g de tioacetamida en 100 ml de agua.

Tioacetamida-glicerina básica (SR) - Mezclar 0,2 ml de tioacetamida (SR) y 1 ml de glicerina básica (SR) y calentar en un baño de agua a ebullición durante 20 segundos. Emplear la mezcla inmediatamente.

Tiocianato de amonio (SR) - Disolver 8 g de tiocianato de amonio en agua para obtener 100 ml.

Tiocianato mercúrico amónico (SR) - Disolver 30 g de tiocianato de amonio y 27 g de cloruro mercúrico en agua para obtener 1 litro.

Tioglicolato de sodio (SR) - Disolver 1,5 g de tioglicolato de sodio en 450 ml de agua y agregar 50 ml de alcohol. Emplear dentro de los 3 días de preparado.

Tiosulfato de sodio (SR) - Emplear Tiosulfato de sodio 0,1 N (ver *Soluciones volumétricas*).

Tornasol (SR) - Digerir 25 g de tornasol en polvo con tres porciones sucesivas de 100 ml de alcohol hirviendo, continuando cada extracción durante aproximadamente 1 hora. Filtrar, lavar con alcohol y descartar el filtrado alcohólico. Macerar el residuo con aproximadamente 25 ml de agua fría durante 4 horas, filtrar y descartar el filtrado. Finalmente digerir el residuo con 125 ml de agua hirviendo durante 1 hora, enfriar y filtrar.

Tricetohidrido monohidrato (SR) - Ver Ninhidrina (SR).

Tricloruro de antimonio (SR) - Disolver 20 g de tricloruro de antimonio en cloroformo hasta obtener 100 ml. Filtrar si fuera necesario.

Tricloruro de titanio (SR) - Disolver 15 g de tricloruro de titanio en 100 ml de solución de ácido clorhídrico al 10 %.

Tricloruro de titanio-ácido sulfúrico (SR) - Mezclar con cuidado 20 ml de tricloruro de titanio (SR) en 13 ml de ácido sulfúrico. Agregar peróxido de hidrógeno al 30 % en cantidad suficiente para producir una coloración amarilla. Calentar hasta

que se desprendan gases, dejar enfriar y diluir con agua. Repetir la evaporación y la adición de agua hasta que se obtenga una solución incolora. Diluir con agua a 100 ml.

Trinitrofenol (SR) - (*Ácido pícrico (SR)*) - Disolver el equivalente a 1 g de trinitrofenol anhidro en 100 ml de agua caliente. Enfriar la solución y filtrar, si fuera necesario.

Vanadato de amonio (SR) - Disolver 2,5 g de vanadato de amonio en 500 ml de agua hirviendo, enfriar y agregar 20 ml de ácido nítrico. Mezclar, enfriar y agregar agua para obtener 1 litro. Almacenar en envases de polietileno.

Verde de bromocresol (SR) - Disolver 50 mg de verde de bromocresol en 100 ml de alcohol y filtrar si fuera necesario.

Verde de malaquita (SR) - Disolver 1 g de verde de malaquita oxalato en 100 ml de ácido acético glacial.

Violeta de metilo (SR) - Ver Cristal violeta (SR).

SOLUCIONES VOLUMÉTRICAS (SV)

Soluciones normales - Las soluciones normales son soluciones que contienen el peso equivalente a 1 gramo de la sustancia activa en cada 1 litro de solución; esto es, una cantidad equivalente a 1,0079 gramos de hidrógeno o 7,9997 gramos de oxígeno.

Soluciones molares - Las soluciones molares son soluciones que contienen, en 1 litro, 1 molécula gramo de reactivo. Por ej., cada litro de una solución molar de ácido sulfúrico contiene 98,07 gramos de H_2SO_4 .

Soluciones empíricas - Con frecuencia es difícil preparar soluciones estándar de una normalidad teórica deseada. Una solución de aproximadamente la normalidad deseada, se prepara y estandariza por titulación contra una solución de estándar primario. El factor de normalidad obtenido se emplea en todos los cálculos cuando se empleen dichas soluciones empíricas. Si se desea, una solución preparada empíricamente puede diluirse hasta una normalidad determinada siempre que sea lo suficientemente concentrada para ser diluida.

Todas las soluciones volumétricas, obtenidas ya sea por disolución directa o por dilución de una solución más concentrada, deben mezclarse perfectamente por agitación antes de la normalización. Debido a que la concentración de una solución estándar puede cambiar con el tiempo, el factor debe determinarse nuevamente con frecuencia.

Cuando se emplean soluciones de un reactivo en diversas normalidades, los detalles de la preparación y estandarización se dan generalmente para la normalidad que se emplea más frecuentemente. Las soluciones más concentradas o más diluidas se preparan y estandarizan de la misma manera general según se describe, empleando cantidades proporcionales del reactivo. Es posible en muchos casos, preparar las soluciones de menor normalidad exactamente por dilución de una solución más concentrada. Las soluciones volumétricas preparadas por dilución se deben estandarizar nuevamente según se indica para la solución más concentrada o comparando con otra solución volumétrica que posea una relación conocida con la solución de mayor concentración.

Las soluciones diluidas que no son estables, como por ej., permanganato de potasio 0,01 N o tiosulfato de sodio diluido, son preferentemente preparadas al diluir exactamente la normalidad mayor con agua previamente hervida y enfriada.

Determinaciones con blancos - Cuando se indica que se debe hacer *las correcciones necesarias* por medio de una determinación con un blanco, la determinación se hará con las mismas cantidades de los mismos reactivos tratados de la misma manera de la solución o mezcla que contenga la porción de la sustancia en análisis, pero omitiendo dicha sustancia. En todas las valoraciones volumétricas de la Farmacopea deberán hacerse correcciones apropiadas debidas a la determinación del blanco (ver 780. *Volumetría*).

En todas las valoraciones de la Farmacopea de naturaleza volumétrica se indica el peso de la sustancia en análisis equivalente a cada ml de la solución volumétrica primaria. En general, estos equivalentes pueden obtenerse por cálculos sencillos a partir de los datos proporcionados en fórmulas y pesos moleculares.

PREPARACIÓN Y MÉTODOS DE ESTANDARIZACIÓN DE SOLUCIONES VOLUMÉTRICAS

A continuación se indica sólo un método para estandarizar pero pueden emplearse otros métodos de normalización, capaces de proporcionar al menos el mismo grado de exactitud. Los valores obtenidos en la estandarización de soluciones volumétricas son válidos para todos los usos farmacopeicos de estas soluciones, independientemente del instrumental o indicadores químicos empleados en las monografías correspondientes. Cuando la normalidad o molaridad aparente de una solución titulante depende de las condiciones especiales del uso, la monografía correspondiente establece las indicaciones para estandarizar el reactivo en el contexto

especificado. Para aquellas sales que pueden obtenerse como estándar primarios certificados o altamente purificadas, se acepta preparar las soluciones pesando exactamente una cantidad apropiada de sal y disolviendo para producir un volumen específico de solución de concentración conocida. Los ácidos acético, clorhídrico y sulfúrico pueden estandarizarse contra una solución de hidróxido de sodio recientemente estandarizada contra un estándar primario certificado.

Cuando es posible, todas las soluciones volumétricas son preparadas, estandarizadas y empleadas a la temperatura estándar de 25 EC. Si la titulación se lleva a cabo con una solución volumétrica a una temperatura marcadamente diferente, estandarizar la solución volumétrica empleada como solución titulante a esa temperatura diferente o hacer una corrección apropiada de temperatura.

Ácido acético 2 N

$C_2H_4O_2$ - (PM: 60,1)
120,10 g en 1 litro.

Agregar 116 ml de ácido acético glacial a un volumen suficiente de agua, enfriar a temperatura ambiente y diluir con agua a 1 litro.

Ácido clorhídrico 1 N

HCl - (PM: 36,5)
36,46 g en 1 litro.

Diluir 85 ml de ácido clorhídrico con agua a 1 litro. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente alrededor de 5,0 g de trometamina, previamente secada a 105 °C durante 3 horas. Disolver en 50 ml de agua y agregar 2 gotas de verde de bromocresol (SR). Titular con ácido clorhídrico 1 N hasta punto final amarillo pálido. Calcular la normalidad. Cada 121,14 mg de trometamina equivale a 1 ml de ácido clorhídrico 1 N.

Ácido clorhídrico 0,5 N en metanol

HCl - (PM: 36,5)
18,23 g en 1 litro.

Agregar lentamente a un matraz aforado de 1 litro que contenga 40 ml de agua,. Enfriar y completar a volumen con metanol. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente alrededor de 2,5 g de trometamina, previamente secada a 105 °C durante 3 horas. Proceder según se indica en Ácido Clorhídrico 1 N, comenzando donde dice: “Disolver en 50 ml de agua...”.

Ácido oxálico 0,1 N

$H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$ - (PM: 126,1)
6,303 g en 1 litro.

Disolver 6,45 g de ácido oxálico en agua hasta obtener 1 litro. Estandarizar mediante titulación contra permanganato de potasio 0,1 N (SV) recientemente estandarizado según se indica en Permanganato de potasio 0,1 N.

Almacenar en botellas de material inactivo con tapón de vidrio.

Ácido perclórico 0,1 N en ácido acético glacial

$HClO_4$ - (PM: 100,5)
10,05 g en 1 litro.

[NOTA: cuando en los ensayos y valoraciones se requiere esta solución volumétrica, se especifica como *ácido perclórico 0,1 N*. Por lo tanto, cuando se especifica 0,1 N u otra concentración de esta solución volumétrica, se empleará la solución en ácido acético glacial, a menos que se declaren las palabras *en dioxano* (Ver también Ácido perclórico 0,1 N en dioxano).]

Mezclar 8,5 ml de ácido perclórico con 500 ml de ácido acético glacial y 21 ml de anhídrido acético, enfriar y agregar ácido acético glacial hasta obtener 1 litro. Alternativamente, la solución puede prepararse del siguiente modo. Mezclar 11 ml de ácido perclórico al 60 % con 500 ml de ácido acético glacial y 30 ml de anhídrido acético, enfriar y agregar ácido acético glacial hasta obtener 1 litro.

Dejar reposar la solución preparada durante 1 día para que el anhídrido acético en exceso se combine y determinar el contenido de agua por *Titulación volumétrica directa* (ver 120. *Determinación de agua*). Si el contenido de agua excede 0,05 %, agregar más anhídrido acético. Si la solución no contiene agua titulable, agregar suficiente agua para obtener un contenido de entre 0,02 y 0,05 % de agua. Dejar reposar la solución durante 1 día y titular nuevamente el contenido de agua. La solución obtenida contiene entre 0,02 y 0,05 % de agua, indicando la ausencia de anhídrido acético.

Estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente alrededor de 700 mg de biftalato de potasio, previamente triturado y secado a 120 °C durante 2 horas y disolver en 50 ml de ácido acético glacial en un erlenmeyer de 250 ml. Agregar 2 gotas de cristal violeta (SR) y titular con solución de ácido perclórico hasta que el color cambie de violeta a verde-azulado. Descontar el volumen de ácido perclórico consumido por 50 ml del ácido acético glacial y calcular la normalidad. Cada 20,42 mg de biftalato de potasio equivale a 1 ml de ácido perclórico 0,1 N.

Ácido perclórico 0,1 N en dioxano

Mezclar 8,5 ml de ácido perclórico con suficiente dioxano, que ha sido especialmente purificado

mediante adsorción, para obtener 1 litro. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente alrededor de 700 mg de biftalato de potasio, previamente reducido a polvo y secado a 120 °C durante 2 horas y disolver en 50 ml de ácido acético glacial en un erlenmeyer de 250 ml. Agregar 2 gotas de cristal violeta (SR) y titular con solución de ácido perclórico hasta que el color cambie de violeta a verde azulado. Descontar el volumen de ácido perclórico consumido por 50 ml del ácido acético glacial y calcular la normalidad. Cada 20,42 g de biftalato de potasio equivale a 1 ml de ácido perclórico 0,1 N.

Ácido sulfúrico 1 N

H₂SO₄ - (PM: 98,1)
49,04 g en 1 litro.

Agregar lentamente, agitando, 30 ml de ácido sulfúrico a aproximadamente 1.020 ml de agua, dejar enfriar a 25 °C y determinar la normalidad titulando contra trometamina según se describe en Ácido clorhídrico 1 N.

Ácido sulfúrico 0,5 N en alcohol

H₂SO₄ - (PM: 98,1)
24,52 g en 1 litro.

Agregar lentamente, agitando, 13,9 ml de ácido sulfúrico a una cantidad suficiente de alcohol absoluto para obtener 1 litro. Enfriar y estandarizar contra trometamina según se describe en Ácido clorhídrico 0,5 N en metanol.

Arsenito de potasio 0,1 N

KAsO₂ - (PM: 146,0)
7,301 g en 1 litro.

Disolver 4,9455 g de trióxido de arsénico estándar primario, secado previamente a 105 °C durante 1 hora, en 75 ml de hidróxido de potasio 1 N. Agregar 40g de bicarbonato de potasio, disuelto en aproximadamente 200 ml de agua y diluir con agua a 1 litro.

Bromato de potasio 0,1 N

KBrO₃ - (PM: 167,0)
2,784 g en 1 litro.

Disolver 2,784 g de bromato de potasio en agua, diluir a 1 litro y estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 40 ml de la solución, exactamente medidos, a un erlenmeyer con tapón de vidrio, agregar 3 g de yoduro de potasio y continuar con 3 ml de ácido clorhídrico. Dejar reposar, durante 5 minutos luego titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregar 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Realizar

una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Calcular la normalidad.

Bromo 0,1 N

Br - (PM: 79,9)
7,990 g en 1 litro.

Disolver 3 g de bromato de potasio y 15 g de bromuro de potasio en agua para obtener 1 litro y estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 25 ml de la solución, exactamente medidos, a un matraz de iodo de 500 ml y diluir con 120 ml de agua. Agregar 5 ml de ácido clorhídrico, tapar el matraz y agitar suavemente. Luego agregar 5 ml de yoduro de potasio (SR), tapar nuevamente, agitar la mezcla, dejar reposar durante 5 minutos y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Calcular la normalidad.

Almacenar en botella de material inactivo oscuro con tapón de vidrio.

Bromuro-Bromato de potasio 0,1 N

Disolver 2,78 g de bromato de potasio (KBrO₃) y 12,0 g de bromuro de potasio (KBr) en agua y diluir con agua a 1 litro. Estandarizar según el procedimiento dado para Bromato de potasio 0,1 N.

Bromuro de tetrametilamonio 0,1 M

(CH₃)₄NBr - (PM: 154,1)
15,41 g en 1 litro.

Disolver 15,41 g de bromuro de tetrametilamonio en agua hasta obtener 1 litro y estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 40 ml de la solución, exactamente medidos, a un vaso de precipitados, agregar 10 ml de ácido nítrico diluido y 50,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV) y mezclar. Agregar 2 ml de sulfato férrico amónico (SR) y titular el exceso de nitrato de plata con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Calcular la molaridad.

Cloruro de tetrametilamonio 0,1 M

(CH₃)₄NCl - (PM: 109,6)
10,96 g en 1 litro.

Disolver 10,96 g de cloruro de tetrametilamonio en agua para obtener 1 litro y estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 40 ml de la solución, exactamente medidos, a un erlenmeyer, agregar 10 ml de ácido nítrico diluido y 50,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV) y mezclar. Agregar 5 ml de nitrobenzoceno y 2 ml de sulfato férrico amónico (SR), agitar y titular el exceso de nitrato de plata con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Calcular la molaridad.

Dicromato de potasio 0,1 N

$K_2Cr_2O_7$ - (PM: 294,2)

4,903 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 5 g de dicromato de potasio en 1 litro de agua. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir 25,0 ml de esta solución a un erlenmeyer de 500 ml con tapón de vidrio, agregar 2 g de ioduro de potasio (libre de iodato), diluir con 200 ml de agua, agregar 5 ml de ácido clorhídrico, dejar reposar durante 10 minutos en un sitio oscuro y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Calcular la normalidad.

Edetato disódico 0,05 M

$C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 2H_2O$ - (PM: 372,2)

18,61 g en 1 litro.

Disolver 18,6 g de edetato sódico en agua para obtener 1 litro y estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de carbonato de calcio estándar para quelatometría, previamente secado a 110°C durante 2 horas, y enfriar en un desecador. Transferir a un vaso de precipitados de 400 ml, agregar 10 ml de agua y agitar por rotación para formar una suspensión. Cubrir el vaso de precipitados con un vidrio de reloj y transferir 2 ml de ácido clorhídrico diluido con una pipeta insertada entre el borde del vaso de precipitados y el borde del vidrio de reloj. Agitar por rotación el contenido del vaso de precipitados para disolver el carbonato de calcio. Lavar las paredes del vaso de precipitados, la superficie exterior de la pipeta y el vidrio de reloj con agua y diluir con agua hasta aproximadamente 100 ml. Agregar mientras se agita la solución, preferentemente con un agitador magnético, aproximadamente 30 ml de la solución de edetato sódico desde una bureta de 50 ml. Agregar 15 ml de hidróxido de sodio (SR) y 300 mg de indicador de azul de hidroxinaftol y continuar la titulación con la solución de edetato sódico hasta punto final azul. Calcular la molaridad, por la fórmula siguiente:

$$P/(100,09V)$$

en la cual P es el peso, en mg, de $CaCO_3$ en la porción de carbonato de calcio tomada y V es el volumen, en ml, de la solución de edetato disódico consumida.

Ferricianuro de potasio 0,05 M

$K_3Fe(CN)_6$ - (PM: 329,3)

16,46 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 17 g de ferricianuro de potasio en agua para obtener 1 litro. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir 50,0 ml de esta solución a un erlenmeyer con tapón de vidrio, de 500 ml, diluir con 50 ml de agua, agregar 10 ml de ioduro de potasio (SR) y 10 ml de ácido clorhídrico diluido y dejar reposar durante 1 minuto. Luego agregar 15 ml de solución de sulfato de cinc (1 en 10) y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Calcular la molaridad.

Proteger de la luz y volver a estandarizar antes de emplear.

Hidróxido de potasio 1 N

KOH - (PM: 56,1)

56,11 g en 1 litro.

Disolver 68 g de hidróxido de potasio en aproximadamente 950 ml de agua. Agregar una solución saturada recientemente preparada de hidróxido de bario hasta que no se forme más precipitado. Agitar la mezcla a fondo y dejar reposar durante toda la noche en una botella tapada. Decantar el líquido transparente o filtrar la solución en una botella de poliolefina de cierre perfecto y estandarizar según el procedimiento dado para *Hidróxido de sodio 1 N*.

Hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N

28,06 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 34 g de hidróxido de potasio en 20 ml de agua y agregar alcohol libre de aldehído para obtener 1 litro. Dejar reposar la solución en una botella de cierre perfecto durante 24 horas. Luego decantar rápidamente el líquido sobrenadante transparente en un envase apropiado, cerrado perfectamente, y estandarizar la solución del siguiente modo.

Medir exactamente alrededor de 25 ml de ácido clorhídrico 0,5 N (SV). Diluir con 50 ml de agua, agregar 2 gotas de fenolftaleína (SR) y titular con solución de hidróxido de potasio alcohólico hasta que se produzca un color rosado pálido permanente. Calcular la normalidad.

[NOTA: almacenar en botellas de cierre perfecto, protegidas de la luz].

Hidróxido de potasio metanólico 0,1 N

5,612 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 6,8 g de hidróxido de potasio en 4 ml de agua y agregar metanol para obtener 1 litro. Dejar reposar la solución en una botella de cierre perfecto durante 24 horas. Luego

decantar rápidamente el líquido sobrenadante transparente en un envase apropiado, cerrado perfectamente, y estandarizar la solución del siguiente modo.

Medir exactamente alrededor de 25 ml de ácido clorhídrico 0,1 N (SV). Diluir con 50 ml de agua, agregar 2 gotas de fenolftaleína (SR) y titular con la solución de hidróxido de potasio metanólico hasta que se produzca un color rosado pálido permanente. Calcular la normalidad.

[NOTA: almacenar en botellas de cierre perfecto, protegidas de la luz].

Hidróxido de sodio 1 N

NaOH - (PM: 40,0)

40,00 g en 1 litro.

Disolver 162 g de hidróxido de sodio en 150 ml de agua, enfriar la solución a temperatura ambiente y filtrar a través de papel de filtro endurecido. Transferir 54,5 ml del filtrado transparente a un envase de poliolefina de cierre perfecto y diluir con agua hasta obtener 1 litro.

Pesar exactamente alrededor de 5 g de biftalato de potasio, previamente triturado y secado a 120 °C durante 2 horas, y disolver en 75 ml de agua. Agregar 2 gotas de fenolftaleína (SR) y titular con la solución de hidróxido de sodio hasta la producción de color rosado permanente. Cada 204,2 mg de biftalato de potasio equivale a 1 ml de hidróxido de sodio 1 N.

[NOTAS: (1) las soluciones de hidróxidos alcalinos absorben dióxido de carbono cuando se exponen al aire. Deben conservarse en botellas perfectamente cerradas con tapones apropiados conectados con un tubo lleno con una mezcla de hidróxido de sodio y cal (tubo de soda cáustica) para que el aire que penetre en el envase deba pasar a través de este tubo, que absorberá el dióxido de carbono. (2) Preparar soluciones de concentración inferior (por ej., 0,1 N, 0,01 N) mediante la dilución cuantitativa, de volúmenes exactamente medidos de la solución 1 N, con suficiente agua para obtener la concentración deseada].

[NOTA: volver a estandarizar la solución con frecuencia].

Hidróxido de tetrabutylamonio 0,1 N

(C₄H₉)₄NOH - (PM: 259,5)

25,95 g en 1 litro.

Disolver 40 g de ioduro de tetra-butylamonio en 90 ml de metanol anhidro en un erlenmeyer con tapón de vidrio. Colocar en un baño de hielo, agregar 20 g de óxido de plata reducido a polvo, tapar el erlenmeyer y agitar vigorosamente durante 60 minutos. Centrifugar unos pocos ml y someter el líquido sobrenadante a el ensayo de ioduro (ver

Ioduro en 410. Ensayos generales de identificación). Si el ensayo fuera positivo, agregar 2 g de óxido de plata adicionales y dejar reposar durante 30 minutos agitando intermitentemente. Cuando todo el ioduro haya reaccionado, filtrar a través de un embudo de vidrio sinterizado. Enjuagar el erlenmeyer y el embudo con tres porciones de 50 ml de tolueno anhidro, agregando los enjuagues al filtrado. Diluir con una mezcla de 3 volúmenes de tolueno anhidro y 1 volumen de metal anhidro hasta 1 litro y lavar la solución durante 10 minutos con nitrógeno libre de dióxido de carbono. [NOTA: si fuera necesario obtener una solución transparente, se pueden agregar cantidades aún más pequeñas de metanol anhidro]. Conservar en un recipiente protegido del dióxido de carbono y la humedad y descartar después de 60 días de preparado. Alternativamente, la solución puede prepararse al diluir un volumen apropiado de solución de hidróxido de tetrabutylamonio en metanol comercialmente disponible con una mezcla de 4 volúmenes de tolueno anhidro y 1 volumen de metanol anhidro. [NOTA: si fuera necesario obtener una solución transparente, se pueden agregar cantidades aún más pequeñas de metanol].

Estandarizar la solución el día de uso del siguiente modo. Disolver aproximadamente 400 mg de ácido benzoico estándar primario, exactamente pesados, en 80 ml de dimetilformamida, agregar 3 gotas de una solución 1 en 100 de azul de timol en dimetilformamida y titular hasta punto final azul con la solución de hidróxido de tetrabutylamonio, descargando la solución titulante desde una bureta equipada con una trampa de absorción de dióxido de carbono. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada ml de hidróxido tetrabutylamonio 0,1 N equivale a 12,21 mg de ácido benzoico.

Iodato de potasio 0,05 M

KIO₃ - (PM: 214,0)

10,70 g en 1 litro.

Disolver 10,700 g de iodato de potasio, previamente secado a 110 °C hasta peso constante, en agua para obtener 1 litro.

Iodo 0,1 N

I - (PM: 126,9)

12,69 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 14 g de iodo en una solución de 36 g de ioduro de potasio en 100 ml de agua, agregar 3 gotas de ácido clorhídrico, diluir con agua a 1 litro y estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir 25,0 ml de la solución de iodo a un matraz aforado de 250 ml, diluir hasta 100 ml y

titular con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV) hasta que la solución adquiera un color amarillo pálido. Añadir 2 ml de almidón (SR) y continuar titulado hasta que la solución sea incolora. Calcular la normalidad.

Conservar en botellas de material inactivo con tapón de vidrio.

Metóxido de litio 0,1 N en benceno

CH_3OLi - (PM: 38,0)
3,798 g en 1 litro.

Disolver 0,6 g de litio metálico recientemente cortado en 150 ml de metanol, enfriando el erlenmeyer durante el agregado del metal. Cuando se completa la reacción, agregar 850 ml de benceno. Si aparece opalescencia o precipitación, agregar metanol suficiente para volver la solución transparente. Almacenar preferentemente en el reservorio de una bureta automática apropiadamente protegida del dióxido de carbono y la humedad. Estandarizar la solución por titulación contra ácido benzoico según se indica en Metóxido de sodio 0,1 N en tolueno.

[NOTA: volver a estandarizar la solución con frecuencia].

Metóxido de litio 0,1 N en clorobenceno

CH_3OLi - (PM: 38,0)
3,798 g en 1 litro.

Disolver 0,7 g de litio metálico recientemente cortado en 150 ml de metanol, enfriando el erlenmeyer durante el agregado del metal. Cuando se completa la reacción, agregar 850 ml de clorobenceno. Si aparece opalescencia o precipitación, agregar metanol suficiente para aclarar la solución. Almacenar preferentemente en el reservorio de una bureta automática apropiadamente protegida del dióxido de carbono y la humedad. Estandarizar la solución por titulación contra ácido benzoico según se indica en Metóxido de sodio 0,1 N en tolueno.

[NOTA: volver a estandarizar la solución con frecuencia].

Metóxido de litio 0,02 N en metanol

CH_3LiO - (PM: 38,0)
759,6 mg en 1 litro.

Disolver 0,12 g de litio metálico recientemente cortado en 150 ml de metanol, enfriando el erlenmeyer durante el agregado del metal. Cuando se completa la reacción, agregar 850 ml de metanol y mezclar. Almacenar la solución preferentemente en el reservorio de una bureta automática apropiadamente protegida del dióxido de carbono y la humedad. Estandarizar la solución por titulación contra ácido benzoico según se indica en Metóxido de sodio 0,1 N en tolueno, pero emplear sólo 100 mg

de ácido benzoico. Cada 2,442 mg de ácido benzoico equivale a 1 ml de metóxido de litio 0,02 N.

[NOTA: volver a estandarizar la solución con frecuencia].

Metóxido de sodio 0,1 N en tolueno

CH_3ONa - (PM: 54,0)
5,402 g en 1 litro.

Enfriar en un baño de agua helada 150 ml de metanol contenidos en un matraz aforado de 1 litro y agregar, en porciones pequeñas, aproximadamente 2,5 g de sodio metálico recientemente cortado. Cuando el metal se ha disuelto, completar a volumen con tolueno y mezclar. Almacenar preferentemente en el recipiente de una bureta automática apropiadamente protegida del dióxido de carbono y la humedad. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente alrededor de 400 mg de ácido benzoico estándar primario y disolver en 80 ml de dimetilformamida en un erlenmeyer. Agregar 3 gotas de una solución 1 en 100 de azul de timol en dimetilformamida y titular con metóxido de sodio hasta punto final azul. Corregir por el volumen de solución de metóxido de sodio consumido por 80 ml de la dimetilformamida y calcular la normalidad. Cada 12,21 mg de ácido benzoico equivale a 1 ml de metóxido de sodio 0,1 N.

[NOTAS: (1) para eliminar la turbidez que puede formarse después de la dilución con tolueno, agregar metanol (25 a 30 ml son generalmente suficientes) hasta que la solución se vuelva transparente. (2) Volver a estandarizar la solución con frecuencia].

Metóxido de sodio 0,5 N en metanol

CH_3ONa - (PM: 54,0)
27,01 g en 1 litro.

Pesar 11,5 g de sodio metálico recientemente cortado en cubos pequeños. Transferir aproximadamente 0,5 ml de metanol anhidro en un balón de 250 ml equipado con una junta de vidrio esmerilado, agregar 1 cubo de sodio metálico y cuando la reacción haya cesado, agregar al balón el resto del sodio metálico. Conectar al balón un refrigerante y agregar lentamente 250 ml de metanol anhidro, en porciones pequeñas, a través de la parte superior del refrigerante. Regular el agregado del metanol de manera que los vapores se condensen y no se escapen por la parte superior del refrigerante. Luego que se ha completado el agregado del metanol, conectar un tubo de secado a la parte superior del refrigerante y dejar enfriar la solución. Transferir la solución a un matraz aforado de 1 litro, completar a volumen con metanol anhidro y mezclar. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 20 ml de ácido clorhídrico 1 N (SV), recientemente estandarizado y exactamente medidos, a un erlenmeyer de 250 ml, agregar 0,25 ml de fenoltaleína (SR) y titular con la solución de metóxido de sodio hasta la primera aparición de un color rosado permanente. Calcular la normalidad.

Morfolina 0,5 N en metanol

C_4H_9NO - (PM: 87,1)
43,56 g en 1 litro.

Transferir 44 ml de morfolina recientemente destilada a una botella para reactivos de 1 litro y agregar metanol hasta completar aproximadamente 1 litro. Proteger de la absorción de dióxido de carbono durante la remoción de alícuotas. No es necesario estandarizar esta solución.

Nitrato cérico amónico 0,05 N

$Ce(NO_3)_4 \cdot 2NH_4NO_3$ - (PM: 548,2)
2,741 g en 100 ml

Disolver 2,75 g de nitrato cérico amónico en ácido nítrico 1 N para obtener 100 ml de solución y filtrar. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir exactamente 10 ml de sulfato ferroso amónico 0,1 N (SV) recientemente estandarizado a un erlenmeyer y diluir con agua hasta aproximadamente 100 ml. Agregar 1 gota de nitrofenantrolina (SR) y titular con la solución de nitrato cérico amónico hasta punto final incoloro. Calcular la normalidad a partir del volumen tomado de sulfato ferroso amónico 0,1N (SV) y el volumen de solución de nitrato cérico amónico consumido.

Nitrato cúprico 0,1 N

$Cu(NO_3)_2 \cdot 2,5H_2O$ - (PM: 232,6)
23,26 g en 1 litro.

$Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$ - (PM: 241,6)
24,16 g en 1 litro.

Disolver 23,3 g de nitrato cúprico 2,5 hidratado, ó 24,2 g del trihidratado, en agua para obtener 1 litro. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir 20,0 ml de la solución a un vaso de precipitados de 250 ml. Agregar 2 ml de nitrato de sodio 5 M, 20 ml de acetato de amonio (SR) y suficiente agua para obtener 100 ml. Titular con edetato disódico 0,05 M (SV). Determinar el punto final potenciométricamente empleando un electrodo de referencia de doble junta para ion cúprico. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Calcular la normalidad por la fórmula siguiente:

$$VM/20,0$$

en la cual V es el volumen, en ml, de edetato disódico consumido, M es la molaridad del edetato di-

sódico y 20,0 es el número de ml tomados de la solución de nitrato cúprico.

Nitrato de plata 0,1 N

$AgNO_3$ - (PM: 169,9)
16,99 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 17,5 g de nitrato de plata en 1 litro de agua y estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 100 mg, exactamente pesados, de cloruro de sodio grado reactivo, previamente secado a 110 °C durante 2 horas, a un vaso de precipitados de 150 ml, disolver en 5 ml de agua y agregar 5 ml de ácido acético, 50 ml de metanol y 0,5ml gotas de eosina (SR). Agitar, preferentemente con un agitador magnético y titular con solución de nitrato de plata. Calcular la normalidad.

Nitrato mercúrico 0,1 M

$Hg(NO_3)_2$ - (PM: 324,6)
32,46 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 35 g de nitrato mercúrico en una mezcla de 5 ml de ácido nítrico y 500ml de agua y diluir con agua a 1 litro. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 20 ml de la solución, exactamente medidos, a un erlenmeyer y agregar 2 ml de ácido nítrico y 2 ml de sulfato férrico amónico (SR). Enfriar por debajo de 20 °C y titular con tiocianato de amonio 0,1 N (SV) hasta la primera aparición de un color pardusco permanente. Calcular la molaridad.

Nitrito de sodio 0,1 M

$NaNO_2$ - (PM: 69,0)
6,900 g en 1 litro.

Disolver 7,5 g de nitrito de sodio en agua para obtener 1 litro y estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Sulfanilamida SR-FA, secar previamente a 105 °C durante 3 horas y transferir a un vaso de precipitados apropiado. Agregar 20 ml de ácido clorhídrico y 50 ml de agua, agitar hasta disolución y enfriar a 15 °C. Mantener la temperatura aproximadamente a 15 °C, titular lentamente con solución de nitrito de sodio, colocando la punta de la bureta debajo de la superficie de la solución para evitar la oxidación del nitrito de sodio por el aire y agitar la solución suavemente con un agitador magnético, pero evitar la formación de un vórtice de aire debajo de la superficie. Emplear el indicador especificado en la monografía individual o, si se especifica un procedimiento potenciométrico, determinar el punto final electrométricamente, empleando electrodos de

platino-calomel o platino-platino. Cuando la titulación está cerca de 1 ml del punto final, agregar la solución titulante en porciones de 0,1 ml y esperar 1 minuto entre cada agregado. Calcular la molaridad. Cada 17,22 mg de sulfanilamida equivale a 1 ml de nitrito de sodio 0,1000 M.

Permanganato de potasio 0,1 N

KMnO_4 - (PM: 158,0)
3,161 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 3,3 g de permanganato de potasio en 1 litro de agua en un erlenmeyer y calentar a ebullición la solución durante aproximadamente 15 minutos. Insertar el tapón en el erlenmeyer, dejar reposar durante al menos 2 días y filtrar a través de un crisol de vidrio sinterizado de porosidad fina. Si fuera necesario, el fondo del crisol de vidrio sinterizado puede revestirse con una torunda de lana de vidrio. Estandarizar la solución del siguiente modo:

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de oxalato de sodio, previamente secado a 110 °C hasta peso constante, y disolver en 250 ml de agua. Agregar 7 ml de ácido sulfúrico, calentar a aproximadamente 70 °C y luego agregar lentamente la solución de permanganato desde una bureta, con agitación constante, hasta que se produzca un color rosado pálido, que persista durante 15 segundos. La temperatura, al finalizar la titulación no debe ser menor de 60 °C. Calcular la normalidad. Cada 6,700 mg de oxalato de sodio equivale a 1 ml de permanganato de potasio 0,1N.

Dado que el permanganato de potasio se reduce en contacto con sustancias orgánicas, como por ej., goma, la solución debe manipularse en aparatos enteramente contruidos de vidrio u otro material apropiadamente inerte. Debe volver a estandarizarse con frecuencia. Almacenar en botellas de vidrio color ámbar con tapón.

Solución estándar de diclorofenol-indofenol

A 50 mg de 2,6-diclorofenol-indofenol sódico que haya sido almacenado en un desecador sobre cal sodada, agregar 50 ml de agua que contengan 42 mg de bicarbonato de sodio, agitar vigorosamente y cuando se disuelve el colorante, agregar agua hasta obtener 200 ml. Filtrar en una botella ámbar con tapón de vidrio. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir 50 mg de Ácido ascórbico SR-FA, exactamente pesados, a un matraz aforado de 50 ml con tapón de vidrio con la ayuda de un volumen suficiente de ácido metafosfórico - ácido acético (SR) para obtener 50 ml. Transferir inmediatamente 2 ml de la solución de ácido ascórbico a un erlenmeyer de 50 ml que contenga 5 ml de ácido

metafosfórico - ácido acético (SR) y titular rápidamente con solución de diclorofenol-indofenol hasta que un color rosado característico persista durante al menos 5 segundos. Realizar una determinación con un blanco titulado 7 ml de ácido metafosfórico - ácido acético (SR) más un volumen de agua igual al volumen de la solución de diclorofenol empleada para titular la solución de ácido ascórbico. Expresar la concentración de esta solución estándar en función de su equivalente en mg de ácido ascórbico.

Sulfato cérico 0,1 N

$\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ - (PM: 332,2)
33,22 g en 1 litro.

Transferir 59 g de nitrato cérico amónico a un matraz aforado de 1 litro, agregar una solución de ácido sulfúrico preparada disolviendo 30 ml de ácido sulfúrico en 500 ml de agua y mezclar. Completar a volumen con agua. Dejar reposar durante toda la noche y filtrar a través de un crisol de porosidad fina de vidrio sinterizado, si es necesario. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente 200 mg de trióxido de arsénico, previamente secado a 105 °C durante 1 hora, y transferir a un erlenmeyer de 500 ml. Lavar las paredes internas del erlenmeyer con 25 ml de solución de hidróxido de sodio (2 en 25), agitar por rotación hasta disolver la sustancia y cuando la disolución se completa, agregar 100 ml de agua y mezclar. Agregar 10 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 3), luego agregar 2 gotas de ortofenantrolina (SR) y un pequeño cristal de iodo como catalizador. Agitar y titular lentamente con solución de sulfato cérico hasta que el color rosado cambie a azul pálido. Calcular la normalidad. Cada 4,946 mg de trióxido de arsénico equivale a 1 ml de sulfato cérico 0,1 N.

Sulfato de cinc 0,05 M

$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 287,5)
14,4 g en 1 litro.

Disolver 14,4 g de sulfato de cinc en agua para obtener 1 litro. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 10 ml de edetato disódico 0,05 M (SV), exactamente medidos, a un erlenmeyer de 125 ml y agregar, en el orden dado, 10 ml de solución reguladora de ácido acético - acetato de amonio (SR), 50 ml de alcohol y 2 ml de ditizona (SR). Titular con solución de sulfato de cinc hasta obtener una solución transparente de color rosado. Calcular la molaridad.

Sulfato férrico amónico 0,1 N

$\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 482,2)
48,22 g en 1 litro.

Disolver 50 g de sulfato férrico amónico en una mezcla de 300 ml de agua y 6 ml de ácido sulfúrico, diluir con agua a 1 litro y mezclar. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 40 ml de la solución, exactamente medidos, a un erlenmeyer con tapón de vidrio, agregar 5 ml de ácido clorhídrico, mezclar y agregar una solución de 3 g de ioduro de potasio en 10 ml de agua. Tapar, dejar reposar durante 10 minutos y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Calcular la normalidad.

Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto.

Sulfato ferroso amónico 0,1 N

$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 392,1)
39,21 g en 1 litro.

Disolver 40 g de sulfato ferroso amónico en una mezcla previamente enfriada de 40 ml de ácido sulfúrico y 200 ml de agua, diluir con agua a 1 litro y mezclar. Un momento antes de usar, estandarizar la solución del siguiente modo:

Transferir entre 25 y 30 ml de la solución, exactamente medidos, a un erlenmeyer, agregar 2 gotas de ortofenantrolina (SR) y titular con sulfato cérico 0,1 N (SV) hasta que el color cambie de rojo a azul pálido. Calcular la normalidad a partir del volumen de sulfato cérico 0,1 N consumido.

Tetrafenilborato de sodio 0,02 M

$\text{NaB}(\text{C}_6\text{H}_5)_4$ - (PM: 342,2)
6,845 g en 1 litro.

Disolver una cantidad de tetrafenilborato de sodio, equivalente a 6,845 g de $\text{NaB}(\text{C}_6\text{H}_5)_4$, en agua para obtener 1 litro y estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir dos porciones de 75 ml de la solución a sendos vasos de precipitados y agregar a cada uno 1 ml de ácido acético y 25 ml de agua. Agregar lentamente a cada vaso de precipitados y con agitación constante, 25 ml de solución de biftalato de potasio (1 en 20) y dejar reposar durante 2 horas. Filtrar una de las mezclas a través de un crisol filtrante y lavar el precipitado con agua fría. Transferir el precipitado a un envase, agregar 50 ml de agua, agitar intermitentemente durante 30 minutos, filtrar y emplear el filtrado como solución saturada de tetrafenilborato de potasio en el siguiente procedimiento de estandarización. Filtrar la segunda mezcla a través de un crisol filtrante tarado y lavar el precipitado con tres porciones de 5 ml de solución saturada de tetrafenilborato de potasio. Secar el precipitado a 105 °C durante 1 hora. Cada g de

tetrafenilborato de potasio equivale a 955,1 mg de tetrafenilborato de sodio. A partir del peso de tetrafenilborato de sodio obtenido, calcular la molaridad de la solución de tetrafenilborato de sodio.

[NOTA: preparar esta solución el día de uso.]

Tiocianato de amonio 0,1 N

NH_4SCN - (PM: 76,1)
7,612 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 8 g de tiocianato de amonio en 1 litro de agua y estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 30 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV), exactamente medidos, a un erlenmeyer con tapón de vidrio. Diluir con 50 ml de agua, luego agregar 2 ml de ácido nítrico y 2 ml de sulfato férrico amónico (SR) y titular con solución de tiocianato de amonio hasta la aparición de un color rojo pardo incipiente. Calcular la normalidad.

Si se desea, puede reemplazarse el tiocianato de amonio 0,1 N por tiocianato de potasio 0,1 N cuando el primero se indica en un ensayo o valoración.

Tiosulfato de sodio 0,1 N

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 248,2)
24,82 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 26 g de tiosulfato de sodio y 200 mg de carbonato de sodio en 1 litro de agua recientemente sometida a ebullición y enfriada. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente alrededor de 210 mg de dicromato de potasio estándar primario, previamente reducido a polvo y secado a 120 °C durante 4 horas, y disolver en 100 ml de agua en un erlenmeyer de 500 ml con tapón de vidrio. Agitar por rotación hasta disolver el sólido, retirar el tapón y agregar rápidamente 3 g de ioduro de potasio, 2 g de bicarbonato de sodio y 5 ml de ácido clorhídrico. Tapar suavemente en el erlenmeyer, agitar por rotación para mezclar y dejar reposar en la oscuridad durante 10 minutos. Enjuagar el tapón y las paredes internas del erlenmeyer con agua y titular el iodo liberado con solución de tiosulfato de sodio hasta que la solución tome color verde amarillento. Agregar 3 ml de almidón (SR) y continuar la titulación hasta que desaparezca el color azul. Calcular la normalidad.

Estandarizar la solución frecuentemente semanalmente.

Tricloruro de titanio 0,1 N

TiCl_3 - (PM: 154,2)
15,42 g en 1 litro.

Agregar 75 ml de solución de tricloruro de titanio (1 en 5) a 75 ml de ácido clorhídrico, diluir hasta 1 litro y mezclar. Estandarizar la solución del

siguiente modo, empleando el aparato especial de titulación descrito.

Aparato - Almacenar la solución de tricloruro de titanio en el recipiente de un aparato de titulación de sistema cerrado en una atmósfera de hidrógeno.

Emplear un erlenmeyer de 500 ml de boca ancha como recipiente de titulación y conectar a la bureta de titulación un tubo de entrada para dióxido de carbono y un tubo de salida a través de un tapón de goma. Adaptar un agitador mecánico. Todas las juntas deben ser herméticas. Preparar el aparato de manera que, tanto el hidrógeno como el dióxido de carbono pasen a través de botellas de lavado que contengan solución de tricloruro de titanio (aproximadamente 1 en 50) para eliminar el oxígeno.

Si la solución a titular se calienta antes o durante la titulación, conectar el matraz de titulación con un refrigerante en posición vertical a través del tapón de goma.

Estandarización - Transferir aproximadamente 40 ml de sulfato férrico amónico 0,1 N (SV), exactamente medidos, a un matraz de titulación y pasar una corriente rápida de dióxido de carbono hasta eliminar todo el aire. Agregar la solución de tricloruro de titanio desde la bureta hasta cerca del punto final calculado (aproximadamente 35 ml), luego agregar a través del tubo de salida, 5 ml de tiocianato de amonio (SR) y continuar la titulación hasta que la solución sea incolora. Calcular la normalidad.

TABLAS

Alcohol

Disminución de grados por diluciones en volúmenes (volumen de agua agregado a un alcohol de título dado para reducirlo a otro de título inferior)

	100°	99°	98°	97°	96°	95°	94°	93°	92°
95	6,50	5,15	3,83	2,53	1,25				
90	13,25	11,83	10,43	9,07	7,23	6,41	5,10	3,80	2,54
85	20,54	19,05	17,58	16,15	14,73	13,33	11,96	10,59	9,24
80	28,59	27,01	25,47	23,95	22,45	20,95	19,49	18,04	16,61
75	37,58	35,90	34,28	32,67	31,08	29,52	27,97	26,43	24,94
70	47,75	45,98	44,25	42,54	40,85	39,18	37,53	35,89	34,27
65	59,37	57,49	55,63	53,81	52,00	50,22	48,45	46,70	44,96
60	72,82	70,80	68,80	66,85	64,92	63,00	61,10	59,21	57,33
55	88,60	86,42	84,28	82,16	80,06	77,99	75,93	73,88	71,85
50	107,44	105,08	102,75	100,44	98,15	95,89	93,64	91,41	89,19
45	130,26	127,67	125,11	122,57	120,06	117,57	115,09	112,64	110,18
40	158,56	155,68	152,84	150,02	147,22	144,46	141,70	138,95	136,23
35	194,63	191,39	188,19	185,01	181,85	178,71	175,60	172,49	169,39
30	242,38	238,67	234,99	231,33	227,70	224,08	220,49	216,90	213,33
25	308,90	304,52	300,18	295,86	291,56	287,28	283,02	278,77	274,53
20	408,50	403,13	397,79	392,47	387,17	381,90	376,64	371,40	366,16
15	574,75	567,43	560,53	553,55	548,59	539,66	532,74	525,83	518,94
10	907,09	896,73	886,40	876,10	865,15	855,55	845,31	835,08	824,86
	90°	85°	80°	75°	70°	65°	60°	55°	50°
85	6,56								
80	13,79	6,83							
75	21,89	14,48	7,20						
70	31,10	23,14	15,35	7,64					
65	41,53	33,03	24,66	16,37	8,15				
60	53,65	44,48	35,43	26,47	17,58	8,76			
55	67,87	57,90	48,07	38,32	28,63	19,02	9,47		
50	84,71	73,90	63,04	52,43	41,73	31,25	20,47	10,35	
45	105,34	93,30	81,38	69,54	57,78	46,09	34,46	22,90	11,45
40	130,80	117,34	104,01	90,76	77,58	64,48	51,43	38,46	25,55
35	163,28	148,01	132,88	117,82	102,84	87,93	70,08	58,31	43,59
30	206,22	188,57	171,05	153,53	136,34	118,94	101,71	84,57	67,45
25	266,12	245,15	224,30	203,61	182,83	162,21	141,65	121,16	100,73
20	355,80	329,84	304,01	278,26	252,58	226,98	201,43	175,96	150,55
15	505,27	471,00	436,85	402,81	368,83	334,91	301,07	267,29	233,64
10	804,50	753,65	702,89	652,51	601,60	551,06	500,50	450,19	399,85

Ejemplo - Para reducir un alcohol de 80° por 100 (en volumen) al título de 40° por 100 se busca en la columna vertical correspondiente a 80° por 100 el número correspondiente a la línea horizontal 40, lo que da 104,01. Luego a 100 volúmenes de alcohol de 80° por 100 hay que agregar 104,01 volúmenes de agua para obtener alcohol de 40° por 100.

Tablas alcoholimétricas

Determinación de la concentración alcohólica en peso y en volumen de agua, según K. Windisch

Densidad Relativa (15°/15°)	% en peso	% en volumen	Alcohol (g) en 100 ml a 15°	Densidad Relativa (15°/15°)	% en peso	% en volumen	Alcohol (g) en 100 ml a 15°	Densidad Relativa (15°/15°)	% en peso	% en volumen	Alcohol (g) en 100 ml a 15°
1,0000	0,00	0,00	0,00								
0,9999	0,05	0,07	0,05	0,9989	2,22	2,79	2,21	0,9919	4,57	5,70	4,53
8	0,11	0,13	0,11	8	2,28	2,86	2,27	8	4,63	5,78	4,59
7	0,16	0,20	0,16	7	2,34	2,93	2,32	7	4,69	5,86	4,65
6	0,21	0,27	0,21	6	2,39	3,00	2,38	6	4,75	5,93	4,71
5	0,26	0,33	0,26	5	2,45	3,07	2,43	5	4,81	6,01	4,77
4	0,32	0,40	0,32	4	2,50	3,14	2,49	4	4,88	6,09	4,83
3	0,37	0,47	0,37	3	2,56	3,21	2,55	3	4,94	6,16	4,89
2	0,42	0,53	0,42	2	2,62	3,28	2,60	2	5,00	6,24	4,95
1	0,48	0,60	0,47	1	2,68	3,35	2,66	1	5,06	6,32	5,01
0	0,53	0,67	0,53	0	2,73	3,42	2,72	0	5,13	6,40	5,08
0,9989	0,58	0,73	0,58	0,9949	2,79	3,49	2,77	0,9909	5,19	6,47	5,14
8	0,64	0,80	0,64	8	2,84	3,56	2,82	8	5,25	6,55	5,20
7	0,69	0,87	0,69	7	2,90	3,64	2,88	7	5,32	6,63	5,26
6	0,74	0,93	0,74	6	2,96	3,71	2,94	6	5,38	6,71	5,32
5	0,80	1,00	0,80	5	3,02	3,78	3,00	5	5,44	6,79	5,38
4	0,85	1,07	0,85	4	3,08	3,85	3,06	4	5,51	6,86	5,45
3	0,90	1,14	0,90	3	3,14	3,93	3,12	3	5,57	6,94	5,51
2	0,96	1,20	0,96	2	3,19	4,00	3,17	2	5,63	7,02	5,57
1	1,01	1,27	1,01	1	3,25	4,07	3,23	1	5,70	7,10	5,64
0	1,06	1,34	1,06	0	3,31	4,14	3,29	0	5,76	7,18	5,70
0,9979	1,12	1,41	1,12	0,9939	3,37	4,22	3,35	0,9899	5,83	7,26	5,76
8	1,17	1,48	1,17	8	3,43	4,29	3,40	8	5,89	7,34	5,83
7	1,23	1,54	1,22	7	3,49	4,36	3,46	7	5,96	7,42	5,89
6	1,28	1,61	1,28	6	3,55	4,43	3,52	6	6,02	7,50	5,95
5	1,34	1,68	1,33	5	3,60	4,51	3,58	5	6,09	7,58	6,02
4	1,39	1,75	1,39	4	3,66	4,58	3,64	4	6,15	7,66	6,08
3	1,45	1,82	1,44	3	3,72	4,65	3,69	3	6,22	7,74	6,14
2	1,50	1,88	1,50	2	3,78	4,73	3,75	2	6,28	7,82	6,21
1	1,56	1,95	1,55	1	3,84	4,80	3,81	1	6,35	7,90	6,27
0	1,61	2,02	1,60	0	3,90	4,88	3,87	0	6,41	7,99	6,34
0,9969	1,67	2,09	1,66	0,9929	3,96	4,95	3,93	0,9889	6,48	8,07	6,40
8	1,72	2,16	1,71	8	4,02	5,03	3,99	8	6,55	8,15	6,47
7	1,78	2,23	1,77	7	4,08	5,10	4,05	7	6,61	8,23	6,53
6	1,83	2,30	1,82	6	4,14	5,18	4,11	6	6,68	8,31	6,59
5	1,89	2,37	1,88	5	4,20	5,25	4,17	5	6,75	8,40	6,66
4	1,94	2,44	1,93	4	4,26	5,33	4,23	4	6,81	8,48	6,73
3	2,00	2,51	1,99	3	4,32	5,40	4,29	3	6,88	8,56	6,79
2	2,05	2,58	2,04	2	4,39	5,48	4,35	2	6,95	8,64	6,86
1	2,11	2,65	2,10	1	4,45	5,55	4,41	1	7,02	8,73	6,93
0	2,17	2,72	2,16	0	4,51	5,63	4,47	0	7,08	8,81	6,99

0,06	
1	0,006
2	0,012
3	0,018
4	0,024
5	0,030
6	0,036
7	0,042
8	0,048
9	0,054

0,07	
1	0,007
2	0,014
3	0,021
4	0,028
5	0,035
6	0,042
7	0,049
8	0,056
9	0,063

0,08	
1	0,008
2	0,016
3	0,024
4	0,032
5	0,040
6	0,048
7	0,056
8	0,064
9	0,072

0,09	
1	0,009
2	0,018
3	0,027
4	0,036
5	0,045
6	0,054
7	0,063
8	0,072
9	0,081

0,10	
1	0,01
2	0,02
3	0,03
4	0,04
5	0,05
6	0,06
7	0,07
8	0,08
9	0,09

Determinación de la concentración alcohólica en peso y en volumen de agua, según K. Windisch

Densidad Relativa (15°/15°)	% en peso	% en volumen	Alcohol (g) en 100 ml a 15°	Densidad Relativa (15°/15°)	% en peso	% en volumen	Alcohol (g) en 100 ml a 15°	Densidad Relativa (15°/15°)	% en peso	% en volumen	Alcohol (g) en 100 ml a 15°
0,9879	7,15	8,89	7,06	7	10,17	12,59	9,99	5	13,49	16,64	13,20
8	7,22	8,98	7,12	6	10,25	12,69	10,07	4	13,57	16,74	13,28
7	7,29	9,06	7,19	5	10,32	12,78	10,14	3	13,66	16,84	13,36
6	7,36	9,15	7,26	4	10,40	12,88	10,22	2	13,74	16,94	13,44
5	7,42	9,23	7,33	3	10,48	12,97	10,29	1	13,82	17,04	13,52
4	7,49	9,32	7,39	2	10,55	13,06	10,36	0	13,90	17,14	13,60
3	7,56	9,40	7,46	1	10,63	13,16	10,44				
2	7,63	9,48	7,53	0	10,71	13,25	10,52	0,9789	13,98	17,24	13,68
1	7,70	9,57	7,60					8	14,07	17,34	13,76
0	7,77	9,66	7,66	0,9829	10,78	13,34	10,59	7	14,15	17,44	13,84
				8	10,86	13,44	10,66	6	14,23	17,54	13,92
0,9869	7,84	9,74	7,73	7	10,94	13,53	10,74	5	14,32	17,64	14,00
8	7,91	9,83	7,80	6	11,01	13,63	10,81	4	14,40	17,74	14,08
7	7,98	9,91	7,87	5	11,09	13,72	10,89	3	14,48	17,84	14,15
6	8,05	10,00	7,94	4	11,17	13,82	10,96	2	14,56	17,94	14,23
5	8,12	10,09	8,00	3	11,25	13,91	11,04	1	14,65	18,04	14,31
4	8,19	10,17	8,07	2	11,33	14,01	11,12	0	14,73	18,14	14,39
3	8,26	10,26	8,14	1	11,40	14,10	11,19				
2	8,33	10,35	8,21	0	11,48	14,20	11,27	0,9779	14,81	18,24	14,47
1	8,41	10,43	8,28					8	14,90	18,34	14,55
0	8,48	10,52	8,35	0,9819	11,56	14,29	11,34	7	14,98	18,44	14,63
				8	11,64	14,39	11,42	6	15,06	18,54	14,71
0,9859	8,55	10,61	8,42	7	11,72	14,48	11,49	5	15,15	18,64	14,79
8	8,62	10,70	8,49	6	11,80	14,58	11,57	4	15,23	18,74	14,87
7	8,69	10,79	8,56	5	11,88	14,68	11,65	3	15,31	18,84	14,95
6	8,76	10,88	8,63	4	11,96	14,77	11,72	2	15,40	18,94	15,03
5	8,84	10,96	8,70	3	12,04	14,87	11,80	1	15,48	19,04	15,11
4	8,91	11,05	8,77	2	12,12	14,97	11,88	0	15,56	19,14	15,19
3	8,98	11,14	8,84	1	12,20	15,07	11,96				
2	9,06	11,23	8,91	0	12,28	15,16	12,03	0,9769	15,65	19,24	15,27
1	9,13	11,32	8,98					8	15,73	19,34	15,35
0	9,20	11,41	9,06	0,9809	12,36	15,26	12,11	7	15,81	19,44	15,43
				8	12,44	15,36	12,19	6	15,90	19,55	15,51
0,9849	9,28	11,50	9,13	7	12,52	15,46	12,27	5	15,98	19,65	15,59
8	9,35	11,59	9,20	6	12,60	15,55	12,34	4	16,06	19,75	15,67
7	9,42	11,68	9,27	5	12,68	15,65	12,42	3	16,15	19,85	15,75
6	9,50	11,77	9,34	4	12,76	15,75	12,50	2	16,23	19,95	15,83
5	9,57	11,86	9,42	3	12,84	15,85	12,58	1	16,32	20,05	15,91
4	9,65	11,95	9,49	2	12,92	15,95	12,65	0	16,40	20,15	15,99
3	9,72	12,05	9,56	1	13,00	16,04	12,73				
2	9,80	12,14	9,63	0	13,08	16,14	12,81	0,9759	16,48	20,25	16,07
1	9,87	12,23	9,70					8	16,57	20,35	16,15
0	9,94	12,32	9,78	0,9799	13,16	16,24	12,89	7	16,65	20,45	16,23
				8	13,25	16,34	12,97	6	16,73	20,55	16,31
0,9839	10,02	12,41	9,85	7	13,33	16,44	13,05	5	16,82	20,65	16,39
8	10,10	12,50	9,92	6	13,41	16,54	13,13	4	16,90	20,75	16,47

0,06

1	0,006
2	0,012
3	0,018
4	0,024
5	0,030
6	0,036
7	0,042
8	0,048
9	0,054

0,07

1	0,007
2	0,014
3	0,021
4	0,028
5	0,035
6	0,042
7	0,049
8	0,056
9	0,063

0,08

1	0,008
2	0,016
3	0,024
4	0,032
5	0,040
6	0,048
7	0,056
8	0,064
9	0,072

0,09

1	0,009
2	0,018
3	0,027
4	0,036
5	0,045
6	0,054
7	0,063
8	0,072
9	0,081

Determinación de la concentración alcohólica en peso y en volumen de agua, según K. Windisch

Densidad Relativa (15°/15°)	% en peso	% en volumen	Alcohol (g) en 100 ml a 15°	Densidad Relativa (15°/15°)	% en peso	% en volumen	Alcohol (g) en 100 ml a 15°	Densidad Relativa (15°/15°)	% en peso	% en volumen	Alcohol (g) en 100 ml a 15°
3	16.98	20.86	16.55	1	20.44	24.99	19.83	0.9669	23.70	28.85	22.89
2	17.07	20.96	16.63	0	20.52	25.08	19.91	8	23.77	28.94	22.96
1	17.15	21.06	16.71					7	23.85	29.03	23.03
0	17.23	21.16	16.79	0.9709	20.60	25.18	19.98	6	23.92	29.11	23.10
				8	20.68	25.27	20.06	5	24.00	29.20	23.17
0.9749	17.32	21.26	16.87	7	20.76	25.37	20.13	4	24.07	29.29	23.24
8	17.40	21.36	16.95	6	20.84	25.47	20.21	3	24.15	29.38	23.31
7	17.49	21.46	17.03	5	20.92	25.56	20.28	2	24.22	29.46	23.38
6	17.57	21.56	17.11	4	21.00	25.66	20.36	1	24.29	29.55	23.45
5	17.65	21.66	17.19	3	21.08	25.75	20.43	0	24.37	29.64	23.52
4	17.73	21.76	17.27	2	21.16	25.84	20.51				
3	17.82	21.86	17.35	1	21.24	25.94	20.58	0.9659	24.44	29.72	23.59
2	17.90	21.96	17.42	0	21.32	26.03	20.66	8	24.51	29.81	23.65
1	17.98	22.06	17.50					7	24.59	29.89	23.72
0	18.07	22.16	17.58	0.9699	21.40	26.13	20.73	6	24.66	29.98	23.79
				8	21.47	26.22	20.81	5	24.73	30.06	23.86
0.9739	18.15	22.26	17.66	7	21.55	26.31	20.88	4	24.80	30.15	23.93
8	18.23	22.35	17.74	6	21.63	26.41	20.96	3	24.88	30.23	23.99
7	18.32	22.45	17.82	5	21.71	26.50	21.03	2	24.95	30.32	24.06
6	18.40	22.55	17.90	4	21.79	26.59	21.10	1	25.02	30.40	24.13
5	18.48	22.65	17.98	3	21.87	26.69	21.18	0	25.09	30.49	24.19
4	18.56	22.75	18.05	2	21.94	26.78	21.25				
3	18.65	22.85	18.13	1	22.02	26.87	21.32	0.9649	25.17	30.57	24.26
2	18.73	22.95	18.21	0	22.10	26.96	21.40	8	25.24	30.66	24.33
1	18.81	23.05	18.29					7	25.31	30.74	24.39
0	18.89	23.14	18.37	0.9689	22.18	27.05	21.47	6	25.38	30.82	24.46
				8	22.25	27.14	21.54	5	25.45	30.91	24.53
0.9729	18.98	23.24	18.45	7	22.33	27.24	21.61	4	25.52	30.99	24.59
8	19.06	23.34	18.52	6	22.41	27.33	21.69	3	25.59	31.07	24.66
7	19.14	23.44	18.60	5	22.49	27.42	21.76	2	25.66	31.16	24.73
6	19.22	23.54	18.68	4	22.56	27.51	21.83	1	25.74	31.24	24.79
5	19.30	23.63	18.76	3	22.64	27.60	21.90	0	25.81	31.32	24.85
4	19.39	23.73	18.84	2	22.72	27.69	21.98				
3	19.47	23.83	18.91	1	22.79	27.78	22.05	0.9639	25.88	31.41	24.92
2	19.55	23.93	18.99	0	22.87	27.87	22.12	8	25.95	31.49	24.99
1	19.63	24.02	19.07					7	26.02	31.57	25.05
0	19.71	24.12	19.14	0.9679	22.95	27.96	22.19	6	26.09	31.65	25.12
				8	23.02	28.05	22.26	5	26.16	31.73	25.18
0.9719	19.79	24.22	19.22	7	23.10	28.14	22.33	4	26.23	31.81	25.25
8	19.87	24.32	19.30	6	23.17	28.23	22.40	3	26.30	31.89	25.31
7	19.95	24.41	19.37	5	23.25	28.32	22.47	2	26.37	31.98	25.37
6	20.04	24.51	19.45	4	23.32	28.41	22.54	1	26.44	32.06	25.44
5	20.12	24.60	19.53	3	23.40	28.50	22.61	0	26.51	32.14	25.50
4	20.20	24.70	19.60	2	23.47	28.59	22.68				
3	20.28	24.80	19.68	1	23.55	28.67	22.75	0.9629	26.51	32.22	25.56
2	20.36	24.89	19.76	0	23.63	28.76	22.82	8	26.64	32.30	25.63

0.04

1	0.004
2	0.008
3	0.012
4	0.016
5	0.020
6	0.024
7	0.028
8	0.032
9	0.036

0.05

1	0.005
2	0.010
3	0.015
4	0.020
5	0.025
6	0.030
7	0.035
8	0.040
9	0.045

0.06

1	0.006
2	0.012
3	0.018
4	0.024
5	0.030
6	0.036
7	0.042
8	0.048
9	0.054

0.07

1	0.007
2	0.014
3	0.021
4	0.028
5	0.035
6	0.042
7	0.049
8	0.056
9	0.063

Determinación de la concentración alcohólica en peso y en volumen de agua, según K. Windisch

Densidad Relativa (15°/15°)	% en peso	% en volumen	Alcohol (g) en 100 ml a 15°	Densidad Relativa (15°/15°)	% en peso	% en volumen	Alcohol (g) en 100 ml a 15°	Densidad Relativa (15°/15°)	% en peso	% en volumen	Alcohol (g) en 100 ml a 15°
7	26.71	32.38	25.69	5	29.49	35.59	28.24	3	32.07	38.54	30.58
6	26.78	32.46	25.76	4	29.56	35.66	28.30	2	32.13	38.61	30.64
5	26.85	32.54	25.82	3	29.62	35.74	28.36	1	32.19	38.67	30.69
4	26.92	32.62	25.88	2	29.68	35.81	28.42	0	32.25	38.74	30.74
3	26.99	32.70	25.95	1	29.75	35.88	28.47				
2	27.05	32.78	26.01	0	29.81	35.95	28.53				
1	27.12	32.85	26.07								
0	27.19	32.93	26.13	0,9579	29,87	36,03	28,59	0,9539	32,31	38,81	30,80
0,9619	27,26	33,01	26,20	8	29,94	36,10	28,65	8	32,37	38,88	30,85
8	27,33	33,09	26,26	7	30,00	36,17	28,70	7	32,43	38,94	30,90
7	27,39	33,17	26,32	6	30,06	36,24	28,76	6	32,49	39,01	30,96
6	27,46	33,25	26,38	5	30,12	36,31	28,82	5	32,55	39,07	31,01
5	27,53	33,33	26,45	4	30,18	36,38	28,87	4	32,61	39,14	31,06
4	27,60	33,40	26,51	3	30,25	36,46	28,93	3	32,67	39,21	31,11
3	27,66	33,48	26,57	2	30,31	36,53	28,99	2	32,72	39,27	31,17
2	27,73	33,56	26,63	1	30,37	36,60	29,04	1	32,78	39,34	31,22
1	27,80	33,64	26,69	0	30,43	36,67	29,10	0	32,84	39,40	31,27
0	27,86	33,71	26,75	0,9569	30,50	36,74	29,16	0,9529	32,90	39,47	31,32
0,9609	27,93	33,79	26,82	8	30,56	36,81	29,21	8	32,96	39,54	31,38
8	28,00	33,87	26,88	7	30,62	36,88	29,27	7	33,02	39,60	31,43
7	28,06	33,94	26,94	6	30,68	36,95	29,33	6	33,07	39,67	31,48
6	28,13	34,02	27,00	5	30,74	37,02	29,38	5	33,13	39,73	31,53
5	28,19	34,10	27,06	4	30,81	37,09	29,44	4	33,19	39,80	31,58
4	28,26	34,17	27,12	3	30,87	37,16	29,49	3	33,25	39,86	31,63
3	28,33	34,25	27,18	2	30,93	37,23	29,55	2	33,31	39,93	31,69
2	28,39	34,33	27,24	1	30,99	37,30	29,60	1	33,36	39,99	31,74
1	28,46	34,40	27,30	0	31,05	37,37	29,66	0	33,42	40,06	31,79
0	28,52	34,47	27,36	0,9559	31,11	37,44	29,71	0,9519	33,48	40,12	31,84
0,9599	28,59	34,55	27,42	8	31,17	37,51	29,77	8	33,54	40,19	31,89
8	28,65	34,63	27,48	7	31,23	37,58	29,82	7	33,59	40,25	31,94
7	28,72	34,70	27,54	6	31,29	37,65	29,88	6	33,65	40,32	32,00
6	28,78	34,78	27,60	5	31,36	37,72	29,93	5	33,71	40,38	32,05
5	28,85	34,85	27,66	4	31,42	37,79	29,99	4	33,76	40,44	32,10
4	28,91	34,93	27,72	3	31,48	37,86	30,04	3	33,82	40,51	32,15
3	28,98	35,00	27,78	2	31,54	37,93	30,10	2	33,88	40,57	32,20
2	29,04	35,08	27,84	1	31,60	38,00	30,15	1	33,94	40,64	32,25
1	29,11	35,15	27,89	0	31,66	38,06	30,21	0	33,99	40,70	32,30
0	29,17	35,22	27,95	0,9549	31,72	38,13	30,26	0,9509	34,05	40,76	32,35
0,9589	29,24	35,30	28,01	8	31,78	38,20	30,31	8	34,11	40,83	32,40
8	29,30	35,37	28,07	7	31,84	38,27	30,37	7	34,16	40,89	32,45
7	29,36	35,44	28,13	6	31,90	38,34	30,42	6	34,22	40,96	32,50
6	29,43	35,52	28,19	5	31,96	38,40	30,48	5	34,28	41,02	32,55
				4	32,01	38,47	30,53	4	34,33	41,08	32,60
								3	34,39	41,15	32,65

0,03

1	0,003
2	0,006
3	0,009
4	0,012
5	0,015
6	0,018
7	0,021
8	0,024
9	0,027

0,04

1	0,004
2	0,008
3	0,012
4	0,016
5	0,020
6	0,024
7	0,028
8	0,032
9	0,036

0,05

1	0,005
2	0,010
3	0,015
4	0,020
5	0,025
6	0,030
7	0,035
8	0,040
9	0,045

0,06

1	0,006
2	0,012
3	0,018
4	0,024
5	0,030
6	0,036
7	0,042
8	0,048
9	0,054

Determinación de la concentración alcohólica en peso y en volumen de agua, según K. Windisch

Densidad Relativa (15°/15°)	% en peso	% en volumen	Alcohol (g) en 100 ml a 15°	Densidad Relativa (15°/15°)	% en peso	% en volumen	Alcohol (g) en 100 ml a 15°	Densidad Relativa (15°/15°)	% en peso	% en volumen	Alcohol (g) en 100 ml a 15°
5	41.11	48.53	38.51	3	43.17	50.73	40.26	1	45.17	52.84	41.93
4	41.16	48.58	38.55	2	43.22	50.78	40.30	0	45.22	52.89	41.97
3	41.21	48.64	38.60	1	43.27	50.83	40.34				
2	41.26	48.69	38.64	0	43.31	50.88	40.38	0,9289	45,27	52,94	42,01
1	41.31	48.74	38.68					8	45.31	52.99	42.05
0	41.36	48.80	38.72	0,9329	43,36	50,93	40,42	7	45.36	53.04	42.09
				8	43.41	50.98	40.46	6	45.41	53.09	42.13
0,9369	41,41	48,85	38,77	7	43.46	51.03	40.50	5	45.46	53.14	42.17
8	41.46	48.90	38.81	6	43.51	51.08	40.54	4	45.50	53.19	42.21
7	41.51	48.96	38.85	5	43.55	51.14	40.58	3	45.55	53.24	42.25
6	41.56	49.01	38.89	4	43.60	51.19	40.62	2	45.60	53.29	42.29
5	41.61	49.06	38.93	3	43.65	51.24	40.66	1	45.64	53.34	42.33
4	41.66	49.11	38.98	2	43.70	51.29	40.70	0	45.69	53.39	42.37
3	41.71	49.17	39.02	1	43.75	51.34	40.74				
2	41.76	49.22	39.06	0	43.79	51.39	40.78	0,9279	45,74	53,43	42,40
1	41.81	49.27	39.10					8	45.78	53.48	42.44
0	41.85	49.33	39.14	0,9319	43,84	51,44	40,82	7	45.83	53.53	42.48
				8	43.89	51.49	40.86	6	45.88	53.58	42.52
0,9359	41,90	49,38	39,18	7	43.94	51.54	40.90	5	45.93	53.63	42.56
8	41.95	49.43	39.23	6	43.99	51.59	40.94	4	45.97	53.68	42.60
7	42.00	49.48	39.27	5	44.03	51.64	40.98	3	46.02	53.73	42.64
6	42.05	49.53	39.31	4	44.08	51.69	41.02	2	46.07	53.78	42.68
5	42.10	49.59	39.35	3	44.13	51.74	41.06	1	46.11	53.83	42.72
4	42.15	49.64	39.39	2	44.18	51.79	41.10	0	46.16	53.88	42.76
3	42.20	49.69	39.43	1	44.22	51.84	41.14				
2	42.25	49.74	39.47	0	44.27	51.89	41.18	0,9269	46,21	53,92	42,79
1	42.30	49.80	39.52					8	46.25	53.97	42.83
0	42.34	49.85	39.56	0,9309	44,32	51,94	41,22	7	46.30	54.02	42.87
				8	44.37	51.99	41.26	6	46.35	54.07	42.91
0,9349	42,39	49,90	39,60	7	44.41	52.04	41.30	5	46.39	54.12	42.95
8	42.44	49.95	39.64	6	44.46	52.09	41.34	4	46.44	54.17	42.98
7	42.49	50.00	39.68	5	44.51	52.14	41.38	3	46.49	54.21	43.02
6	42.54	50.06	39.72	4	44.56	52.19	41.42	2	46.53	54.26	43.06
5	42.59	50.11	39.76	3	44.60	52.24	41.46	1	46.58	54.31	43.10
4	42.64	50.16	39.81	2	44.65	52.29	41.50	0	46.63	54.36	43.14
3	42.68	50.21	39.85	1	44.70	52.34	41.54				
2	42.73	50.26	39.89	0	44.75	52.39	41.58	0,9259	46,67	54,41	43,18
1	42.78	50.31	39.93					8	46.72	54.46	43.22
0	42.83	50.37	39.97	0,9299	44,79	52,44	41,62	7	46.77	54.50	43.25
				8	44.84	52.49	41.66	6	46.81	54.55	43.29
0,9339	42,88	50,42	40,01	7	44.89	52.54	41.70	5	46.86	54.60	43.33
8	42.93	50.47	40.05	6	44.94	52.59	41.74	4	46.90	54.65	43.37
7	42.98	50.52	40.09	5	44.98	52.64	41.78	3	46.95	54.70	43.41
6	43.02	50.57	40.13	4	45.03	52.69	41.82	2	47.00	54.75	43.45
5	43.07	50.62	40.17	3	45.08	52.74	41.86	1	47.04	54.80	43.48
4	43.12	50.68	40.22	2	45.13	52.79	41.90	0	47.09	54.84	43.52

0,03

1	0,003
2	0,006
3	0,009
4	0,012
5	0,015
6	0,018
7	0,021
8	0,024
9	0,027

0,04

1	0,004
2	0,008
3	0,012
4	0,016
5	0,020
6	0,024
7	0,028
8	0,032
9	0,036

0,05

1	0,005
2	0,010
3	0,015
4	0,020
5	0,025
6	0,030
7	0,035
8	0,040
9	0,045

Determinación de la concentración alcohólica en peso y en volumen de agua, según K. Windisch

Densidad Relativa (15°/15°)	% en peso	% en volumen	Alcohol (g) en 100 ml a 15°	Densidad Relativa (15°/15°)	% en peso	% en volumen	Alcohol (g) en 100 ml a 15°	Densidad Relativa (15°/15°)	% en peso	% en volumen	Alcohol (g) en 100 ml a 15°
0,9249	47,14	54,89	43,56	7	49,07	56,88	45,14	5	50,97	58,82	46,67
8	47,18	54,94	43,60	6	49,11	56,93	45,17	4	51,02	58,86	46,71
7	47,23	54,99	43,64	5	49,16	56,97	45,21	3	51,06	58,91	46,75
6	47,28	55,03	43,67	4	49,20	57,02	45,25	2	51,11	58,95	46,78
5	47,32	55,08	43,71	3	49,25	57,07	45,29	1	51,15	59,00	46,82
4	47,37	55,13	43,75	2	49,29	57,11	45,32	0	51,20	59,05	46,86
3	47,41	55,18	43,79	1	49,34	57,16	45,36				
2	47,46	55,23	43,83	0	49,39	57,21	45,40	0,9159	51,24	59,09	46,89
1	47,51	55,27	43,86					8	51,29	59,14	46,93
0	47,55	55,32	43,90	0,9199	49,43	57,25	45,43	7	51,33	59,18	46,96
				8	49,48	57,30	45,47	6	51,38	59,23	47,00
0,9239	47,60	55,37	43,94	7	49,52	57,34	45,51	5	51,42	59,27	47,04
8	47,64	55,42	43,98	6	49,57	57,39	45,54	4	51,47	59,32	47,07
7	47,69	55,46	44,01	5	49,61	57,44	45,58	3	51,51	59,36	47,11
6	47,74	55,51	44,05	4	49,66	57,48	45,62	2	51,56	59,41	47,14
5	47,78	55,56	44,09	3	49,70	57,53	45,66	1	51,60	59,45	47,18
4	47,83	55,61	44,13	2	49,75	57,58	45,69	0	51,65	59,50	47,22
3	47,88	55,65	44,17	1	49,80	57,62	45,73				
2	47,92	55,70	44,20	0	49,84	57,67	45,76	0,9149	51,69	59,54	47,25
1	47,97	55,75	44,24					8	51,73	59,59	47,29
0	48,01	55,80	44,28	0,9189	49,89	57,72	45,80	7	51,78	59,63	47,32
				8	49,93	57,76	45,84	6	51,82	59,68	47,36
0,9229	48,06	55,84	44,32	7	49,98	57,81	45,87	5	51,87	59,72	47,39
8	48,10	55,89	44,36	6	50,02	57,85	45,91	4	51,91	59,77	47,43
7	48,15	55,94	44,39	5	50,07	57,90	45,95	3	51,96	59,81	47,47
6	48,20	55,99	44,43	4	50,11	57,95	45,98	2	52,00	59,86	47,50
5	48,24	56,03	44,47	3	50,16	57,99	46,02	1	52,05	59,90	47,54
4	48,29	56,08	44,50	2	50,20	58,04	46,06	0	52,09	59,95	47,57
3	48,33	56,13	44,54	1	50,25	58,08	46,09				
2	48,38	56,18	44,58	0	50,29	58,13	46,13	0,9139	52,14	59,99	47,61
1	48,43	56,22	44,62					8	52,18	60,04	47,64
0	48,47	56,27	44,65	0,9179	50,34	58,18	46,17	7	52,23	60,08	47,68
				8	50,38	58,22	46,20	6	52,27	60,13	47,72
0,9219	48,52	56,32	44,69	7	50,43	58,27	46,24	5	52,32	60,17	47,75
8	48,56	56,36	44,73	6	50,47	58,31	46,28	4	52,36	60,22	47,79
7	48,61	56,41	44,77	5	50,52	58,36	46,31	3	52,41	60,26	47,82
6	48,66	56,45	44,80	4	50,57	58,41	46,35	2	52,45	60,31	47,85
5	48,70	56,50	44,84	3	50,61	58,45	46,39	1	52,50	60,35	47,89
4	48,75	56,55	44,88	2	50,66	58,50	46,42	0	52,54	60,40	47,93
3	48,79	56,60	44,92	1	50,70	58,54	46,46				
2	48,84	56,64	44,95	0	50,75	58,59	46,49	0,9129	52,59	60,44	47,96
1	48,88	56,69	44,99					8	52,63	60,49	48,00
0	48,93	56,74	45,03	0,9169	50,79	58,63	46,53	7	52,67	60,53	48,04
				8	50,84	58,68	46,57	6	52,72	60,58	48,07
0,9209	48,98	56,78	45,06	7	50,88	58,73	46,60	5	52,76	60,62	48,11
8	49,02	56,83	45,10	6	50,93	58,77	46,64	4	52,81	60,67	48,14

0,03	
1	0,003
2	0,006
3	0,009
4	0,012
5	0,015
6	0,018
7	0,021
8	0,024
9	0,027

0,04	
1	0,004
2	0,008
3	0,01
4	0,016
5	0,020
6	0,024
7	0,028
8	0,032
9	0,036

0,05	
1	0,005
2	0,010
3	0,015
4	0,020
5	0,025
6	0,030
7	0,035
8	0,040
9	0,045

Determinación de la concentración alcohólica en peso y en volumen de agua, según K. Windisch

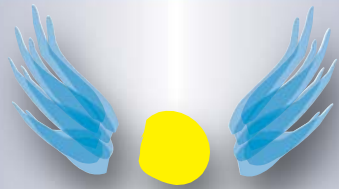
Densidad Relativa (15°/15°)	% en peso	% en volumen	Alcohol (g) en 100 ml a 15°	Densidad Relativa (15°/15°)	% en peso	% en volumen	Alcohol (g) en 100 ml a 15°	Densidad Relativa (15°/15°)	% en peso	% en volumen	Alcohol (g) en 100 ml a 15°
3	52.85	60.71	48.18	1	54.72	62.56	49.65	0.8920	61.75	69.34	55.03
2	52.90	60.75	48.21	0	54.76	62.61	49.68	0.8915	61.96	69.55	55.19
1	52.94	60.80	48.25					0.8910	62.18	69.75	55.35
0	52.99	60.84	48.28	0.9079	54.81	62.65	49.72	0.8905	62.39	69.95	55.51
				8	54.85	62.69	49.75				
0.9119	53.03	60.89	48.32	7	54.90	62.74	49.79	0.8900	62.61	70.16	55.67
8	53.08	60.93	48.35	6	54.94	62.78	49.82	0.8895	62.82	70.36	55.83
7	53.12	60.98	48.39	5	54.98	62.82	49.86	0.8890	63.04	70.56	55.99
6	53.17	61.02	48.42	4	55.03	62.87	49.89	0.8885	63.25	70.76	56.15
5	53.21	61.06	48.46	3	55.07	62.91	49.92	0.8880	63.47	70.96	56.31
4	53.25	61.11	48.49	2	55.12	62.95	49.96	0.8875	63.68	71.16	56.47
3	53.30	61.15	48.53	1	55.16	63.00	49.99	0.8870	63.90	71.36	56.63
2	53.34	61.20	48.56	0	55.20	63.04	50.03	0.8865	64.11	71.56	56.79
1	53.39	61.24	48.60					0.8860	64.33	71.76	56.94
0	53.43	61.29	48.64	0.9069	55.25	63.08	50.06	0.8855	64.54	71.96	57.10
				0.9065	55.43	63.26	50.20				
0.9109	53.48	61.33	48.67	0.9060	55.65	63.47	50.37	0.8850	64.75	72.15	57.26
8	53.52	61.37	48.71	0.9055	55.87	63.69	50.54	0.8845	64.97	72.35	57.42
7	53.57	61.42	48.74	0.9050	56.09	63.91	50.71	0.8840	65.18	72.55	57.57
6	53.61	61.46	48.78	0.9045	56.31	64.12	50.89	0.8835	65.40	72.74	57.73
5	53.65	61.51	48.81	0.9040	56.52	64.34	51.06	0.8830	65.61	72.94	57.88
4	53.70	61.55	48.85	0.9035	56.74	64.55	51.23	0.8825	65.82	73.14	58.04
3	53.74	61.60	48.88	0.9030	56.96	64.76	51.39	0.8820	66.04	73.33	58.19
2	53.79	61.64	48.92	0.9025	57.18	64.98	51.56	0.8815	66.25	73.53	58.35
1	53.83	61.68	48.95	0.9020	57.40	65.19	51.73	0.8810	66.46	73.72	58.50
0	53.88	61.73	48.99	0.9015	57.62	65.40	51.90	0.8805	66.67	73.92	58.66
				0.9010	57.84	65.61	52.07				
0.9099	53.92	61.77	49.02	0.9005	58.06	65.82	52.24	0.8800	66.89	74.11	58.81
8	53.97	61.82	49.06					0.8795	67.10	74.30	58.96
7	54.01	61.86	49.09	0.9000	58.27	66.03	52.40	0.8790	67.31	74.49	59.12
6	54.05	61.90	49.13	0.8995	58.49	66.24	52.57	0.8785	67.52	74.69	59.27
5	54.10	61.95	49.16	0.8990	58.71	66.45	52.74	0.8780	67.74	74.88	59.42
4	54.14	61.99	49.20	0.8985	58.93	66.66	52.90	0.8775	67.95	75.07	59.57
3	54.19	62.04	49.23	0.8980	59.15	66.87	53.07	0.8770	68.16	75.26	59.73
2	54.23	62.08	49.27	0.8975	59.36	67.08	53.23	0.8765	68.37	75.45	59.88
1	54.28	62.13	49.30	0.8970	59.58	67.29	53.40	0.8760	68.58	75.64	60.03
0	54.32	62.17	49.33	0.8965	59.80	67.50	53.56	0.8755	68.80	75.84	60.18
				0.8960	60.02	67.70	53.73				
0.9089	54.36	62.21	49.37	0.8955	60.23	67.91	53.89	0.8750	69.01	76.02	60.33
8	54.41	62.26	49.41					0.8745	69.22	76.21	60.48
7	54.45	62.30	49.44	0.8950	60.45	68.12	54.05	0.8740	69.43	76.40	60.63
6	54.50	62.34	49.47	0.8945	60.66	68.32	54.22	0.8735	69.64	76.59	60.78
5	54.54	62.39	49.51	0.8940	60.88	68.53	54.38	0.8730	69.85	76.78	60.93
4	54.59	62.43	49.54	0.8935	61.10	68.73	54.54	0.8725	70.06	76.97	61.08
3	54.63	62.47	49.58	0.8930	61.31	68.94	54.71	0.8720	70.27	77.15	61.23
2	54.67	62.52	49.61	0.8925	61.53	69.14	54.87	0.8715	70.48	77.34	61.38

Determinación de la concentración alcohólica en peso y en volumen de agua, según K. Windisch

Densidad Relativa (15°/15°)	% en peso	% en volumen	Alcohol (g) en 100 ml a 15°	Densidad Relativa (15°/15°)	% en peso	% en volumen	Alcohol (g) en 100 ml a 15°	Densidad Relativa (15°/15°)	% en peso	% en volumen	Alcohol (g) en 100 ml a 15°
0.8710	70.70	77.53	61.52	0.8500	79.40	84.97	67.43	0.8290	87.74	91.58	72.67
0.8705	70.91	77.71	61.67	0.8495	79.60	85.14	67.57	0.8285	87.93	91.72	72.79
				0.8490	79.81	85.31	67.70	0.8280	88.12	91.87	72.90
0.8700	71.12	77.90	61.82	0.8485	80.01	85.47	67.83	0.8275	88.31	92.01	73.02
0.8695	71.33	78.08	61.97	0.8480	80.21	85.64	67.96	0.8270	88.50	92.15	73.13
0.8690	71.54	78.27	62.11	0.8475	80.42	85.81	68.09	0.8265	88.69	92.30	73.24
0.8685	71.74	78.45	62.26	0.8470	80.62	85.97	68.23	0.8260	88.88	92.44	73.36
0.8680	71.95	78.64	62.40	0.8465	80.82	86.14	68.36	0.8255	89.07	92.58	72.47
0.8675	72.16	78.82	62.55	0.8460	81.02	86.30	68.49				
0.8670	72.37	79.00	62.69	0.8455	81.22	86.46	68.62	0.8250	89.26	92.72	73.58
0.8665	72.58	79.18	62.84					0.8245	89.45	92.86	73.69
0.8660	72.79	79.37	62.98	0.8450	81.43	86.63	68.75	0.8240	89.64	93.00	73.80
0.8655	73.00	79.55	63.13	0.8445	81.63	86.79	68.88	0.8235	89.83	93.14	73.91
				0.8440	81.83	86.95	69.00	0.8230	90.02	93.28	74.02
0.8650	73.21	79.73	63.27	0.8435	82.03	87.11	69.13	0.8225	90.20	93.41	74.13
0.8645	73.42	79.91	63.41	0.8430	82.23	87.28	69.26	0.8220	90.39	93.55	74.24
0.8640	73.63	80.09	63.56	0.8425	82.43	87.44	69.39	0.8215	90.58	93.68	74.35
0.8635	73.83	80.27	63.70	0.8420	82.63	87.60	69.52	0.8210	90.76	93.82	74.45
0.8630	74.04	80.45	63.85	0.8415	82.83	87.76	69.64	0.8205	90.95	93.95	74.56
0.8625	74.25	80.63	63.99	0.8410	83.03	87.92	69.77				
0.8620	74.46	80.81	64.13	0.8405	83.23	88.08	69.90	0.8200	91.13	94.09	74.66
0.8615	74.67	80.99	64.27					0.8195	91.32	94.22	74.77
0.8610	74.87	81.17	64.41	0.8400	83.43	88.23	70.02	0.8190	91.51	94.35	74.87
0.8605	75.08	81.34	64.55	0.8395	83.63	88.39	70.15	0.8185	91.68	94.48	74.98
				0.8390	83.83	88.55	70.27	0.8180	91.87	94.61	75.08
0.8600	75.29	81.52	64.69	0.8385	84.03	88.71	70.40	0.8175	92.05	94.75	75.19
0.8595	75.50	81.70	64.84	0.8380	84.22	88.86	70.52	0.8170	92.23	94.87	75.29
0.8590	75.70	81.87	64.97	0.8375	84.42	89.02	70.65	0.8165	92.41	95.00	75.39
0.8585	75.91	82.05	65.11	0.8370	84.62	89.18	70.77	0.8160	92.59	95.13	75.49
0.8580	76.12	82.23	65.25	0.8365	84.82	89.33	70.89	0.8155	92.77	95.26	75.59
0.8575	76.32	82.40	65.39	0.8360	85.01	89.48	71.01				
0.8570	76.53	82.57	65.53	0.8355	85.21	89.64	71.14	0.8150	92.96	95.38	75.69
0.8565	76.74	82.75	65.67					0.8145	93.13	95.51	75.79
0.8560	76.94	82.92	65.81	0.8350	85.41	89.79	71.26	0.8140	93.31	95.63	75.89
0.8555	77.15	83.10	65.94	0.8345	85.60	89.94	71.38	0.8135	93.49	95.76	75.99
				0.8340	85.80	90.09	71.50	0.8130	93.67	95.88	76.09
0.8550	77.35	83.27	66.08	0.8335	85.99	90.24	71.62	0.8125	93.85	96.00	76.19
0.8545	77.56	83.44	66.22	0.8330	86.19	90.40	71.74	0.8120	94.03	96.13	76.29
0.8540	77.76	83.61	66.36	0.8325	86.38	90.55	71.85	0.8115	94.20	96.25	76.38
0.8535	77.97	83.78	66.49	0.8320	86.58	90.70	71.97	0.8110	94.38	96.37	76.48
0.8530	78.17	83.96	66.63	0.8315	86.77	90.84	72.09	0.8105	94.55	96.49	76.57
0.8525	78.38	84.13	66.76	0.8310	86.97	90.99	72.21				
0.8520	78.58	84.30	66.90	0.8305	87.16	91.14	72.33	0.8100	94.73	96.61	76.67
0.8515	78.79	84.47	67.03					0.8095	94.90	96.73	76.76
0.8510	78.99	84.64	67.16		87.35	91.29	72.44	0.8090	95.08	96.85	76.86
0.8505	79.20	84.80	67.30	0.8295	87.55	91.43	72.56	0.8085	95.25	96.96	76.95

Determinación de la concentración alcohólica en peso y en volumen de agua, según K. Windisch

Densidad Relativa (15°/15°)	% en peso	% en volumen	Alcohol (g) en 100 ml a 15°	Densidad Relativa (15°/15°)	% en peso	% en volumen	Alcohol (g) en 100 ml a 15°	Densidad Relativa (15°/15°)	% en peso	% en volumen	Alcohol (g) en 100 ml a 15°
0.8080	95.43	97.08	77.04	0.8035	96.96	98.08	77.85	0.7985	98.63	99.15	78.69
0.8075	95.60	97.19	77.13	0.8030	97.13	98.20	77.93	0.7980	98.70	99.26	78.77
0.8070	95.77	97.31	77.22	0.8025	97.30	98.31	78.02	0.7975	98.95	99.36	78.85
0.8065	95.94	97.42	77.31	0.8020	97.47	98.42	78.10	0.7970	99.11	99.46	78.93
0.8060	96.11	97.54	77.40	0.8015	97.63	98.52	78.19	0.7965	99.28	99.56	79.01
0.8055	96.29	97.65	77.49	0.8010	97.80	98.63	78.27	0.7960	99.44	99.66	79.08
				0.8005	97.97	98.74	78.36	0.7955	99.60	99.76	79.16
0.8050	96.46	97.76						0.7950	99.76	99.86	79.24
0.8045	96.63	97.87	77.58	0.8000	98.13	98.84	78.44	0.7945	99.92	99.95	79.32
0.8040	96.79	97.99	77.67	0.7995	98.30	98.95	78.52				
			77.67	0.7990	98.46	99.05	78.61	0.79425	100.00	100.00	79.36



Farmacopea Argentina

VOLUMEN II



**FARMACOPEA
ARGENTINA**

SÉPTIMA EDICIÓN



Farmacopea Argentina

VOLUMEN
II

FARMACOPEA ARGENTINA

SÉPTIMA EDICIÓN



Ministerio de Salud de la Nación

Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos

ANMAT

Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

INAME

Instituto Nacional de Medicamentos

FARMACOPEA ARGENTINA

SÉPTIMA EDICIÓN

Presidente de la Nación

Dra. Cristina Fernández de Kirchner

Jefe de Gabinete de Ministros

Dr. Juan Manuel Abal Medina

Ministro de Salud de la Nación

Dr. Juan Luís Manzur

Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos

Dr. Gabriel Eduardo Yedlin

Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

Dr. Carlos A. Chiale

Instituto Nacional de Medicamentos

Farm. Rodolfo H. Mocchetto

**FARMACOPEA
ARGENTINA**

SÉPTIMA EDICIÓN

VOLUMEN
II

COMISIÓN PERMANENTE
FARMACOPEA ARGENTINA

Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina

PRESIDENTE: Dr. Carlos A. Chiale

DIRECTOR EJECUTIVO: Bioq. y Farm. Héctor Giuliani

SECRETARÍA TÉCNICA:

Farm. Melina I. Assalone

Farm. Melina A. Dal Mas

Farm. María Celeste De Angelis

VOCALES:

Dr. Sem M. Albónico

Dr. Daniel Allemandi

Dr. Arnaldo Luis Bandoni

Dr. Pablo Bazerque

Dra. Clyde Carducci

Dr. Mario A. Copello (†)

Dr. Miguel D' Aquino

Dr. Juan M. Dellacha

Dra. Graciela Ferraro

Dr. Teodoro S. Kaufman

Dra. Marcela Longhi

Dr. Eloy Mandrile (†)

Dr. Rubén Manzo

Dra. Eugenia Olivera

Dra. Cristina Ortiz

Dra. María Teresa Pizzorno

Dr. Edgardo Poskus

Dra. Maria Praturlon

Dr. Modesto Rubio

Dr. Norberto A. Terragno

Dra. María Guillermina Volonté

COMPOSICIÓN DE LAS SUBCOMISIONES TÉCNICAS DE LA FARMACOPEA ARGENTINA

Aguas y Soluciones Parenterales de Gran Volumen

Achilli, Estela; Bichman, Mario; Colombari, Daniel; Cravzov Alicia; Duda, Guillermo; Fiore, Esteban; Menéndez Viviana; Neder, Jorge; Nista, Liliana; Petracca, Antonia; Ploder, Peter; Silveti, Omar Alfredo; Szyszkowsky, Juiz Rubén; Vedoya, Gabriela Silvia.

Biodisponibilidad, Bioequivalencia y Equivalencia Farmacéutica

Bignone, Inés; Bolaños, Ricardo; Bramuglia, Guillermo; Abalos, Ivana; Debattista, Gabriela; De Leone, Héctor (†); Giarcovich, Silvia; Granero, Gladys; Niselman, Ada Viviana; Pano, Viviana; Pesce, Graciela; Pesce, Guido; Peretti Mariana; Rey, Andrea; Romañuk Carolina; Seoane, Martín; Sperandeo, Norma; Steeman, Gabriela; Torres, Adriana; Viñas, María Alicia.

Colorantes, Excipientes y Aditivos

Brunet, Noemí; Bustos, Mónica; Ciura, Juan M. Emilio; Corseti, Héctor; Dabbene, Viviana; Dobrecky, José; Ferrari, Jorge; Jacobi, Carlos; Rivas, Viviana; Rubio García, Rodolfo; Taschetti, Mabel; Trokán, Francisco; Vallese, María Cristina.

Controles Toxicológicos

Araldi, Héctor (†); Bindstein, Edith; Bulgach, Delia; Cereceto Marina, Fulginiti, Ana Susana; Gruñeiro, Elena; López, Clara; Pazos, Liliana; Pico, José Carlos; Quiroga, Pablo; Rodriguez Carolina, Rodriguez Yanina; Roses, Otmaro; Salseduc, Marta; Santiesteban, Raquel.

Estabilidad y Envases

Ariosti, Alejandro; Blanco, Mirta; Briñon, Margarita; Gorisknik, Adriana; Gruc, Olga; Alejandra; Mandrile, Alejandra; Nudelman, Norma; Pico, Guillermo; Pilatti, Carina; Riera, Mónica; Spinetto, Marta; Sandrone, Ariel; Sánchez, Eduardo; Tamasi, Diego.

Farmacia Hospitalaria

Bernal Castro, Federico; Bernavei, Alicia; Buontempo, Fabian; Elías, Mónica; Fernandez, María Cristina; Drunday, Fabian; Fernández, Fillinger, Ester, María Laura; García, Angélica;

Hermida, Miguel; Iglesias, Fabiana; Lagomarsino, Eduardo; Mato, Gabriel; Melero, Marcia; Menéndez, Ana María; Montemerlo, Hugo; Pita Martin de Portela, María Luz; Raviolo, Rodolfo; Rodríguez, Luis A.; Slobodianik de Gurevich, Haydeé; Soifer, Graciela.

Farmacia Oficial

Alvárez, Jorgelina; Andiñach, Guido; Callegari, Fernando; Ferrero, Horacio; Fitanovich, Nora; Fridman, Gerardo; Garcia, Roberto; Gatica, Karina; Gomez, Juan; Gonzalez, Ana María; Julián, Silvia; Kleinlein, Patricia; López de Souza, María del Carmen; Lopez, Guillermo; Maino, Héctor; Mollardo, María Teresa; Mendez, Raquel; Moreno, Patricia; Nadal, Ana María; Paura, Andrea; Perez González, Rocio; Policelli, Gabriela; Quijano, Rubén Darío; Quiroga, Eduardo; Rencoret, María Mercedes; Ruggieri, José; Salas, Vivian; Tokumoto, Fernanda; Torres, Hugo; Uema, Sonia; Valverde, Javier.

Gases Medicinales

Arcos, Marcelo; Bernaus, Carlos; Cordera, Mónica; Elgadbán, Javier; Fischer, Alfredo; Marceca, Ernesto; Mildenberger, Maria Amalia; Sturtz Nelson; Testa, Graciela; Tourville, Antonio; Zavala, Estela.

Ingredientes Farmacéuticos Activos y Productos Terminados

Abelaira, Sara; Acevedo, Maria Eugenia; Alarcon, Gabriela; Alassia de Torres, Liliana; Avancini Noceti, Constanza; Barredo, Silvia; Barros, Carmen; Bava, Adriana; Berndt, Sandra; Bianchi, Dario; Bianchini, Romina; Blanc, José; Boggian, Dora; Brandolini, Andres; Bruno, Claudia; Cancio, Julieta; Capellino, Víctor; Castellano, Patricia; Centrone, Claudio; Constanza; Ceresole, Rita; Chiarelli, Silvia; Circón de Vidal, Noemí; Calandri, Daniela; Carro, Vanesa; Castaña, Eduardo; Cereijo, María Inés (†); Chiamonte, Eduardo; Chiarelli, Silvia; Ciccio, Enrique; Diez, María Ester; Dominguez, Silvia; Ercolano, Irma; Fariña, Mirta; Faroppa, María; Fasanella, Marta; Fernández Otero, Germán; Ferrari, Maria; Gabor, Juliana; Garcia, Marcela; Garnero, Claudia; Giornelli, Gabriela; Gonzalez Cecilia; González, Soledad; Gonzalez

Vidal, Noelia; Greco, Olga; Herr, Victoria; Hoyos de Rossi, María; Irurtia, Lucila; Jimenez Kairuz, Alvaro; Lamas, María Celina; Larrinaga, Alicia; Larghi Enrique; Luque, Graciela; Loba, Raul; Lavaselli, Susana; Lloret, M. Antonia; Lopez, Marcelo; Lucangioli, Silvia; Luna, Julio; Lynch, Josefina; Maggio, Rubén; Manghi, Marcela; Marinero, Bautista; Martinez, Juan L.; Meneghini, Alejandro; Milazzo, Cecilia; Montes de Oca, Federico; Nacucchio, Marcelo; Ortega, Claudia; Palacios, Marcelo Luis; Palacios de Ortiz, Sara; Perez, Vanina; Pinet, Ana María; Piñeyro, Luisa; Ponce, Claudia; Porta, Raúl; Pozzo, María del Carmen; Prado, Hector; Quatrocchi, Oscar; Quijano, Ruben; Quiroga, Gladys; Raviolo, Mónica; Rivas, Raúl; Robles, Juan; Ricchiuti, Andrea; Roberto, Mónica; Rosasco, María Ana; Saavedra, Abel; Saint Martin, Eduardo; Sakson, Mario; Salomon, Claudio; Sanpedro, Pura; Safierowicz, Rosa; Scala, Mariela; Sedeño, Cristina; Segall, Adriana; Serrao, Rosa; Simionato, Laura; Soto, Pablo; Sproviero, Jorge; Suarez, Marcelo; Szeliga, María; Tombari, Dora; Valente, Gladys; Vazquez, Ana; Vega, Julio César; Varela López, Ramón; Vessuri, María; Vidal, Noelia; Yapur, Gustavo; Zan, Mercedes; Zinni, Elvira; Zoppi, Ariana; Zubata, Patricia.

Medicamentos Herbarios

Agnese, Alicia; Amat, Aníbal; Bucciarelli, Alejandro; Cabrera, José Luis; Chico, Sandra; Debenedetti, Silvia; Del Vitto, Luis Angel; Flores, María Luján; Gattuso, Martha; Gattuso, Susana; Gurni, Alberto; Lopez, Paula; Nadinic, Elena; Padula, Laura Z.; Petenatti, Elisa; Rizzo, Inés; Rondina, Rubén; Schvarzberg, Nora; Skliar, Mario; Spegazzini, Etile; Wagner, Marcelo; Wilson, Erica; Zeichen, Rita.

Microbiología

Albesa de Eraso, Inés; Arakaki, Regina; Balanian, Silvia Gladys; Belixán, Norma; Calvete, Javier; Cerra, Hector; Frade, Horacio; Franco, Mirta; Garcia, Carolina; Giraudo, Federico; Gutkin, Gabriel; Lagomarsino, Monica; Magariños María del Carmen, Pietrasanta, Beatriz; Raffo Palma, Martha; Salazar, Germán; Sordelli, Daniel; Stagnaro, Stella Maris; Telli, Herminia; Teves, Sergio; Torno, Graciela; Vivas, Ariel.

Productos Biológicos y Biotecnológicos

Albertengo, María Elisa (†); Aprea, Patricia; Barravecchia de Dehó, Martha; Brero, María Luisa; Caminos, Andrea; Copello, Cecilia; Dabsys,

Susana; Dokmetjian, José; Drucaroff, María Alejandra; Cascone; Corley, Esteban; Criscuolo, Marcelo; Esnaola, María Margarita; Fraga, Griselda; Francinelli, Luisa; García, Salvador; García Franco, Susana; Giampaolo, Beatriz; Gorzalczany, Susana; Goyogana, Francisco; Iglesias, Sergio; Mammarella, Carlos; Mondelo, Nélida; Nisenbaum, Isaac; Oliva, Liliana; Ostrowski, Héctor; Pardo, Verónica; Perez, Analia (†); Pombo, María Luz; Rodríguez, María Eugenia; Rossi, Marina; Seigelchifer, Mauricio; Sobrero, Cecilia; Yantorno, Osvaldo. Zarzur, Jorge.

Productos Médicos

Benitez, Sergio; Carbone, Nora; Costanzo, Ricardo; De Rose, María; Gago, Daniel; Gonzalez, María Celeste; Graña, Nora; Graziano, María Del Carmen; Herrera, Fanny; Iervasi, Liliana; Metz, Rita; Mosconi, Andrea; Peralta, Laura; Saba, Fernando; Sager de Agostini, Helga; Sialino, Rodolfo; Staravijosky, Alejandra; Tarletta, Patricia; Olivera de O'Connell, Lucía.

Radiofármacos

Aletti, Sabrina; Baigorria, Sergio; Bergoc, Rosa; Boccio, José; Cañelas, Carlos; Caro, Ricardo; Duran, Adrián; Fraga de Suarez, Amanda; Furnari, Juan Carlos; Nicolini, Jorge; Ruty Solá, Gisela; Samson, José Cembal; Zubillaga, Marcela.

Secretaría Técnica

Assalone, Melina Isabel; Dal Mas, Melina Andrea; De Angelis, María Celeste.

Revisores Técnicos

Compagnucci, María Eugenia; Gear, Jorgelina; Martinez, Andrea Verónica; Martinez, Valeria Soledad.

Agradecimientos

Silvia Boni, Patricia Zubata, Silvia Lavaselli, Soledad Risso Patrón y Giovanna Sibay Nughes por su colaboración en el capítulo 1050. *Formas Farmacéuticas*.

Ana María Chan y María José Arrechea por su colaboración en el capítulo 345. *Ensayo de Salmonella/fracción microsomal (Test de Ames) para detección de mutagenicidad*.

A los Laboratorios que colaboraron en la presente Edición.

NUEVAS CONSIDERACIONES GENERALES

NUEVAS CONSIDERACIONES GENERALES

La Farmacopea es el texto oficial que codifica los principios activos, excipientes y productos farmacéuticos y contiene las especificaciones que éstos deben cumplir para demostrar su calidad y resguardar la salud de la población.

Generalidades

Estas consideraciones generales se aplicarán a las monografías, capítulos generales u otros textos incluidos en esta Farmacopea.

La expresión “*Oficial*” significa “*de la Farmacopea Argentina*” y se refiere a cualquier título, sustancia, preparación o ensayo incluido en las monografías y capítulos.

Las iniciales *FA*, acompañando al nombre oficial en el rótulo de un producto, indica que el mismo cumple con las especificaciones de la Farmacopea Argentina, aunque esto no constituye una certificación por parte de la misma.

El uso del título de una monografía supone que la sustancia, preparación o producto así designado se ajusta a las especificaciones de la monografía correspondiente. Tales referencias en los textos de la Farmacopea se indican mediante el título de la monografía en letra cursiva.

Tanto las monografías como los capítulos generales pueden contener excepciones a estas Consideraciones Generales, las mismas serán señaladas explícitamente, al igual que el procedimiento a seguir en cada caso. Para destacar la existencia de excepciones, se agregará la expresión: “*A menos que se especifique de otro modo*”. Asimismo, en caso de ausencia de una excepción explícita, las expresiones deberán interpretarse como se indica en este documento.

Los ensayos y valoraciones descriptos son los métodos oficiales sobre los cuales se fundamentan las especificaciones de la Farmacopea.

Para evitar repetir instrucciones comunes a un ensayo determinado, en las monografías, se establecen los requisitos en forma abreviada, indicando el nombre del capítulo correspondiente con un número de orden asignado entre los símbolos <y>, como por ej. <100>. *Cromatografía*, que luego es apropiadamente desarrollado en la sección *Métodos Generales de Análisis*.

Todas las declaraciones contenidas en las monografías, con las excepciones dadas más adelante, constituyen normas para las sustancias oficiales. Una sustancia es de calidad Farmacopea

Argentina cuando cumple con todos los requisitos establecidos en la monografía respectiva.

Los ensayos elegidos se han ideado para detectar o determinar las impurezas más significativas y para fijar el contenido límite de aquellas.

Definiciones

Medicamento: toda preparación o producto farmacéutico empleado para la prevención, diagnóstico y/o tratamiento de una enfermedad o estado patológico, o para modificar sistemas fisiológicos en beneficio de la persona a quien se le administra.

Principio activo o droga farmacéutica: toda sustancia química o mezcla de sustancias relacionadas, de origen natural o sintético, que poseyendo un efecto farmacológico específico, se emplea en medicina humana.

Especialidad medicinal o farmacéutica: todo medicamento, designado por un nombre convencional, sea o no una marca de fábrica o comercial, o por el nombre genérico que corresponda a su composición y contenido, preparado y envasado uniformemente para su distribución y expendio, de composición cuantitativa definida declarada y verificable, de forma farmacéutica estable y acción terapéutica comprobable.

Nombre genérico: denominación de un principio activo o droga farmacéutica o, cuando corresponda, de una asociación o combinación de principios activos a dosis fijas, adoptada por la Autoridad Sanitaria Nacional o, en su defecto, la denominación común internacional de un principio activo recomendada por la Organización Mundial de la Salud.

Excipiente: es toda sustancia de origen natural o sintética presente en una preparación farmacéutica incorporada sin propósito terapéutico.

Producto farmacéutico: es un preparado que contiene uno o varios principios activos y excipientes, formulados bajo una determinada forma farmacéutica. Suele emplearse “preparación farmacéutica” como sinónimo de “producto farmacéutico”, para referirse tanto al producto a granel como al producto terminado.

Forma Farmacéutica: Es el producto proveniente de la transformación de un principio activo o de una asociación de los mismos mediante procedimientos fármacotécnicos, a fin de conferirles características físicas y morfológicas particulares para su adecuada dosificación y

conservación, y que faciliten su administración y acción farmacológica.

Interpretación de los requisitos

Las normas farmacopeicas definen las características de un producto y establecen los ensayos que permiten demostrar que el mismo satisface los requisitos elementales de calidad, exigidos por la Autoridad Sanitaria.

Estas normas se aplican en cualquier momento de la vida útil del producto, desde la elaboración hasta su fecha de vencimiento.

No debe entenderse que el cumplimiento de las especificaciones establecidas en la monografía a muestras de un lote de producción asegure el cumplimiento de las normas farmacopeicas de todos los componentes del lote.

Los datos obtenidos a partir de estudios de validación del proceso de fabricación y de controles efectuados durante el proceso pueden dar mayores garantías del cumplimiento de los requisitos de una monografía en particular, que la información obtenida a partir del examen de un número determinado de unidades de ese lote.

Las tolerancias y límites expresados en las definiciones de las monografías son para compensar las variaciones inevitables durante la preparación del producto y el deterioro normal que se produce durante la vida útil del mismo.

Cuando se expresan límites en forma numérica, los límites superior e inferior de un intervalo incluyen esos dos valores y todos los valores intermedios.

Es recomendable para la liberación de lotes, establecer especificaciones más estrictas que las contempladas bajo el título *Definición*, a fin de que el contenido del producto se encuentre siempre dentro de los límites establecidos pese a la caída de título normal que puede ocurrir durante la vida útil del producto. Dichas especificaciones para la liberación deberían surgir a partir de los datos obtenidos durante el estudio de estabilidad del producto (ver 1040. *Estudios de estabilidad*).

Los límites expresados en las definiciones de las monografías y en las especificaciones de los ensayos, independientemente de que éstos estén expresados en porcentajes o valores absolutos, son valores significativos hasta el último dígito.

En los procedimientos volumétricos, se establece el peso de la sustancia analizada que equivale a cada mililitro del valorante estandarizado. En estos casos, se entiende que el número de cifras significativas en la concentración del valorante corresponde al número de cifras significativas en el peso de la sustancia analizada. Se deberán hacer las correcciones con respecto al

blanco para todas las valoraciones volumétricas según corresponda (ver 780. *Volumetría*).

Cuando el resultado deba calcularse con referencia a la *sustancia seca*, se hará uso de las condiciones de secado que se indiquen en el ensayo *Pérdida por secado* en la monografía. Cuando el resultado se calcule con referencia a la *sustancia anhidra*, el contenido de agua será determinado por el método descrito en la monografía bajo el subtítulo *Agua*.

Actualizaciones

Se considera una *actualización total* cuando todo el texto reemplaza al de la edición anterior; por ej., <590>. *Límite de metales pesados*, identificándose con un asterisco en el índice alfabético (*) y, en el título del texto actualizado, se encontrará la leyenda “*Actualización total*”. Se considera una *actualización parcial* cuando sólo una parte del texto ha sido modificada, identificándose con un asterisco en el índice alfabético (*) y, en el título del texto actualizado, se encontrará la leyenda “*Actualización parcial*”. En este último caso se encontrará subrayado el fragmento del texto que ha sido actualizado.

Expresión de concentraciones

Los porcentajes de concentración se expresan de la siguiente manera:

Porcentaje peso en peso (% p/p): expresa el número de gramos de un soluto en 100 g de solución o mezcla.

Porcentaje peso en volumen (% p/v): expresa el número de gramos de un soluto en 100 ml de solución, y se utiliza prescindiendo de que el diluyente en cuestión sea agua u otro líquido.

Porcentaje volumen en volumen (% v/v): expresa el número de mililitros de un soluto en 100 ml de solución.

La expresión *porcentaje* empleada sin otro calificativo significa: porcentaje peso en peso para mezclas de sólidos y semisólidos, porcentaje peso en volumen para soluciones o suspensiones de sólidos en líquidos, porcentaje volumen en volumen para soluciones de líquidos en líquidos y porcentaje peso en volumen para soluciones de gases en líquidos.

Sustancias de Referencia

Sustancia de Referencia Farmacopea Argentina [SR-FA] - Material de uniformidad comprobada, cuya monografía ha sido incluida en la *Farmacopea Argentina*, desarrollado a través de ensayos colaborativos avalados por esta Farmacopea y A.N.M.A.T – I.N.A.M.E, cuyo empleo se reserva a ensayos químicos y físicos específicos en los que se

comparan sus propiedades con las de un producto problema y que posee un grado de pureza adecuado para el uso al que se destina.

Cuando una *Sustancia de Referencia Farmacopea Argentina* no esté disponible, deberá emplearse aquélla equivalente reconocida por esta Farmacopea.

Sustancias auxiliares

Se denomina *Sustancia auxiliar* a cualquier sustancia incorporada a las preparaciones oficiales, tales como colorantes, conservantes saborizantes. La misma deberá ser inocua o agregada en una proporción que garantice la inocuidad, no tener influencia adversa sobre la seguridad y eficacia terapéutica de los principios activos y no interferir en los ensayos y valoraciones.

Sustancia oficial es aquella que no contiene sustancias auxiliares agregadas salvo que se permita específicamente en la monografía correspondiente. En este caso, el rótulo deberá indicar los nombres y las cantidades de las sustancias auxiliares agregadas.

Colorantes: son sustancias auxiliares incorporadas a las preparaciones oficiales exclusivamente para dar color. Deberán satisfacer las especificaciones establecidas (ver 50. *Colorantes de uso farmacéutico*).

Conservantes: son sustancias auxiliares que se agregan a las preparaciones oficiales para protegerlas de la contaminación microbiana. La expresión “*conservante antimicrobiano apropiado*” implica que puede agregarse al preparado una sustancia auxiliar, siempre que cumplan con las especificaciones establecidas (ver 80. *Conservantes*).

Reactivos

La realización correcta de ensayos y valoraciones de esta Farmacopea, así como la obtención de resultados reproducibles y confiables, depende de la calidad de los reactivos empleados.

Todos los reactivos requeridos para los ensayos y valoraciones se definen en *Reactivos y Soluciones*.

Abreviaturas

La sigla *SR-FA* corresponde a *Sustancia de referencia de la FA*.

Las siglas (*SC*) y (*SR*) corresponden a *Solución Colorimétrica* y *Solución de Reactivo*, respectivamente indicadas en *Reactivos y Soluciones*.

La sigla (*SV*) corresponde a *Solución Volumétrica* e indica que tal solución está estandarizada de acuerdo con las instrucciones

dadas en la monografía respectiva o bajo el título *Soluciones volumétricas en Reactivos y Soluciones*.

La sigla (*SL*) corresponde a *Solución Límite* e indica que dicha solución es empleada para ensayos límite.

Agua

La expresión agua, empleada sin otra calificación significa *Agua purificada* y agua libre de dióxido de carbono, es *Agua purificada* que ha sido calentada a ebullición durante al menos 5 minutos y enfriada en forma tal de evitar la absorción de dióxido de carbono atmosférico.

Agua purificada estéril - Es el *Agua purificada* esterilizada. Se emplea en la preparación de formas farmacéuticas líquidas no parenterales en las que se requiera una forma estéril de *Agua purificada*.

Agua para inyectables - La fuente de agua es agua potable, previamente purificada y sometida a destilación u ósmosis reversa de doble paso. Debe cumplir con todos los requisitos de *Agua purificada* y además con los requisitos del ensayo de endotoxinas bacterianas (ver 330. *Ensayo de endotoxinas bacterianas*).

Agua estéril para inyectables - Es *Agua para inyectables* esterilizada. Se emplea principalmente como solvente de productos parenterales.

Agua bacteriostática para inyectables - Es *Agua estéril para inyectables* a la cual se le ha agregado uno o varios conservantes apropiados. Se utiliza como solvente de preparados parenterales. Puede envasarse en envases monodosis o multidosis de un tamaño no mayor a 30 ml.

Agua estéril para irrigación - Es *Agua para inyectables* esterilizada en envases monodosis de más de 1 litro destinados a una rápida descarga del contenido. No necesita cumplir con el ensayo 650. *Partículas en inyectables*.

Agua estéril para inhalación - Es *Agua para inyectables* envasada en envases monodosis no mayores a 20 ml y esterilizada. Se emplea en nebulizadores y en la preparación de soluciones para nebulizar.

Solución fisiológica

Cuando en las monografías o capítulos generales se indique *Solución fisiológica* emplear una solución de cloruro de sodio al 0,9 % en agua purificada.

Solución fisiológica estéril - Es una solución de cloruro de sodio al 0,9 % en agua para inyectables que cumple con los requisitos de 370. *Ensayo de Esterilidad*.

Solución fisiológica para nebulizar - Es una solución de cloruro de sodio al 0,90 % en agua purificada preparada sin el agregado de

conservantes, conservada en envases monodosis de hasta 20 ml, con ausencia de gérmenes revivificables en un mililitro y en cuyo rótulo se indica: “*Solución fisiológica para nebulizar. No inyectable*”.

MONOGRAFÍAS

Fórmula Química

Cuando se conoce la composición química de una sustancia oficial, se especifica a título informativo la fórmula molecular y desarrollada, el peso molecular y el número CAS (Chemical Abstracts Service). Esta información se refiere a la sustancia químicamente pura y no se considera un indicador de la pureza del material oficial.

Cuando se especifica la configuración estereoquímica absoluta, se emplean los sistemas de designación propuestos por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) *R/S* y *E/Z*.

El nombre químico será otorgado según las reglas propuestas por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC).

Caracteres Generales

Las afirmaciones comprendidas bajo el subtítulo *Caracteres generales* referidas a términos como

inodoro, prácticamente inodoro, con un débil olor característico o expresiones semejantes, se aplican al examen después de la exposición al aire durante 15 minutos de un envase recientemente abierto del producto (envases que contengan no más de 25 g) o de una porción de aproximadamente 25 g del producto (en caso de envases más grandes) que haya sido trasladada de su envase a un cristizador, con una capacidad de aproximadamente 100 ml. Solo se hará mención a este tipo de características cuando la misma sea un elemento relevante en la descripción del principio activo.

Solubilidad

El término parcialmente soluble se emplea en el caso de una mezcla en la que sólo una parte de sus componentes se disuelve. El término miscible se emplea para describir un líquido que es miscible en todas las proporciones con el solvente indicado.

Las indicaciones de solubilidad que figuran bajo el epígrafe *Caracteres generales* se expresan en términos cuyo significado, referido a una temperatura entre 15 y 30 °C, es el siguiente:

<i>Término descriptivo</i>	<i>Volúmenes aproximados de solvente en mililitros por gramo de sustancia</i>
Muy soluble	Inferior a 1
Fácilmente soluble	De 1 a 10
Soluble	De 10 a 30
Moderadamente soluble	De 30 a 100
Poco soluble	De 100 a 1.000
Muy poco soluble	De 1.000 a 10.000
Prácticamente insoluble	Más de 10.000

Identificación

Los ensayos de la Farmacopea que figuran después del subtítulo *Identificación* no están destinados a proporcionar una confirmación completa de la estructura química o composición del producto; su objeto es confirmar que el producto se ajusta a la descripción dada en el rótulo del envase. Cuando un producto no satisface los requisitos de un ensayo de identificación descripto, indica que el mismo no cumple con las especificaciones. Otros ensayos o especificaciones en la monografía a menudo contribuyen a establecer o confirmar la identidad del producto ensayado.

A menos que se indique lo contrario en la monografía individual, todos los ensayos identificatorios son de carácter obligatorio y por ende, necesarios para demostrar que el producto cumple con la descripción dada en el rótulo.

Ensayos y valoraciones

Los ensayos y las valoraciones descritas en esta Farmacopea constituyen los métodos oficiales de análisis. Se podrá emplear ensayos alternativos, previamente validados (ver 1130. Validación de métodos analíticos), si éstos demuestran otorgar ventajas desde el punto de vista de la exactitud, precisión, sensibilidad, selectividad o simplificar el procedimiento sin modificar los atributos anteriores. Sin embargo, en caso de indecisión o litigio, los ensayos descriptos en esta Farmacopea serán los definitivos.

La concentración de impurezas establecida en ciertos ensayos se expresa entre paréntesis como porcentaje o partes por millón (ppm). En el caso que corresponda, el cumplimiento de este ensayo

será necesario para establecer la conformidad de un producto. Cuando corresponda, deberán realizarse análisis complementarios según se indica más abajo en *Atributos adicionales*.

Los materiales volumétricos, pesas y balanzas deberán ajustarse a las especificaciones establecidas en los capítulos <620>. *Materiales volumétricos* y <690>. *Pesas y balanzas*.

Cuando en un ensayo o valoración se indique que se debe examinar una cierta cantidad de sustancia o un número exacto de unidades de dosificación, la cantidad especificada representa un número mínimo que se elige únicamente para facilitar la manipulación analítica. Esto de ninguna manera limita la cantidad total de material a emplear.

Procedimientos

En todos los ensayos descritos en esta Farmacopea, se deberá cumplir estrictamente con las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL).

La utilización de las siguientes expresiones se refieren a:

Blanco: cuando se indique que se deben hacer las correcciones necesarias por medio de una determinación con un control, tal determinación se hará empleando las mismas cantidades de los reactivos tratados de igual manera que la solución o mezcla que contiene la sustancia bajo valoración o ensayo, pero omitiendo dicha sustancia.

Baño de agua: cuando se indique el empleo de *baño de agua*, se empleará un baño de agua a ebullición salvo que se indique una temperatura distinta.

Baño de vapor: cuando se indique el empleo de *baño de vapor*, podrá emplearse la exposición al vapor vivo fluente u otra forma de calor regulado, a una temperatura equivalente a la del vapor fluente.

Cepas microbianas: cuando se cita una *cepa microbiana* y se la identifica por el número de catálogo ATCC (American Type Culture Collection) o de otra colección similar, la cepa específica se empleará directamente o, si se subcultiva, se emplearán no más de cinco pasajes a partir de la cepa original.

Comparación de color: cuando se indique una *comparación visual de color o de turbidez*, deberán emplearse tubos de comparación de fondo plano (tubos de Nessler) cuyas medidas internas se correspondan lo más estrechamente posible. Para la comparación del color, los tubos en posición vertical deberán ser observados longitudinalmente a lo largo del tubo con una fuente de luz difusa sobre un fondo blanco, mientras que para la comparación de turbidez deberán ser observados transversalmente, colocados sobre un fondo oscuro,

con ayuda de una fuente luminosa que los ilumine lateralmente.

Cuantitativamente y en etapas: cuando se indique que una solución debe ser diluida cuantitativamente y en etapas, una porción medida con exactitud será disuelta en agua u otro solvente en la proporción indicada en uno o más pasos. La elección del material volumétrico a emplearse deberá tener en cuenta los errores relativamente grandes que generalmente se asocian a materiales volumétricos de volumen pequeño (ver 620. *Materiales volumétricos*).

Densidad relativa: cuando no se indique lo contrario, la densidad relativa se calculará como la relación entre el peso de un volumen determinado de una sustancia en el aire a 25 °C y el peso de un volumen igual de agua a esa misma temperatura.

Desecador: la expresión *en un desecador* especifica el empleo de un recipiente perfectamente cerrado, de tamaño y forma apropiados, que mantenga una atmósfera de bajo contenido de humedad mediante gel de sílice u otro desecante apropiado.

Filtrar: cuando se indique filtrar, sin otra calificación, se entenderá que el líquido debe ser filtrado a través de papel de filtro apropiado o con un medio equivalente de modo que el filtrado sea claro.

Ignición hasta peso constante: significa que deberá continuarse la ignición a 800 ± 25 °C a menos que se indique de otro modo, hasta que dos pesadas consecutivas no difieran en más de 0,50 mg por gramo de sustancia ensayada, haciendo la segunda pesada después de un período de 15 minutos de ignición adicional.

Indicador: cuando una solución de reactivo se utilice como indicador, se agregarán aproximadamente 0,2 ml o 3 gotas de la solución, generalmente cerca del punto final, a menos que se indique de otro modo.

Medidas de presión: el término *mm Hg* empleado en referencia a mediciones de presión se refiere al uso de un manómetro apropiado o un barómetro calibrado en términos de la presión ejercida por una columna de mercurio de la altura indicada.

Pesar y medir exactamente: las expresiones *pesar exactamente alrededor de* o *medir exactamente alrededor de* indican que se debe tomar una cantidad dentro de 100 ± 10 % del peso o volumen especificado. Sin embargo, el peso o volumen que se tome deberá ser determinado con exactitud y el resultado calculado sobre la base de la cantidad que se haya tomado. Se pueden tomar cantidades proporcionalmente mayores o menores que los pesos y volúmenes especificados, tanto para

la *Sustancia de Referencia* como para la sustancia en ensayo, siempre que la medida se tome con exactitud y que se ajusten a los pasos siguientes, para proporcionar concentraciones equivalentes a las descriptas. Expresiones tales como *25,0 ml* y *25,0 mg* se emplean en relación a medidas de volumen o de peso e indican que la cantidad debe ser *medida o pesada exactamente* dentro de los límites establecidos en los capítulos <620>. *Materiales volumétricos* o <690>. *Pesas y balanzas*.

Pipetas: cuando se indique el uso de una pipeta para medir un volumen, aquélla deberá cumplir con los requisitos establecidos en el capítulo <620>. *Materiales volumétricos* y deberá emplearse de manera que el error no exceda el límite establecido para una pipeta del tamaño especificado. Cuando se especifica el empleo de una pipeta, ésta puede sustituirse por una bureta apropiada que cumpla con los requisitos especificados en <620>. *Materiales volumétricos*.

Secado hasta peso constante: significa que deberá continuarse el secado a menos que se indique de otro modo, hasta que dos pesadas consecutivas no difieran en más de 0,50 mg por gramo de sustancia ensayada, haciendo la segunda pesada después de una hora adicional de secado; según la metodología establecida en la monografía correspondiente.

Soluciones: la expresión *1 en 10* significa que 1 parte en volumen de un líquido debe diluirse con, o 1 parte *en peso* de un sólido debe disolverse en suficiente solvente para que el volumen de la solución final sea de 10 partes en *volumen*.

La expresión *10:6:1* significa que los números respectivos de partes, en volumen, de los líquidos señalados deberán mezclarse, a menos que se indique de otro modo.

La expresión partes por millón (ppm) sin otra precisión, se refiere a peso con respecto a un millón de partes en peso.

Solventes: cuando no se menciona explícitamente el solvente, se entiende que la muestra es disuelta en agua.

Temperaturas: todas las temperaturas en esta Farmacopea se expresan en grados centígrados (Celsius) y todas las mediciones se hacen a 25 °C, a menos que se especifique de otro modo.

Tiempo límite: al efectuar ensayos y valoraciones se aguardará 5 minutos para que se produzca la reacción, a menos que se especifique de otro modo.

Vacío: el término *al vacío* especifica la exposición a una presión menor de 20 mm Hg, a menos que se indique de otro modo. Cuando se especifique en la monografía correspondiente la

dsecación al vacío sobre un desecante, se deberá emplear un desecador al vacío, una pistola para desecar al vacío u otro instrumento apropiado para este fin.

ATRIBUTOS ADICIONALES

Además de cumplir los requisitos de los ensayos de Sustancias relacionadas, Pureza cromatográfica y Límite de impurezas, descriptos en las monografías correspondientes, el análisis de las materias primas deberá complementarse mediante la búsqueda de impurezas de síntesis y sustancias relacionadas según su origen.

MÉTODOS GENERALES DE ANÁLISIS

Cada capítulo general es designado por un número de orden seguido del nombre del mismo. Estos capítulos que incluyen los requerimientos generales para ensayos y valoraciones son numerados de 1 a 990 y los capítulos que forman los textos de información general son numerados a partir de 1000.

UNIDADES DE POTENCIA BIOLÓGICA

Para las sustancias que no puedan ser caracterizadas completamente por medios químicos o físicos, podrá ser necesario expresar la actividad en unidades de potencia biológica.

Las unidades de potencia biológica definidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) a través de Estándares Biológicos Internacionales y Preparaciones Biológicas de Referencia Internacionales son denominadas Unidades Internacionales (UI). Las unidades definidas en la *FA* son Unidades Internacionales y las monografías correspondientes se refieren a éstas.

Para los antibióticos cuya potencia se expresa en unidades, éstas son definidas por las correspondientes *Sustancias de referencia SR-FA*. Cada unidad es en general establecida, basada en la definición de la Unidad Internacional de la OMS. Sin embargo, para la mayoría de los antibióticos no son necesarias las unidades biológicas de potencia y su actividad se expresa en unidades métricas (microgramos o miligramos) en función de sustancias químicamente definidas descriptas en las monografías correspondientes.

ELABORACIÓN DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS

La elaboración de productos farmacéuticos deberá realizarse cumpliendo con la normativa

vigente de Buenas prácticas de fabricación, establecidas por la Autoridad Sanitaria y el producto resultante deberá cumplir con los requisitos técnicos establecidos en esta Farmacopea.

CONSERVACIÓN

Envases

Los requisitos farmacopeicos para el empleo de envases se especifican en las monografías correspondientes.

El empleo de las siguientes expresiones descriptas en esta Farmacopea se refieren a:

Envase con cierre inviolable: es aquél provisto de un dispositivo especial que revela inequívocamente si ha sido abierto.

Envase inactínico: es aquél que protege el contenido de los efectos de la luz, gracias a las propiedades específicas de los materiales con que está compuesto.

Envase bien cerrado: es el que evita el ingreso de sólidos extraños y la pérdida del contenido bajo las condiciones usuales de manejo, almacenamiento, distribución y transporte.

Envase de cierre perfecto: es aquél que protege el contenido de la contaminación con sustancias extrañas y evita la entrada de humedad, impidiendo la efervescencia, delicuescencia o evaporación bajo las condiciones usuales de manejo, almacenamiento, transporte, manteniendo su condición de cierre perfecto después de su manipulación.

Envase hermético: es aquel que no permite la entrada de sólidos, líquidos o gases en las condiciones usuales de manejo, almacenamiento, distribución y transporte.

Envase seguro para niños: es aquel que posee un mecanismo tal que dificulta su apertura directa. Dichos envases sólo pueden ser abiertos luego de recibir las instrucciones pertinentes.

Envase monodosis: es aquel que está diseñado para contener una cantidad de sustancia destinada a administrarse en una única dosis, inmediatamente después de abierto.

Envase multidosis: es aquel que permite la extracción de porciones sucesivas del contenido sin cambios en la potencia, calidad o pureza de la porción remanente.

Condiciones de almacenamiento

El almacenamiento de productos debe ser realizado en condiciones adecuadas de temperatura, humedad e iluminación de acuerdo con las instrucciones del fabricante, de manera de no afectar adversamente de forma directa o indirecta,

la calidad de los mismos. Este concepto debe extenderse a la distribución y transporte.

Las sustancias y las preparaciones descriptas deberán almacenarse a temperatura ambiente, a menos que se especifique de otro modo.

El empleo de las siguientes expresiones descriptas en esta Farmacopea se refieren a:

Almacenar en un freezer: corresponde al almacenamiento del producto a una temperatura establecida entre - 25 y - 10 °C.

Almacenar en un sitio frío: corresponde al almacenamiento del producto a una temperatura que no exceda los 8 °C. Una *heladera/refrigerador* es un sitio frío con una temperatura que se mantiene termostáticamente entre 2 y 8 °C.

Almacenar en un sitio fresco: corresponde al almacenamiento del producto a temperatura entre 8 y 15 °C. Las cámaras frías permiten obtener estas condiciones.

Almacenar a temperatura ambiente: corresponde al almacenamiento a temperatura entre 15 y 30 °C. Este concepto está relacionado al almacenamiento en depósitos de laboratorios de especialidades medicinales y distribuidoras.

Almacenar a temperatura ambiente controlada: corresponde al almacenamiento de un producto a temperatura termostáticamente controlada entre 20 y 25 °C.

En algunas monografías pueden indicarse las siguientes expresiones:

“Evitar almacenar en ambientes cálidos” definiendo *cálido* a temperatura entre 30 y 40 °C.

“Evitar el calor excesivo”, definiendo *calor excesivo* a temperatura superior a 40 °C.

“Evitar el congelamiento” en los casos en que el mismo ocasionara la pérdida de potencia o cambio en las características fisicoquímicas de un producto.

Indicaciones generales:

- No deben retirarse los medicamentos de sus envases primario y secundario.
- No deben exponerse los productos al sol ni a las temperaturas extremas.
- Se debe evitar almacenar los medicamentos en ambientes húmedos.
- No deben almacenarse medicamentos en heladera excepto que dicha condición se encuentre indicada en el rótulo, prospecto y/o envase.

ROTULADO

El rótulo de cada producto deberá establecer el contenido del o de los principios activos expresados en las monografías.

Cantidad de principio activo por unidad de dosificación: la potencia de un producto se expresa en el rótulo del envase como microgramos, miligramos, gramos, porcentaje del ingrediente, o unidad internacional terapéuticamente activa presente en la preparación.

Las formas farmacéuticas como cápsulas, comprimidos u otras formas de dosificación deberán rotularse de modo que expresen la cantidad de cada principio activo contenido en cada unidad de dosificación.

En el caso de líquidos de administración oral o sólidos para reconstituir, deberán rotularse en términos, como por ej., *cada 5 mililitros* del líquido o del preparado resultante.

Rotulado de electrolitos: la concentración y dosificación de electrolitos para terapias de reposición deberá especificarse en miliequivalentes-gramo (mEq).

Rotulado del contenido alcohólico: el contenido de alcohol en una preparación líquida deberá especificarse como % v/v de etanol.

Fecha de vencimiento: la fecha de vencimiento identifica el fin del período de vida útil del

producto, durante el cual el mismo deberá cumplir con los requisitos establecidos en la presente Farmacopea, siempre que se conserve en las condiciones de almacenamiento establecidas.

Todos los productos deberán exhibir la fecha de vencimiento en el rótulo y en su envase primario, la cual es asignada a través de estudios de estabilidad realizados para esa formulación en un envase predefinido y autorizado por la Autoridad Sanitaria. Cuando la fecha de vencimiento se indique como Mes/Año, la misma incluye hasta el último día del mes indicado.

UNIDADES DEL SISTEMA INTERNACIONAL (SI) Y EQUIVALENCIA CON OTRAS UNIDADES DE MEDIDA

Los nombres y símbolos empleados en la *Farmacopea Argentina* para las unidades de medición son los del Sistema Internacional de Unidades (SI), establecido por la Conferencia General de Pesas y Medidas. Comprende tres clases de unidades: unidades básicas, unidades derivadas y unidades complementarias.

Cantidad		Unidad	
Nombre	Símbolo	Nombre	Símbolo
Longitud	<i>l</i>	metro	M
Masa	<i>m</i>	kilogramo	Kg
Tiempo	<i>t</i>	segundo	S
Corriente eléctrica	<i>I</i>	amperio	A
Temperatura termodinámica	<i>T</i>	kelvin	K
Cantidad de sustancia	<i>n</i>	mol	Mol
Intensidad luminosa	<i>I_v</i>	candela	Cd

Unidades utilizadas con el SI

Cantidad	Unidad		Valor en unidades SI
	Nombre	Símbolo	
Tiempo	Minuto	<i>min</i>	1 min = 60 s
	Hora	<i>h</i>	1 h = 60 min = 3.600 s
	Día	<i>d</i>	1 d = 24 h = 86.400 s
Ángulo plano	Grado	°	1° = (π/180) rad
Volumen	Litro	<i>l</i>	1 l = 1 dm ³ = 10 ⁻³ m ³
Masa	Tonelada	<i>t</i>	1 t = 10 ³ kg
Frecuencia de giro	revolución por minuto	<i>rpm</i>	1 rpm = (1/60) s ⁻¹

Múltiplos y submúltiplos decimales de las unidades

Factor	Prefijo	Símbolo	Factor	Prefijo	Símbolo
10 ¹⁸	exa	<i>E</i>	10 ⁻¹	deci	<i>d</i>
10 ¹⁵	peta	<i>P</i>	10 ⁻²	centi	<i>c</i>

10^{12}	tera	T	10^{-3}	mili	m
10^9	giga	G	10^{-6}	micro	μ
10^6	mega	M	10^{-9}	nano	n
10^3	kilo	k	10^{-12}	pico	p
10^2	hecto	h	10^{-15}	femto	f
10^1	deca	da	10^{-18}	atto	a

Unidades SI utilizadas en la *Farmacopea Argentina* y su equivalencia con otras unidades

Cantidad		Unidad				Conversión de otras unidades en unidades SI
Nombre	Símbolo	Nombre	Símbolo	Expresión en unidades SI básicas	Expresión en otras unidades SI	
Número de onda	ν	uno por metro	1/m	m^{-1}		
Longitud de onda	λ	micrómetro	μm	10^{-6}m		
		nanómetro	Nm	10^{-9}m		
Frecuencia	ν	hertz	Hz	s^{-1}		
Área	A, S	metro cuadrado	m^2	m^2		
Volumen	V	metro cúbico	m^3	m^3		$1 \text{ ml} = 1 \text{ cm}^3 = 10^{-6}\text{m}^3$
Densidad (concentración de masa)	ρ	kilogramo por metro cúbico	kg/m^3	kg m^{-3}		$1\text{g}/\text{ml}=1\text{g}/\text{cm}^3=10^3\text{kg}/\text{m}^3$
Velocidad	v	metro por segundo	m/s	m s^{-1}		
Fuerza	F	newton	N	m kg s^{-2}		$1 \text{ dina} = 1 \text{ g cm s}^{-2} = 10^{-5}\text{N}$ $1 \text{ kp} = 9,80665 \text{ N}$
Presión	P	pascal	Pa	$\text{m}^{-1} \text{ kg s}^{-2}$	N m^{-2}	$1 \text{ dina}/\text{cm}^2 = 10^{-1}\text{Pa} = 10^{-1} \text{ N m}^{-2}$
						$1 \text{ atm} = 101,325 \text{ Pa} = 101,325 \text{ kPa}$
						$1 \text{ bar} = 105 \text{ kPa} = 0,1 \text{ Mpa}$
						$1 \text{ mmHg} = 133,322387 \text{ Pa}$
						$1 \text{ Torr} = 133,322368 \text{ Pa}$
$1 \text{ psi} = 6,894757 \text{ kPa}$						
Viscosidad absoluta	η	pascal segundo	Pa s	$\text{m}^{-1} \text{ kg s}^{-1}$	N s m^{-2}	$1 \text{ P} = 10^{-1} \text{ Pa s} = 10^{-1} \text{ N s m}^{-2}$ $1 \text{ cP} = 1 \text{ mPa s}$
Viscosidad cinemática	ν	metro cuadrado por segundo	m^2/s	$\text{m}^2 \text{ s}^{-1}$	$\text{Pa s m}^3 \text{ kg}^{-1}$ N m s kg^{-1}	$1 \text{ St} = 1 \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1} = 10^{-4} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$
Energía	W	joule	J	$\text{m}^2 \text{ km s}^{-2}$	N m	$1 \text{ erg} = 1 \text{ cm}^3 \text{ g s}^{-2} = 1 \text{ dina cm} = 10^{-1} \text{ J}$ $1 \text{ cal} = 4,1868 \text{ J}$
Potencia (flujo de radiación)	P	watio	W	$\text{m}^2 \text{ km s}^{-3}$	N m s^{-1} J s^{-1}	$1 \text{ erg}/\text{s} = 1 \text{ dina cm s}^{-1} = 10^{-7} \text{ W} =$ $10^{-7} \text{ N m s}^{-1} = 10^{-7} \text{ J s}^{-1}$
Dosis absorbida (energía radiante)	D	gray	Gy	$\text{m}^2 \text{ s}^{-2}$	J kg^{-1}	$1 \text{ rad} = 10^{-2} \text{ Gy}$
Potencial eléctrico (fuerza electromotriz)	U	volt	V	$\text{m}^2 \text{ kg s}^{-3} \text{ A}^{-1}$	W A^{-1}	
Resistencia eléctrica	R	ohm	Ω	$\text{m}^2 \text{ kg s}^{-3} \text{ A}^{-2}$	V A^{-1}	
Cantidad de electricidad	Q	coulomb	C	A s		
Actividad de un radionucléido	A	becquerel	Bq	s^{-1}		$1 \text{ Ci} = 37 \times 10^9 \text{ Bq} = 37 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$
Concentración molar	M	molaridad	mol/dm^3	10^3 mol m^{-3}		$1 \text{ mol}/\text{l} = 1 \text{ M} = 1 \text{ mol}/\text{dm}^3 = 10^3 \text{ mol m}^{-3}$

MONOGRAFÍAS
MATERIA PRIMA

FARMACOPEA ARGENTINA

SEGUNDO VOLUMEN

ÍNDICE GENERAL

Monografías de Materia Prima

Acetazolamida	Alopurinol
Acético, Ácido	Alquitrán Mineral
Acético, Ácido glacial	Altretamina
Acetilcisteína	Aluminio, Desecado Hidróxido de
Acetona	Amantadina, Clorhidrato de
Aciclovir	Amikacina
Agua para Inyectables	Amikacina, sulfato de
Agua Purificada	Amilorida, Clorhidrato de
Alanina	Aminocaproico, Ácido
Albendazol	Aminofilina
Alcanfor	Aminosalicílico, Ácido
Alcohol	Amiodarona, Clorhidrato de
Alcohol Absoluto	Amitriptilina, Clorhidrato de
Alcohol Benílico	Amlodipina, Besilato de
Alcohol Butílico	Amodiaquina
Alcohol Cetílico	Amoníaco Concentrado, Solución de
Alcohol Cetoestearílico	Amonio, Carbonato de
Alcohol Estearílico	Amoxicilina
Alcohol Isopropílico	Amoxicilina Sódica
Alcuronio, Cloruro de	Ampicilina
Alfentanilo, Clorhidrato de	Ampicilina Sódica
Algínico, Ácido	Anfotericina B
Algodón, Aceite de	Ascórbico, Ácido
Almidón de Maíz	Aspirina
Almidón de Papa	Atenolol
Almidón de Trigo	Atropina, Sulfato de
Almidón Glicolato Sódico	Azatioprina
Almidón Pregelatinizado	Azitromicina

Azul de Metileno	Calcio, Óxido de
Bacitracina	Calcio, Sacarato de
Bacitracina Cinc	Calcitriol
Bario, Sulfato de	Caolin
Beclometasona, Dipropionato de	Capreomicina, Sulfato de
Bencilo, Benzoato de	Captopril
Bencilpenicilina Benzatina	Carbamazepina
Bencilpenicilina Potásica	Carbidopa
Bencilpenicilina Procaína	Carbón Medicinal
Bencilpenicilina Sódica	Carbonato Sódico Hidrogenado
Benzalconio, Cloruro de	Carboplatino
Benzoico, Ácido	Carboximetilcelulosa Cálcica
Benzoílo Hidratado, Peróxido de	Carboximetilcelulosa Sódica
Betametasona	Carmustina
Betametasona, Acetato de	Carvedilol
Betametasona, Benzoato de	Cefadroxilo
Betametasona, Dipropionato de	Cefalexina
Betametasona, Fosfato Sódico de	Cefixima
Betametasona, Valerato de	Cefotaxima Sódica
Bezafibrato	Cefoxitina Sódica
Biperideno	Ceftazidima
Biperideno, Clorhidrato de	Ceftriaxona Sódica
Bisacodilo	Cefuroxima Axetilo
Bleomicina, Sulfato de	Cefuroxima Sódica
Bórico, Ácido	Celulosa Microcristalina
Bromazepam	Celulosa Polvo
Budesonida	Celulosa, Acetato de
Bupivacaina, Clorhidrato de	Celulosa, Acetofalato de
Busulfano	Cera Emulsionante
Butilhidroxianisol	Cetrimida
Butilhidroxitolueno	Cianocobalamina
Butilparabeno	Ciclofosfamida
Cafeína	Ciclopentolato, Clorhidrato de
Calamina	Cicloserina
Calcio, Fosfato Dibásico de	Ciclosporina
Calcio, Fosfato Tribásico de	Cilastina Sódica
Calcio, Gluconato de	Cimetidina
Calcio, Gluconato de, Calidad Inyectable	Cimetidina, Clorhidrato de

Cinc, Óxido de	Danazol
Cinc, Sulfato de	Dapsona
Ciprofloxacino	Deferoxamina, Mesilato de
Ciprofloxacino, Clorhidrato de	Desoxicorticosterona, Acetato de
Cisplatino	Dexametasona
Citarabina	Dexametasona, Acetato de
Cítrico Anhidro, Ácido	Dexametasona, Fosfato Sódico de
Cítrico Monohidrato, Ácido	Dexclorfeniramina, Maleato de
Claritromicina	Dextrano 40 Calidad Inyectable
Clofazimina	Dextrano 70 Calidad Inyectable
Clomifeno, Citrato de	Dextrometorfano
Clomipramina, Clorhidrato de	Dextrometorfano, Bromhidrato de
Clonazepam	Diatrizoato de Meglumina
Cloral, hidrato de	Diatrizoato de Sodio
Clorambucilo	Diatrizoico, Ácido
Cloranfenicol	Diazepam
Cloranfenicol, Palmitato de	Diazóxido
Cloranfenicol, Succinato Sódico de	Diclofenaco Sódico
Clorfeniramina, Maleato de	Dicloxacilina Sódica
Clorhídrico, Ácido	Dietilcarbamazina, Citrato de
Clorhídrico Diluido, Ácido	Dietilo, Ftalato de
Cloroquina	Dietiltoluamida
Cloroquina, Fosfato de	Difenhidramina, Clorhidrato de
Cloroquina, Sulfato de	Digoxina
Clorotiazida	Diloxanida, Furoato de
Cloroxilenol	Diltiazem, Clorhidrato de
Clorpromazina, Clorhidrato de	Dimercaprol
Clortalidona	Dipiridamol
Clotrimazol	Dipirona
Cloxacilina Sódica	Ditranol
Cobre, Sulfato de	Dopamina, Clorhidrato de
Codeína	Dorzolamida, Clorhidrato de
Codeína, Fosfato de	Doxiciclina
Colchicina	Doxiciclina, Hiclato de
Cromoglicato Sódico	Doxorubicina, Clorhidrato de
Croscarmelosa Sódica	Econazol, Nitrato de
Crospovidona	Edetato Cálcico Disódico
Dactinomicina	Edrofonio, Cloruro de

Efedrina, Clorhidrato de	Fentanilo
Enalapril, Maleato de	Fentanilo, Citrato de
Enalaprilat	Ferroso, Fumarato
Epinefrina	Ferroso, Gluconato
Epinefrina, Tartrato Ácido de	Ferroso, Sulfato
Epirubicina, Clorhidrato de	Fitomenadiona
Ergocalciferol	Flucitosina
Ergometrina, Maleato de	Fluconazol
Ergotamina, Mesilato de Dihidro	Flufenazina, Decanoato de
Ergotamina, Tartrato de	Flufenazina, Enantato de
Eritromicina	Flumazenilo
Eritromicina, Estearato de	Flunitrazepam
Eritromicina, Estolato de	Fluoresceína
Eritromicina, Etilsuccinato de	Fluoresceína sódica
Eritromicina, Lactobionato de	Fluorouracilo
Espectinomicina, Clorhidrato de	Fluoximesterona
Espiramicina	Flurbiprofeno
Espironolactona	Flutamida
Esteárico, Ácido	Fólico, Ácido
Estradiol	Foscarnet Sódico Hexahidrato
Estreptomina, Sulfato de	Furazolidona
Estriol	Furosemida
Etambutol, Clorhidrato de	Ganciclovir
Éter Anestésico	Gelatina
Etilcelulosa	Gemcitabina, Clorhidrato de
Etilendiamina	Gentamicina, Sulfato de
Etilo, Acetato de	Glibenclamida
Etilparabeno	Glicerilo, Monoestearato de
Etinilestradiol	Glicerina
Etionamida	Glipizida
Etosuximida	Glucosa
Fenitoína	Griseofulvina
Fenitoína Sódica	Haloperidol
Fenobarbital	Halotano
Fenobarbital Sódico	Hidralazina, Clorhidrato de
Fenol	Hidroclorotiazida
Fenoximetilpenicilina	Hidrocortisona
Fenoximetilpenicilina Potásica	Hidrocortisona, Acetato de

Hidrocortisona, Hemisuccinato de	Lidocaína, Clorhidrato de
Hidrocortisona, Succinato Sódico de	Liotironina Sódica
Hidrocortisona, Valerato de	Litio, Carbonato de
Hidroxicloroquina, Sulfato de	Lomustina
Hidroxiopropilmetilcelulosa	Loperamida, Clorhidrato de
Hidroxiurea	Lorazepam
Hioscina, Butilbromuro de	Lovastatina
Homatropina, Bromhidrato de	Magnesio, Carbonato de
Homatropina, Metilbromuro de	Magnesio, Cloruro de
Ibuprofeno	Magnesio, Estearato de
Idarubicina, Clorhidrato de	Magnesio, Hidróxido de
Idoxuridina	Magnesio, Sulfato de
Ifosfamida	Manitol
Imipramina, Clorhidrato de	Mebendazol
Iodo	Medroxiprogesterona, Acetato de
Iodo Povidona	Mefloquina, Clorhidrato de
Iohexol	Megestrol, Acetato de
Iopanoico, Ácido	Meglumina
Ipratropio, Bromuro de	Melfalán
Isoniazida	Menadiona
Isosorbida Diluido, Dinitrato de	Mercaptopurina
Isosorbida Diluido, Mononitrato de	Meropenem
Itraconazol	Mesna
Ivermectina	Metadona, Clorhidrato de
Ketamina, Clorhidrato de	Metformina, Clorhidrato de
Ketoconazol	Metilcelulosa
Ketorolaco Trometamina	Metildopa
Láctico, Ácido	Metilparabeno
Lactosa Anhidra	<i>N</i> -metilpirrolidona
Lactosa Monohidrato	Metilprednisolona
Lactulosa	Metilprednisolona, Acetato de
Lamivudina	Metilprednisolona, Hemisuccinato de
Leucovorina Cálrica	Metilprednisolona, Succinato Sódico de
Levamisol, Clorhidrato de	Metimazol
Levodopa	Metionina <i>DL</i>
Levonorgestrel	Metoclopramida, Clorhidrato de
Levotiroxina Sódica	Metotrexato
Lidocaína	Metronidazol

Metronidazol, Benzoato de
Miconazol
Miconazol, Nitrato de
Midazolam
Misoprostol
Mitomicina C
Mitoxantrona, Clorhidrato
Mometasona, Furoato de
Morfina, Clorhidrato de
Morfina, Sulfato de
Mupirocina
Nafazolina, Clorhidrato de
Nalidixico, Ácido
Naloxona, Clorhidrato de
Neomicina, Sulfato de
Neostigmina, Bromuro de
Neostigmina, Metilsulfato de
Niacina
Niclosamida
Nicotinamida
Nifedipina
Nimodipina
Nistatina
Nitrazepam
Nitrofural
Nitrofurantoína
Nitroglicerina Diluida
Nitroso, Óxido
Noretisterona
Noretisterona, Acetato de
Norfloxacin
Norgestrel
Nortriptilina, Clorhidrato de
Oleico, Ácido
Oliva, Aceite de
Ondansetrón, Clorhidrato de
Ortofosfórico Ácido
Oxibutinina, Clorhidrato de

Oxígeno
Pamidronato Sódico
Pancuronio, Bromuro de
Paracetamol
Pectina
Pilocarpina, Clorhidrato de
Pilocarpina, Nitrato de
Pirantel, Pamoato de
Pirazinamida
Piridostigmina, Bromuro de
Piridoxina, Clorhidrato de
Pirimetamina
Piroxicam
Plata, Nitrato de
Polimixina B, Sulfato de
Potasio, Carbonato de
Potasio, Cloruro de
Potasio, Fosfato Dibásico de
Potasio, Hidróxido de
Potasio, Ioduro de
Potasio, Permanganato de
Povidona
Prazicuantel
Prednisolona
Prednisolona, Acetato de
Prednisolona, Fosfato Sódico de
Prednisolona, Hemisuccinato de
Prednisona
Primaquina, Fosfato de
Procainamida, Clorhidrato de
Progesterona
Proguanil, Clorhidrato de
Prometazina, Clorhidrato de
Propilenglicol
Propiliodona
Propilparabeno
Propiltiouracilo
Propofol

Propranolol, Clorhidrato de
Pseudoefedrina, Clorhidrato de
Quinidina, Sulfato de
Quinina, Clorhidrato de
Quinina, Sulfato de
Ranitidina, Clorhidrato de
Resorcinol
Riboflavina
Riboflavina, 5' Fosfato Sódico de
Rifampicina
Sacarina
Sacarina Cálcica
Sacarina Sódica
Salbutamol
Salbutamol, Sulfato de
Salicílico, Ácido
Saquinavir, Mesilato de
Sésamo, Aceite de
Silicio, Dióxido de
Silicio Coloidal, Dióxido de
Simvastatina
Sodio, Acetato de
Sodio, Benzoato de
Sodio, Carbonato de
Sodio, Citrato de
Sodio, Cloruro de
Sodio, Fluoruro de
Sodio, Fosfato Dibásico de
Sodio, Hidróxido de
Sodio, Lauril Sulfato de
Sodio, Metabisulfito de
Sodio, Nitrito de
Sodio, Tartrato de
Sodio, Tiosulfato de
Sórbico, Ácido
Sorbitol
Succínico, Ácido
Sucralfato

Sulbactam Sódico
Sulfacetamida
Sulfadiazina
Sulfadiazina de Plata
Sulfadiazina Sódica
Sulfamerazina
Sulfametoxazol
Sulfasalazina
Sulfúrico, Ácido
Suxametonio, Cloruro de
Talco
Tamoxifeno, Citrato de
Tartárico, Ácido
Teofilina
Testosterona, Cipionato de
Testosterona, Propionato de
Tetracaína
Tetracaína, Clorhidrato de
Tetraciclina
Tetraciclina, Clorhidrato de
Tiabendazol
Tiamina, Clorhidrato de
Tiamina, Mononitrato de
Timolol, Maleato de
Tioconazol
Tioguanina
Tiopental Sódico
Tioridazina
Tiotepa
Tranilcipromina, Sulfato de
Triamcinolona
Trifluoperazina, Clorhidrato de
Trifluridina
Trimetoprima
Tropicamida
Urea
Valproico, Ácido
Vecuronio, Bromuro de

Verapamilo, Clorhidrato de

Vinblastina, Sulfato de

Vindesina, Sulfato de

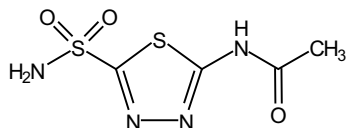
Vitamina A

Warfarina Sódica

Zalcitabina

Zidovudina

ACETAZOLAMIDA



$C_4H_6N_4O_3S_2$

PM: 222,2

59-66-5

Definición - Acetazolamida es *N*-(5-Sulfamoil-1,3,4-tiadiazol-2-il)acetamida. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_4H_6N_4O_3S_2$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o blanco amarillento. Inodoro. Moderadamente soluble en agua prácticamente a ebullición; poco soluble en alcohol; muy poco soluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Acetazolamida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción Infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Disolver aproximadamente 100 mg de Acetazolamida en 5 ml de hidróxido de sodio 1 N. Agregar 5 ml de una solución preparada disolviendo 100 mg de clorhidrato de hidroxilamina y 80 mg de sulfato cúprico en 10 ml de agua. Mezclar y calentar esta solución en un baño de vapor durante 5 minutos: se debe producir una solución transparente de color amarillo brillante y no se debe formar un precipitado denso ni desarrollar un color pardo oscuro luego de efectuar la mezcla o el calentamiento.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,5 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Digerir 1,5 g de Acetazolamida con 75 ml de agua aproximadamente a 70 °C durante 5 minutos. Enfriar a temperatura ambiente y filtrar: una porción de 25 ml del filtrado no debe presentar más cloruro que el que corresponde a 0,10 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,014 %).

Sulfato - Una porción de 25 ml del filtrado preparado en el ensayo para *Cloruro* no debe presentar más

sulfato que el que corresponde a 0,20 ml de ácido sulfúrico 0,020 N (0,04 %).

Límite de selenio <610>

No más de 0,003 %; determinado sobre 200 mg de Acetazolamida.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Sustancias reductoras de plata

Humedecer 5,0 g de Acetazolamida con alcohol. Agregar 125 ml de agua, 10 ml de ácido nítrico y 5,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV). Agitar mecánicamente durante 30 minutos. Filtrar, agregar al filtrado 5 ml de sulfato férrico amónico (SR) y titular con tiocianato de amonio 0,1 N (SV) hasta punto final color marrón rojizo. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Se deben consumir no menos de 4,8 ml de tiocianato de amonio 0,1 N.

Impurezas comunes <510>

Solución estándar y Solución muestra: emplear una mezcla de acetona y metanol (1:1) como solvente.

Fase móvil: alcohol *n*-propílico e hidróxido de amonio 1 N (88:12).

Revelador: 1.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

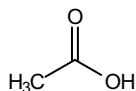
Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Acetazolamida, disolver en 25 ml de dimetilformamida, calentando si fuera necesario. Titular con hidróxido de sodio etanólico 0,1 M (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio etanólico 0,1 M equivale a 22,22 mg de $C_4H_6N_4O_3S_2$.

ACÉTICO, ÁCIDO



C₂H₄O₂

PM: 60,1

64-19-7

Definición - Ácido Acético es Ácido etanoico. Debe contener no menos de 36,0 por ciento y no más de 37,0 por ciento, en peso, de C₂H₄O₂ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido transparente e incoloro; posee un olor fuerte y característico. Su densidad relativa es aproximadamente 1,045. Miscible con agua, alcohol y glicerina.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Debe responder a los ensayos para *Acetato* <410>.

Límite de residuo no volátil

Transferir 50 ml de Ácido Acético a una cápsula de porcelana previamente pesada, evaporar en un baño de vapor bajo campana y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no debe ser mayor de 1,0 mg (0,005 %). [NOTA: conservar el residuo para el ensayo de *Límite de metales pesados*.]

Cloruro

A 10 ml de una solución de Ácido Acético 1 en 10, agregar 5 gotas de nitrato de plata (SR): no se debe producir opalescencia.

Sulfato

A 10 ml de una solución de Ácido Acético 1 en 10 agregar 5 gotas de cloruro de bario (SR): no se debe producir turbidez.

Límite de metales pesados <590>

Al residuo obtenido en *Límite de residuo no volátil*, agregar 20 ml de ácido clorhídrico 0,1 N, calentar suavemente hasta completar la disolución, diluir con agua a 250 ml y emplear 10 ml de la solución: el límite es 0,001 %.

Sustancias fácilmente oxidables

Transferir 4,0 ml de Ácido Acético a un recipiente con tapón de vidrio, diluir con 20 ml de agua y agregar 0,30 ml de permanganato de potasio 0,10 N: el color rosado no debe cambiar completamente a castaño dentro de los 30 segundos.

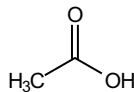
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Transferir aproximadamente 6 ml de Ácido Acético a un matraz con tapón de vidrio, previamente pesado y pesar nuevamente para obtener el peso de la sustancia a valorar. Agregar 40 ml de agua, luego agregar fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 1 N (SV). Cada ml de hidróxido de sodio 1 N equivale a 60,1 mg de C₂H₄O₂.

ACÉTICO GLACIAL, ÁCIDO



C₂H₄O₂

PM: 60,1

64-19-7

Definición - Ácido Acético Glacial es Ácido etanoico. Debe contener no menos de 99,5 por ciento y no más de 100,5 por ciento, en peso, de C₂H₄O₂ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido incoloro, transparente, de olor característico. Posee un punto de ebullición de 118 °C y una densidad relativa de 1,05. Miscible con agua, alcohol y glicerina.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Agregar 3 ml de agua a 0,03 ml de Acético Glacial y neutralizar con una solución de hidróxido de sodio al 8,5 % p/v. Debe responder a los ensayos para *Acetato* <410>.

Determinación de la temperatura de solidificación <180>

No debe ser menor de 15,6 °C.

Límite de residuo no volátil

Debe cumplir con el requisito cuando se ensaya según se indica en *Límite de residuo no volátil* en *Ácido acético*.

Cloruro

Diluir 1,0 ml de Ácido Acético Glacial con 20 ml de agua y agregar 5 gotas de nitrato de plata (SR): no debe producir opalescencia.

Sulfato

Diluir 1,0 ml de Ácido Acético Glacial con 10 ml de agua y agregar 1 ml de cloruro de bario (SR): no debe producir turbidez.

Límite de metales pesados <590>

Al residuo obtenido en *Límite de residuo no volátil*, agregar 20 ml de ácido clorhídrico 0,1 N, calentar suavemente hasta completar la disolución, diluir con agua a 250 ml y emplear 20 ml de la solución: el límite es 5 ppm.

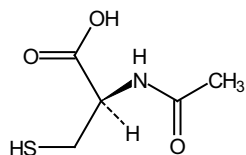
Sustancias fácilmente oxidables

Transferir 2,0 ml de Ácido Acético Glacial a un recipiente con tapón de vidrio, diluir con 10 ml de agua y agregar 0,10 ml de permanganato de potasio 0,10 N: el color rosado no debe cambiar a castaño dentro de las 2 horas.

VALORACIÓN

Transferir aproximadamente 1 ml de Ácido Acético Glacial a un erlenmeyer con tapón de vidrio, previamente pesado, que contenga 20 ml de agua. Pesar nuevamente para obtener el peso de la sustancia a valorar. Agregar 20 ml de agua, luego agregar fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 1 N (SV). Cada ml de hidróxido de sodio 1 N equivale a 60,1 mg de C₂H₄O₂.

ACETILCISTEÍNA



C₅H₉NO₃S

PM: 163,2

616-91-1

Definición - Acetilcisteína es *N*-Acetil-*L*-cisteína. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de C₅H₉NO₃S, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco. Fácilmente soluble en agua y alcohol; prácticamente insoluble en cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Acetilcisteína SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Determinación del punto de fusión <260> Entre 104 y 110 °C.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +21° y +27°.

Solución muestra: transferir 1,25 g de Acetilcisteína a un matraz aforado de 25 ml y mezclar con 1 ml de solución de edetato disódico 1 en 100. Agregar 7,5 ml de solución de hidróxido de sodio 1 en 25 y mezclar hasta disolver. Completar a volumen con solución reguladora de pH 7,0, preparada mezclando 29,5 ml de hidróxido de sodio 1 N, 50 ml de fosfato monobásico de potasio 1 M y cantidad suficiente de agua para obtener 100 ml. [NOTA: emplear un medidor de pH para ajustar a pH 7,0 ± 0,1, mediante el agregado, según sea necesario, de cualquiera de las dos soluciones].

Determinación del pH <250>

Entre 2,0 y 2,8, determinado sobre una solución al 1 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a una presión de aproximadamente 50 mm Hg, a 70 °C durante 4 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

Realizar el ensayo sobre 2 g de Acetilcisteína. Calentar sobre una placa calefactora hasta carbonizar completamente, enfriar, agregar 1 ml de ácido sulfúrico y calentar suavemente hasta que comience el desprendimiento de humo. Someter a ignición a 600 °C hasta que se consuma el residuo carbonoso. El residuo no debe ser mayor de 0,5 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. Agregar, gota a gota, 2 ml de ácido nítrico para humedecer la muestra [*Precaución - Tomar las precauciones necesarias ya que se puede producir una explosión*] y proceder según se indica para *Solución muestra:* no más de 0,001 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 214 nm y una columna de 30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 6,8 g de fosfato monobásico de potasio en 1 litro de agua. Filtrar y desgasificar. Ajustar a pH 3,0 con ácido fosfórico. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Diluyente - Solución de bisulfito de sodio 1 en 2.000, recientemente preparada.

Solución del estándar interno - Disolver 500 mg de *DL*-fenilalanina en 100 ml de *Diluyente*.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Acetilcisteína SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 10 mg por ml. Transferir 10,0 ml de esta solución y 10,0 ml de *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg por ml.

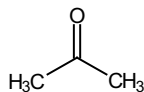
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Acetilcisteína y transferir a un matraz aforado de 50 ml. Disolver en *Diluyente*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución y 10,0 ml de *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Pro-*

cedimiento: la resolución R entre los picos de acetilcisteína y DL -fenilalanina no debe ser menor de 6; los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,5 para acetilcisteína y 1,0 para DL -fenilalanina; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 5 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_3H_9NO_3S$ en la porción de Acetilcisteína en ensayo.

ACETONA



C₃H₆O

PM: 58,1

67-64-1

Definición - Acetona es 2-Propanona. Debe contener no menos de 99,0 por ciento de C₃H₆O, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido volátil, transparente, incoloro, móvil y de olor característico. Una solución 1 en 2 debe ser neutra al tornasol. Miscible con agua, alcohol, éter, cloroformo y con la mayoría de los aceites volátiles.

Precaución - Muy inflamable.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto, lejos del fuego.

ENSAYOS

Identificación

A - A 1 ml de Acetona agregar 3 ml de hidróxido de sodio diluido y 0,3 ml de una solución de 25 mg de nitroprusiato de sodio por ml. Se debe producir un intenso color rojo que vira a violeta al agregar 3,5 ml de ácido acético.

B - Preparar una solución de acetona en alcohol al 50 % v/v 1 en 10. A 10 ml de esta solución agregar 1 ml de una solución de 10 mg de nitrobenzaldehído por ml de esta misma solución y 0,5 ml de hidróxido de sodio concentrado. Dejar reposar durante 2 minutos y acidificar con ácido acético. Se debe producir color azul verdoso.

Determinación de la densidad relativa <160>

No debe ser mayor de 0,789.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Emplear el reactivo del *Método b*. Realizar la determinación sobre 10 ml de Acetona, empleando 20 ml de una mezcla de 2-cloroetanol y cloroformo (1:1) o piridina como solvente. No debe contener más de 0,3 %.

Límite de residuo no volátil

Transferir 100 ml de Acetona a una cápsula de porcelana, previamente pesada, evaporar en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no debe ser mayor de 2 mg (0,004 %).

Sustancias fácilmente oxidables

En un recipiente con tapa de vidrio, mezclar 20 ml de Acetona con 0,10 ml de permanganato de

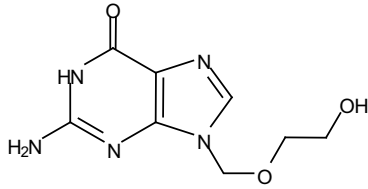
potasio 0,10 N: el color de permanganato de la mezcla debe perdurar durante 15 minutos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un cromatógrafo de gases equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de 1,8 m × 3 mm con un soporte constituido por un copolímero de estireno-divinilbenceno con grupos aromáticos -O y -N, con un área superficial nominal de 400 a 600 m² por g y un diámetro de poro promedio de 0,0076 μm. La temperatura de la columna se debe aumentar a razón de 8 °C por minuto desde 110 hasta 220 °C. Se debe emplear helio como gas transportador.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 0,5 μl de Acetona y registrar el cromatograma. Calcular el porcentaje de C₃H₆O en la porción de Acetona anhidra en ensayo. [NOTA: no se debe aplicar ninguna corrección en cuanto al contenido de agua, ya que el detector de ionización a la llama no responde al agua].

ACICLOVIR



$C_8H_{11}N_5O_3$ PM: 225,2 59277-89-3

Definición - Aciclovir es 9-[(2-Hidroxietoxi)metil]guanina. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_8H_{11}N_5O_3$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Funde a temperaturas superiores a los 250 °C, con descomposición. Soluble en soluciones diluidas de ácidos minerales e hidróxidos alcalinos; poco soluble en agua; insoluble en alcohol.

Sustancia de referencia - Aciclovir SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto. En un sitio seco.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración y límite de guanina*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Preparación estándar*.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 6,0 %.

Impurezas comunes <510>

Solución muestra: emplear dimetilsulfóxido como solvente.

Solución estándar: emplear dimetilsulfóxido como solvente.

Fase móvil: cloroformo, metanol e hidróxido de amonio (80:20:2).

Volumen de aplicación: 5 µl.

Revelador: 1.

Límite: 1 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN Y LÍMITE DE GUANINA

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 3 ml por minuto.

Fase móvil - Ácido acético glacial en agua (1 en 1.000). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de aptitud del sistema I - Disolver cantidades exactamente pesadas de Aciclovir SR-FA y de guanina en hidróxido de sodio 0,1 N y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con agua, para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml de cada una.

Solución de aptitud del sistema II - Disolver una porción exactamente pesada de guanina en hidróxido de sodio 0,1 N y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con agua para obtener una solución de aproximadamente 0,7 µg por ml.

Preparación estándar de guanina - Pesar exactamente alrededor de 8,75 mg de guanina, transferir a un matraz aforado de 500 ml, disolver en 50 ml de hidróxido de sodio 0,1 N, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 2,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con hidróxido de sodio 0,01 N y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 0,7 µg por ml.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Aciclovir SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en 5 ml de hidróxido de sodio 0,1 N, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con hidróxido de sodio 0,01 N y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Aciclovir, transferir a un matraz aforado de 200 ml, disolver en 20 ml de hidróxido de sodio 0,1 N, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con hidróxido de sodio 0,01 N y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema I* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de aciclovir y guanina no debe ser menor de 2,0; el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; y la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %. Cromatografiar la *Solución de*

aptitud del sistema II y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar*, la *Preparación estándar de guanina* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos.

Calcular la cantidad en porcentaje de guanina en la porción de Aciclovir en ensayo. No debe contener más de 0,7 % de guanina.

Calcular la cantidad de $C_8H_{11}N_5O_3$ en la porción de Aciclovir en ensayo.

AGUA PARA INYECTABLES

H₂O

PM: 18,0

Definición - Agua para Inyectables es el agua utilizada para la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral y cualquier otro uso indicado en esta Farmacopea, obtenida por medio de destilación u ósmosis reversa de doble paso. Se prepara a partir de agua potable o purificada. No debe contener sustancias agregadas y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido transparente, incoloro, inodoro e insípido.

ENSAYOS

Carbono orgánico total <40>

No debe contener más de 0,5 mg por litro.

Conductividad en agua calidad farmacéutica <75>

Debe cumplir con los requisitos.

Aluminio <140>

Cuando Agua para Inyectables esté destinada a la preparación de soluciones concentradas para hemodiálisis, no debe contener más de 10 µg por litro.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

No debe contener más de 0,25 Unidades de Endotoxina por ml.

AGUA PURIFICADA

H₂O

PM: 18,0

Definición - Agua Purificada es el agua empleada para la preparación de todos los medicamentos que no requieran el uso de *Agua para Inyectables*, a menos que la monografía del producto especifique otra calidad de agua, obtenida por medio de destilación, intercambio iónico, ósmosis reversa o cualquier otro proceso validado. Se prepara a partir de agua potable. No debe contener sustancias agregadas y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido transparente, incoloro, inodoro e insípido.

ENSAYOS

Carbono orgánico total <40>

No debe contener más de 0,5 mg por litro.

Sustancias oxidables

[NOTA: realizar este ensayo si no se realiza el ensayo de *Carbono orgánico total*]. A 100 ml de Agua Purificada, agregar 10 ml ácido sulfúrico 2 N y calentar a ebullición. Agregar 0,1 ml de permanganato de potasio 0,1 N y calentar a ebullición durante 5 minutos. Si se forma un precipitado, enfriar en un baño de hielo hasta alcanzar la temperatura ambiente y filtrar a través de un filtro de vidrio sinterizado: el color rosa del filtrado no debe desaparecer completamente.

Conductividad en agua calidad farmacéutica <75>

Debe cumplir con los requisitos.

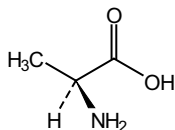
Aluminio <140>

Cuando Agua Purificada esté destinada a la preparación de soluciones concentradas para hemodiálisis, no debe contener más de 10 µg por litro.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando Agua Purificada esté destinada a la preparación de soluciones concentradas para hemodiálisis, no debe contener más de 0,25 Unidades de Endotoxina por ml.

ALANINA



C₃H₇NO₂

PM: 89,1

56-41-7

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco o cristales incoloros. Fácilmente soluble en agua; poco soluble en alcohol; insoluble en éter.

Definición - Alanina es *L*-Alanina. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,5 por ciento de C₃H₇NO₂, como *L*-alanina, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - *L*-Alanina SR-FA. Glicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Disolver 0,5 g de Alanina en una mezcla de 1 ml de agua, 0,5 ml de solución de nitrito de sodio al 10 % y 0,25 ml de ácido clorhídrico, agitar: debe producirse desprendimiento de gas. Agregar 2 ml de solución de hidróxido de sodio diluida y luego 0,25 ml de solución de iodo-ioduro de potasio: luego de 30 minutos debe formarse un precipitado amarillo.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica - Entre +13,7° y +15,1°.

Solución muestra: 100 mg por ml, en ácido clorhídrico 6 N.

Determinación del pH <250>

Entre 5,5 y 7,0; determinado sobre una solución 1 en 20.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 0,2 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,15 %.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Una porción de 1,0 g no debe presentar más cloruro que el correspondiente a 0,70 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,05 %).

Sulfato - Una porción de 1,0 g no debe presentar más sulfato que el correspondiente a 0,30 ml de ácido sulfúrico 0,020 N (0,03 %).

Límite de hierro <580>

No más de 0,003 %.

Límite de metales pesados <590>

Método I. No más de 0,0015 %.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Alcohol butílico, ácido acético glacial y agua (60:20:20).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Alanina SR-FA en agua para obtener una solución de aproximadamente 0,05 mg por ml.

Solución muestra - Disolver una cantidad exactamente pesada de Alanina en agua para obtener una solución de aproximadamente 10 mg por ml.

Solución de aptitud del sistema - Disolver cantidades exactamente pesadas de Alanina SR-FA y Glicina SR-FA en agua para obtener una solución de aproximadamente 0,4 mg por ml, respectivamente.

Revelador - Disolver 0,2 g de ninhidrina en 100 ml de una mezcla de alcohol butílico y ácido acético 2 N (95:5).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de la *Solución muestra*, 5 µl de la *Solución estándar* y 5 µl de la *Solución de aptitud del sistema*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente, dejar secar al aire y desarrollar los cromatogramas nuevamente. Dejar secar al aire y pulverizar sobre la placa con *Revelador*. Calentar la placa entre 100 y 105 °C durante 15 minutos y examinar bajo luz blanca: el ensayo solo es válido si el cromatograma obtenido a partir de la *Solución de aptitud del sistema* presenta dos manchas claramente separadas; ninguna mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser mayor en tamaño o intensidad a la mancha principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar* (0,5 %); y la suma de las intensidades de todas las manchas no debe ser mayor de 2 %.

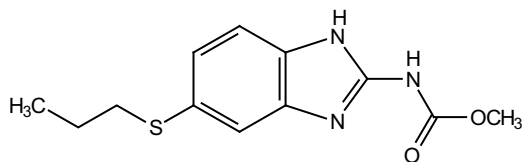
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 80 mg de Alana, transferir a un erlenmeyer de 125 ml, disolver en una mezcla de 3 ml de ácido fórmico y 50 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 8,91 mg de $C_3H_7NO_2$.

ALBENDAZOL



$C_{12}H_{15}N_3O_2S$ PM: 265,3 54965-21-8

Definición - Albendazol es el Éster metílico del ácido [5-(propiltio)-1H-benzimidazol-2-il]carbámico. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{12}H_{15}N_3O_2S$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o levemente amarillento. Fácilmente soluble en ácido fórmico anhidro; muy poco soluble en éter y cloruro de metileno; prácticamente insoluble en alcohol y agua.

Sustancias de referencia - Albendazol SR-FA. Oxibendazol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Pesar 100 mg de Albendazol, transferir a un matraz aforado de 250 ml, disolver y completar a volumen con una solución de ácido clorhídrico al 2 % v/v en metanol. Transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con solución de hidróxido de sodio 0,1 N. El espectro de absorción ultravioleta obtenido con esta solución (ver 470. *Espectrofotometría de absorción ultravioleta y visible*) debe ser similar al obtenido con una solución de Albendazol SR-FA preparada del mismo modo, empleando la solución de hidróxido de sodio 0,1 N como blanco.

Pérdida por secado <680>

Secar entre 100 y 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Sustancias relacionadas

[NOTA: preparar las soluciones en el momento de su uso.]

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector

ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 4 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 0,7 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol y solución de fosfato monobásico de amonio de aproximadamente 1,67 g por litro (7:3). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Metanol que contenga 1 % v/v de ácido sulfúrico.

Solución estándar A - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Albendazol, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver con 10 ml de *Diluyente* y completar a volumen con *Fase móvil*. Transferir 0,5 ml de esta solución a un matraz aforado de 20 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Solución estándar B - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Albendazol y 50 mg de Oxibendazol SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver con 5 ml de *Diluyente* y completar a volumen con *Fase móvil*.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Albendazol, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver con 5 ml de *Diluyente* y completar a volumen con *Fase móvil*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar B* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de albendazol y oxibendazol no debe ser menor de 3. Cromatografiar la *Solución muestra* durante 1,5 veces el tiempo de retención de albendazol: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,80 para impureza A (5-(propilsulfanil)-1H-benzimidazol-2-amino), 0,43 para impureza B (metil[5-(propilsulfanil)-1H-benzimidazol-2-il]carbamato) y/o para impureza C (metil[5-(propilsulfonil)-1H-benzimidazol-2-il]carbamato), 0,40 para impureza D (5-(propilsulfonil)-1H-benzimidazol-2-amino), 0,47 para impureza E (metil(1H-benzimidazol-2-il)carbamato) y 0,57 para impureza F (metil[5-(metilsulfanil)-1H-benzimidazol-2-il]carbamato).

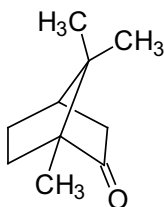
Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar A*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. A excepción del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta de ningún pico debe ser mayor de 1,5 veces la respuesta del pico principal obtenida con la *Solución estándar A* (0,75 %) y la suma de las respuestas de todos los picos no debe

ser mayor de tres veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (1,5 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor de 0,1 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A*.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Albendazol, disolver en 3 ml de ácido fórmico anhidro y agregar 40 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetria*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 26,53 mg de $C_{12}H_{15}N_3O_2S$.

ALCANFOR



C₁₀H₁₆O

PM: 152,2

76-22-2

Definición - Alcanfor es 1,7,7-Trimetilbicyclo[2.2.1]heptan-2-ona, es obtenido de *Cinnamomum camphora* (Linneo) Nees et Ebermaier (Fam. *Lauraceae*) (Alcanfor Natural) o producido por síntesis (Alcanfor Sintético) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Masas cristalinas, granuladas o cristales blancos o incoloros, traslúcidos, friables. Poco volátil a temperatura ambiente. Muy soluble en alcohol, cloroformo y éter; fácilmente soluble en aceites fijos y volátiles, disulfuro de carbono y éter de petróleo; poco soluble en agua.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto. No exponer a altas temperaturas.

ENSAYOS

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 174 y 179 °C.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre + 41° y + 43° para Alcanfor Natural.

Solución muestra: 100 mg por ml, en alcohol.

[NOTA: Alcanfor Sintético es ópticamente inactivo.]

Aspecto de la solución

Preparar una solución de Alcanfor en éter de petróleo 1 en 10: la solución debe ser transparente.

Límite de residuos no volátiles

Transferir 2 g de Alcanfor a un cristizador previamente pesado, calentar en un baño de vapor hasta que la sublimación sea completa. Secar el residuo obtenido a 120 °C durante 3 horas y pesar: el peso del residuo no debe ser mayor de 1,0 mg (0,05 %).

Halógenos

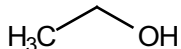
Transferir 100 mg de Alcanfor finamente pulverizado a un tubo de ensayo de aproximadamente 20 cm de largo y 25 mm de diámetro interno, agregar 200 mg de peróxido de sodio y mezclar. Suspender el tubo con un ángulo de 45° con una pinza colocada en la parte superior, calentar cuidadosa-

mente la parte superior y descender gradualmente hacia la parte inferior del tubo hasta completar la incineración. Disolver el residuo obtenido en 25 ml de agua caliente, acidificar con ácido nítrico, filtrar y recolectar el filtrado en un tubo de comparación. Lavar el tubo de ensayo y el filtro con dos porciones de 10 ml de agua caliente y agregar el lavado a la solución filtrada. Agregar 0,5 ml de nitrato de plata 0,1 N, diluir con agua a 50 ml y mezclar. Si la solución desarrolla turbidez, esta no debe ser mayor a la producida por un control preparado de la misma manera empleando 0,05 ml de ácido clorhídrico 0,02 N (350 ppm).

ROTULADO

Indicar en el rótulo si Alcanfor es obtenido en forma natural o preparado sintéticamente.

ALCOHOL



C₂H₆O

PM: 46,1

64-17-5

Definición - Alcohol es Etanol. Debe contener no menos de 92,3 por ciento y no más de 93,8 por ciento en peso, correspondiente a no menos de 94,9 por ciento y no más de 96,0 por ciento en volumen de C₂H₅OH a 15 °C y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido incoloro, transparente, volátil, inflamable, higroscópico. Posee un olor característico. Hierve a 78 °C aproximadamente. Miscible con agua y prácticamente con todos los solventes orgánicos.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto, lejos del fuego.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. Proceder según se indica en *Identificación por medio de espectros de referencia*.

B - Absorción ultravioleta <470>

Registrar el espectro de absorción ultravioleta entre 200 y 340 nm en una celda de 1 cm: la absorbancia no debe ser mayor que 0,40 a 240 nm, 0,30 entre 250 y 260 nm y 0,10 entre 270 y 340 nm. Registrar el espectro de absorción ultravioleta desde 235 a 340 nm en una celda de 5 cm empleando agua como blanco. El espectro no debe presentar bandas de absorción significativas.

Determinación de la densidad relativa <160>

Entre 0,812 y 0,816 a 15 °C, correspondiendo a no menos de 92,3 y 93,8 % en peso o entre 94,9 y 96,0 % en volumen de C₂H₅OH.

Acidez o alcalinidad

A 20 ml de Alcohol agregar 20 ml de agua libre de dióxido de carbono y 0,1 ml de fenolftaleína (SR): la solución debe ser incolora. Agregar 1 ml de hidróxido de sodio 0,01 N (SV): la solución debe ser de color rosa (30 ppm expresada como ácido acético).

Determinación del residuo por evaporación

Evaporar 100 ml de Alcohol hasta sequedad en un baño de agua y secar entre 100 y 105 °C durante 1 hora: el residuo no debe pesar más de 2,5 mg (25 ppm).

Impurezas volátiles

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 30 m × 0,32 mm recubierta con una película de 1,8 μm de una fase estacionaria constituida por poli[(cianopropil)(fenil)]dimetilsiloxano. Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 200 y 280 °C, respectivamente. Programar la temperatura de la columna según se indica a continuación:

Tiempo (minutos)	Temperatura (°C)
0 - 12	40
12 - 32	40 → 240
32 - 42	240

Se debe emplear helio como gas transportador y la velocidad lineal debe ser aproximadamente 35 cm por segundo.

Solución muestra A - Emplear el Alcohol en ensayo.

Solución muestra B - Agregar 150 μl de 4-metil-2-pentanol a 500 ml de la *Solución muestra A*.

Solución estándar A - Agregar 100 μl de metanol anhidro a 50 ml de la *Solución muestra A*. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con *Solución muestra A*.

Solución estándar B - Agregar 50 μl de metanol anhidro y 50 μl de acetaldehído a 50 ml de la *Solución muestra A*. Transferir 100 μl de esta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con *Solución muestra A*.

Solución estándar C - Agregar 150 μl de acetal a 50 ml de la *Solución muestra A*. Transferir 100 μl de esta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con *Solución muestra A*.

Solución estándar D - Agregar 100 μl de benceno a 100 ml de la *Solución muestra A*. Transferir 100 μl de esta solución a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con *Solución muestra A*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar B* según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de acetaldehído (primer pico) y metanol (segundo pico) no debe ser menor de 1,5.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 1 μl) de *Solución muestra A*, *Solución muestra B*, *Solución estándar A*, *Solución estándar B*, *Solución estándar C* y *Solución estándar D*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. La respuesta del pico de metanol en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*

A no debe ser mayor que la mitad de la respuesta del pico obtenido con la *Solución estándar A* (200 ppm).

Calcular la suma de los contenidos de acetaldehído y de acetal en ppm (v/v) por la fórmula siguiente:

$$\frac{10A_A}{E_B - A_A} + \frac{30R_A}{R_C - R_A}$$

en la cual A_A es la respuesta del pico de acetaldehído obtenido a partir de la *Solución muestra A*, E_B es la respuesta del pico de acetaldehído obtenido a partir de la *Solución estándar B*, R_A es la respuesta del pico de acetal obtenido a partir de la *Solución muestra A*, R_C es la respuesta del pico de acetal obtenido a partir de la *Solución estándar C*: la suma de las respuestas de los picos de acetaldehído y acetal a partir de la *Solución muestra A* no debe ser mayor a 10 ppm, expresado como acetaldehído.

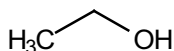
Calcular el contenido de benceno en ppm (v/v) por la fórmula siguiente:

$$2B_A / (E_D - B_A)$$

en la cual B_A es la respuesta del pico de benceno obtenido a partir de la *Solución muestra A* y E_D es la respuesta del pico de benceno obtenido con la *Solución estándar D*: no debe contener más de 2 ppm (v/v) de benceno.

La suma de otras impurezas en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra B* no debe ser mayor a la respuesta del pico de 4-metil-2-pentanol en el cromatograma obtenido con la *Solución muestra B* (300 ppm). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor a 0,03 veces la respuesta del pico de 4-metil-2-pentanol en el cromatograma obtenido con la *Solución muestra B* (9 ppm).

ALCOHOL ABSOLUTO



C₂H₆O

PM: 46,1

64-17-5

Definición - Alcohol Absoluto es etanol. Debe contener no menos de 99,2 por ciento en peso, correspondiente a no menos de 99,5 por ciento en volumen de C₂H₅OH a 15 °C y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido incoloro, transparente, volátil, inflamable. Higroscópico. Posee un olor característico. Hierve a 78 °C aproximadamente. Miscible con agua y prácticamente con todos los solventes orgánicos.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto, lejos del fuego.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. Proceder según se indica en *Identificación por medio de espectros de referencia*.

B - Absorción ultravioleta <470>

Proceder según se indica en *Identificación B en Alcohol*.

Determinación de la densidad relativa <160>

No más de 0,7962 a 15 °C, correspondiendo a no menos de 99,2 % de C₂H₅OH en peso.

Acidez o alcalinidad

Debe cumplir con los requisitos cuando se ensaya según se indica en *Acidez o alcalinidad en Alcohol*.

Determinación del residuo por evaporación

Debe cumplir con los requisitos cuando se ensaya según se indica en *Determinación del residuo por evaporación en Alcohol*.

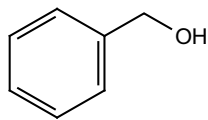
Impurezas volátiles

Sistema cromatográfico, Solución muestra B, Solución estándar A, Solución estándar B, Solución estándar C, Solución estándar D, Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Impurezas volátiles en Alcohol*.

Solución muestra A - Emplear el Alcohol Absoluto en ensayo.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Impurezas volátiles en Alcohol*.

ALCOHOL BENCÍLICO



C₇H₈O

PM: 108,1

100-51-6

Definición - Alcohol Bencílico es bencenometanol. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de C₇H₈O y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido incoloro, límpido y oleoso. Punto de ebullición aproximadamente 206 °C, sin descomposición. Es neutro frente al tornasol. Fácilmente soluble en alcohol de 50°; soluble en agua. Miscible con alcohol, grasas y aceites esenciales. Densidad relativa: 1,043 a 1,049 a 20 °C.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto, bajo nitrógeno a una temperatura de 2 a 8 °C.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. Proceder según se indica en *Identificación por medio de espectros de referencia*.

Determinación del índice de refracción <230>

Entre 1,538 y 1,541, a 20 °C.

Acidez

A 10 ml de Alcohol Bencílico agregar 10 ml de alcohol neutralizado y 1 ml de fenolftaleína (SR). Titular con hidróxido de sodio 0,10 N (SV) hasta punto final rosado: no deben consumirse más de 1,0 ml.

Determinación del índice de peróxidos <225>

Método I. No más de 5.

Determinación del residuo por evaporación

Luego de confirmar que la sustancia en ensayo cumple con el ensayo de *Determinación del índice de peróxidos*, pesar exactamente alrededor de 10 g y evaporar a sequedad en un baño de agua. Secar el residuo entre 100 y 105 °C durante una hora, enfriar en un desecador y pesar: el residuo no debe pesar más de 5 mg (0,05 %).

Benzaldehído y otras sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 30 m × 0,32 mm recubierta con una película de 0,5 μm de una fase estacionaria constituida por

polietilenglicol de peso molecular aproximadamente 20.000. Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 200 y 310 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 50 °C y se programa un aumento de 5 °C por minuto hasta alcanzar 220 °C durante 35 minutos. Se debe emplear helio como gas transportador y la velocidad lineal debe ser aproximadamente 25 cm por segundo.

Solución muestra - Emplear el Alcohol Bencílico en ensayo.

Solución de etilbenceno - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de etilbenceno, transferir a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con *Solución muestra*. Transferir 2,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 20 ml y completar a volumen con *Solución muestra*.

Solución de dicitlohexilo - Pesar exactamente alrededor de 2.000 mg de dicitlohexilo, transferir a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con *Solución muestra*. Transferir 2,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 20 ml y completar a volumen con *Solución muestra*.

Alcohol Bencílico no destinado a uso parenteral

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 750 mg de benzaldehído y 500 mg de ciclohexilmetanol, transferir a un matraz aforado de 25 ml y completar a volumen con *Solución muestra*. Transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 20 ml, agregar una mezcla de 2,0 ml de *Solución de etilbenceno* y 3,0 ml de *Solución de dicitlohexilo* y completar a volumen con *Solución muestra*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el tiempo de retención de alcohol bencílico debe ser aproximadamente 26 minutos; los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,28 para etilbenceno, 0,59 para dicitlohexilo, 0,68 para benzaldehído, 0,71 para ciclohexilmetanol y 1,0 para alcohol bencílico; la resolución *R* entre los picos de benzaldehído y ciclohexilmetanol no debe ser menor de 3,0. Ajustar la sensibilidad del detector de tal modo que el pico obtenido a partir del etilbenceno en la *Solución estándar* no sea menor al 30 % de la escala completa del registrador.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 0,1 μl) de *Solución de etilbenceno*, *Solución de dicitlohexilo*, *Solución estándar* y *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe encontrarse ningún pico con el mismo tiempo

de retención que el pico principal obtenido con la *Solución de etilbenceno* y la *Solución de dicitclohexilo*, y la respuesta del pico de benzaldehído no debe ser mayor que la diferencia entre la respuesta del pico de benzaldehído obtenido con la *Solución estándar* (0,15 %) y la obtenida con la *Solución muestra*; la respuesta del pico correspondiente al ciclohexilmetanol en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la diferencia entre la respuesta del pico de ciclohexilmetanol obtenido con la *Solución estándar* (0,10 %) y la respuesta del pico de ciclohexilmetanol en el cromatograma obtenido con la *Solución muestra*; la suma de las respuestas de todos los picos con un tiempo de retención relativo menor que el correspondiente al Alcohol Bencílico obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor a cuatro veces la repuesta del pico correspondiente al etilbenceno obtenido con la *Solución estándar* (0,04 %); la suma de las respuestas de todos los picos con un tiempo de retención relativo mayor que el correspondiente al Alcohol Bencílico obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la respuesta del pico correspondiente al dicitclohexilmetanol obtenido con la *Solución estándar* (0,3 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor a 0,01 veces la respuesta del pico correspondiente a etilbenceno obtenido a partir de la *Solución estándar*.

Alcohol Bencílico destinado a uso parenteral

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 250 mg de benzaldehído y 500 mg de ciclohexilmetanol, transferir a un matraz aforado de 25 ml y completar a volumen con *Solución muestra*. Transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 20 ml, agregar una mezcla de 2,0 ml de *Solución de etilbenceno* y 2,0 ml de *Solución de dicitclohexilo* y completar a volumen con *Solución muestra*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Proceder según se indica en *Aptitud del sistema* en *Alcohol Bencílico no destinado a uso parenteral*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 0,1 μ l) de *Solución de etilbenceno*, *Solución de dicitclohexilo*, *Solución estándar* y *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe encontrarse ningún pico con el mismo tiempo de retención que el pico principal de la *Solución de etilbenceno* y la *Solución de dicitclohexilo* y la respuesta del pico de benzaldehído no debe ser mayor que la diferencia entre la respuesta del pico de benzaldehído obtenido con la *Solución estándar*

(0,05 %) y la respuesta del pico de benzaldehído obtenido con la *Solución muestra*; la respuesta del pico de ciclohexilmetanol en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la diferencia entre la respuesta del pico de ciclohexilmetanol obtenido con la *Solución estándar* (0,10 %) y la repuesta del pico de ciclohexilmetanol en el cromatograma obtenido con la *Solución muestra*; la suma de las repuestas de cualquier pico con un tiempo de retención relativo menor que el correspondiente al Alcohol Bencílico obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor a dos veces la repuesta del pico de etilbenceno obtenido con la *Solución estándar* (0,02 %); la suma de las respuestas de todos los picos con un tiempo de retención relativo mayor que el correspondiente al Alcohol Bencílico obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la respuesta del pico de dicitclohexilmetanol obtenido con la *Solución estándar* (0,2 %). Descartar cualquier pico con una respuesta menor a 0,01 veces la respuesta del pico correspondiente a etilbenceno obtenido a partir de la *Solución estándar*.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 900 mg de Alcohol Bencílico, transferir a un erlenmeyer y agregar 15,0 ml de una mezcla de piridina y anhídrido acético (7:1). Calentar a reflujo durante 30 minutos. Enfriar, agregar 25 ml de agua, 5 gotas de fenolftaleína (SR1) y titular con hidróxido de sodio 1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Calcular el porcentaje de C_7H_8O por la fórmula siguiente:

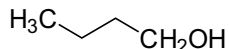
$$10,81V/P$$

en la cual V es el volumen en ml de hidróxido de sodio 1 N consumido y P es el peso en g de Alcohol Bencílico.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si Alcohol Bencílico está destinado para la preparación de formas farmacéuticas parenterales.

ALCOHOL BUTÍLICO



C₄H₁₀O

PM: 74,1

71-36-3

Sinonimia - Butanol.

Definición - Alcohol Butílico es Alcohol *n*-Butílico y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido incoloro, transparente. Miscible con agua y alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados, protegido del calor.

ENSAYOS

Determinación de la densidad relativa <160>
Entre 0,807 y 0,809; determinada a 25 °C.

Determinación del intervalo de destilación <240>

Metodo II. Alcohol Butílico debe destilar en un intervalo de 1,5 °C, el cual debe incluir el valor 117,7 °C.

Acidez

Transferir 74 ml de Alcohol Butílico, que corresponden a 60 g, a un erlenmeyer, agregar unas gotas de fenolftaleína (SR) y titular con solución alcohólica de hidróxido de potasio 0,02 N, hasta desarrollo de color rosado persistente durante no menos de 15 segundos: no se deben consumir más de 2,5 ml.

Límite de sustancias no volátiles

Evaporar 100 ml de Alcohol Butílico en un crisol de porcelana, previamente pesado, en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 30 minutos: el peso del residuo no debe ser mayor de 4 mg (0,004 %).

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,1 %.

Aldehídos

Transferir 10 ml de nitrato de plata amoniacal (SR) a un recipiente apropiado, agregar 10 ml de Alcohol Butílico y mezclar. Dejar reposar durante 30 minutos protegido de la luz: no debe producirse color, aunque puede formarse un leve precipitado entre las dos fases.

Éter butílico

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de conductividad térmica y una columna de acero de

2 m × 6 mm con fase estacionaria constituida por un 25 % de 3,3'-tiodipropionitrilo sobre un soporte de malla comprendida entre 30 y 40, preparado con ladrillo refractario molido y calcinado o quebrado, con arcilla como aglutinante, por arriba de los 900 °C y lavado ácido. Mantener la temperatura de la columna a 85 °C. Se debe emplear helio como gas transportador y el caudal debe ser aproximadamente 75 ml por minuto.

Solución muestra - Emplear Alcohol Butílico.

Aptitud del sistema (ver 100. Cromatografía) - Cromatografiar la *Solución muestra* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención deben ser de 6,0 minutos para el éter butílico, 12 minutos para 2-butanol, 17 minutos para el agua, 18 minutos para el alcohol isobutílico y 25 minutos para el alcohol butílico.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 10 µl de *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. La respuesta del pico de éter butílico no debe ser mayor de 0,2 % de la suma de todas las respuestas.

ALCOHOL CETÍLICO

C₁₆H₃₄O PM: 242,4 36653-82-4

Definición - Alcohol Cetílico es 1-Hexadecanol. Debe contener no menos de 90,0 por ciento de C₁₆H₃₄O y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo, masa, escamas o gránulos blancos, untuosos. Soluble en alcohol y éter; insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Alcohol Cetílico SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el pico principal obtenido con la *Solución de aptitud del sistema*.

Determinación del punto de fusión <260>

Metodo II. Debe estar comprendido entre 45 y 50 °C.

Determinación del índice de acidez <480>

No más de 2.

Determinación del índice de iodo <480>

No más de 5.

Determinación del índice de hidroxilo <480>

Pesar exactamente alrededor de 2 g de Alcohol Cetílico, transferir a un erlenmeyer con tapón esmerilado perfectamente seco, agregar 2 ml de piridina y 10 ml de tolueno. Agregar 10 ml de una mezcla de tolueno y cloruro de acetilo (90:10). Tapar, asegurar el tapón y calentar en un baño de agua entre 60 y 65 °C durante 20 minutos. Agregar 25 ml de agua, tapar y agitar vigorosamente durante algunos minutos hasta descomponer todo el cloruro de acetilo. Agregar 0,5 ml de fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 1 N (SV) hasta punto final rosado permanente, agitando hacia el final de la titulación para mantener la emulsión. Realizar una determinación con un blanco. Calcular el índice de hidroxilo en la porción de Alcohol Cetílico en ensayo por la fórmula siguiente:

$$56,1(V_m - V_b)/P$$

en la cual V_m y V_b son los volúmenes de hidróxido de sodio en ml consumidos por la muestra y por el blanco, respectivamente; y P es el peso en g de

Alcohol Cetílico en ensayo. Debe estar comprendido entre 218 y 238.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de 2 m × 3 mm con 10 % de goma de dimetilpolisiloxano sobre un soporte formado por tierra silícea para cromatografía de gases que ha sido calcinada a 900 °C mezclando diatomea con carbonato de sodio [NOTA: la tierra silícea se debe lavar primero con ácido, luego con agua hasta neutralidad, pero no se debe lavar con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener la columna, el detector y el inyector aproximadamente a 205, 250 y 275 °C, respectivamente. Se debe emplear helio como gas transportador y el caudal debe estar comprendido entre 30 y 60 ml por minuto.

Solución de aptitud del sistema - Disolver una cantidad exactamente pesada de Alcohol Cetílico SR-FA y *alcohol estearílico* en alcohol absoluto para obtener una solución de aproximadamente 9 mg por ml y 1 mg por ml, respectivamente.

Preparación muestra - Disolver 100 mg de Alcohol Cetílico en 10 ml de alcohol absoluto y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* según se indica en *Procedimiento*: la resolución R entre los picos de alcohol cetílico y alcohol estearílico no debe ser menor de 4,0 y la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas calculada en relación entre las respuestas de alcohol cetílico y alcohol estearílico, no debe ser mayor de 1,5 %.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 2 μ l de *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el contenido de C₁₆H₃₄O en la porción de Alcohol Cetílico en ensayo en relación a la suma de las respuestas de todos los picos, excepto la respuesta del pico de alcohol absoluto.

ALCOHOL CETOESTEARÍLICO

Definición - Alcohol Cetoestearílico debe contener no menos de 40,0 por ciento de alcohol estearílico ($C_{18}H_{38}O$) y la suma del contenido de alcohol estearílico y alcohol cetílico ($C_{16}H_{34}O$) no debe ser menor de 90,0 por ciento. Alcohol Cetoestearílico debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Escamas o gránulos blancos, untuosos, con un débil olor característico. Soluble en alcohol y éter; insoluble en agua.

Sustancias de referencia - Alcohol Estearílico SR-FA. Alcohol Cetílico SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención de los picos principales en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con los picos principales obtenidos con la *Solución de aptitud del sistema*.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 48 y 55 °C.

Determinación del índice de acidez <480>

No más de 2.

Determinación del índice de iodo <480>

No más de 4.

Determinación del índice de hidroxilo <480>

Proceder según se indica en 480. *Determinación del índice de hidroxilo en Alcohol Cetílico*. Debe estar comprendido entre 208 y 228.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Alcohol Cetílico*.

Solución de aptitud del sistema - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Alcohol Estearílico SR-FA y 50 mg de Alcohol Cetílico SR-FA y disolver en alcohol para obtener una solución de aproximadamente 5 mg de Alcohol Estearílico por ml y 5 mg de Alcohol Cetílico por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Alcohol Cetoestearílico, transferir a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con alcohol absoluto y mezclar.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo

aproximadamente 2 μ l de *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el contenido de $C_{16}H_{34}O$ en la porción de Alcohol Cetoestearílico en ensayo en relación a la suma de las respuestas de todos los picos excepto la respuesta del pico de alcohol absoluto. Calcular el contenido de $C_{18}H_{38}O$ en la porción de Alcohol Cetoestearílico en ensayo en relación a la suma de las respuestas de todos los picos excepto la respuesta del pico de alcohol absoluto.

ALCOHOL ESTEARÍLICO

$C_{18}H_{38}O$ PM: 270,5 112-92-5

Definición - Alcohol Estearílico es 1-Octadecanol. Debe contener no menos de 90,0 por ciento de $C_{18}H_{38}O$ y el resto de alcoholes relacionados. Alcohol Estearílico debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Escamas o gránulos blancos, untuosos. Soluble en alcohol y éter. Insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Alcohol Estearílico SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el pico principal obtenido con la *Solución de aptitud del sistema*.

Determinación del punto de fusión <260>
Entre 55 y 60 °C.

Determinación del índice de acidez <480>
No más de 2.

Determinación del índice de iodo <480>
No más de 2.

Determinación del índice de hidroxilo <480>
Proceder según se indica en 480. *Determinación del índice de hidroxilo en Alcohol Cetílico*. Debe estar comprendido entre 195 y 220.

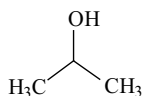
VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Preparación muestra y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Alcohol Cetílico*.

Solución de aptitud del sistema - Disolver una cantidad exactamente pesada de Alcohol Estearílico SR-FA y *Alcohol Cetílico* en alcohol absoluto para obtener una solución de aproximadamente 9 mg por ml y 1 mg por ml, respectivamente.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo aproximadamente 2 μ l de *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el contenido de $C_{18}H_{38}O$ en la porción de Alcohol Estearílico en ensayo en relación a la suma de las respuestas de todos los picos excepto la respuesta del pico de alcohol absoluto.

ALCOHOL ISOPROPÍLICO



C₃H₈O

PM: 60,1

67-63-0

Sinonimia - Isopropanol.

Definición - Alcohol Isopropílico es 2-Propanol y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido incoloro, transparente. Miscible con agua y alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Densidad relativa <120>. Entre 0,785 y 0,789.

B - Índice de refracción <230>. Entre 1,376 y 1,379, determinado a 20,0 ± 0,5 °C.

C - A 1 ml de Alcohol Isopropílico, agregar 2 ml de una solución de dicromato de potasio al 10,6 % y 1 ml de ácido sulfúrico diluido y calentar a ebullición: se debe producir vapor que vira a verde un trozo de papel de filtro impregnado con nitrobenzaldehído (SR). Humedecer el papel con ácido clorhídrico diluido: debe virar a color azul.

Acidez o alcalinidad

Calentar a ebullición suave 25 ml de Alcohol Isopropílico durante 5 minutos, agregar 25 ml de agua libre de dióxido de carbono y dejar enfriar protegido del dióxido de carbono del aire. Agregar 0,1 ml de fenolftaleína (SR): la solución debe permanecer incolora. No se debe consumir más de 0,6 ml de hidróxido de sodio 0,01 N para virar el color del indicador a rosa pálido.

Absorción ultravioleta <470>

Registrar el espectro de absorción ultravioleta entre 230 y 310 nm empleando agua como blanco. La absorbancia no debe ser mayor de 0,30 a 230 nm, y de 0,10 a 250 nm. El espectro no debe presentar bandas de absorción significativas.

Peróxidos

Transferir 8 ml de almidón-ioduro de potasio (SR1) a un tubo de ensayo con tapón esmerilado con una capacidad no menor de 18 ml, completar con Alcohol Isopropílico, agitar vigorosamente y dejar reposar protegido de la luz durante 30 minutos: no debe desarrollar coloración.

Sustancias no volátiles

Luego de confirmar que la sustancia en ensayo cumple con los requisitos del ensayo de *Peróxidos*, evaporar 100 g de Alcohol Isopropílico a sequedad en un baño de agua y secar en estufa a una temperatura comprendida entre 100 y 105 °C: el peso del residuo no debe ser mayor de 2 mg (20 ppm).

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,5 %, determinado sobre 5,0 g.

Benceno y sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 30 m × 0,32 mm recubierta con una película de 1,8 μm de fase estacionaria constituida por poli[(cianopropil)(fenil)]dimetilsiloxano. Mantener el inyector y el detector aproximadamente 280 °C. Programar la temperatura de la columna según se indica a continuación:

Tiempo (minutos)	Temperatura (°C)
0 - 12	40
12 - 32	40 → 240
32 - 42	240

Se debe emplear helio como gas transportador y la velocidad lineal debe ser aproximadamente 35 cm por segundo.

Solución muestra A - Emplear Alcohol Isopropílico.

Solución muestra B - Transferir 1,0 ml de 2-butanol a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con *Solución muestra A*. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Solución muestra A*.

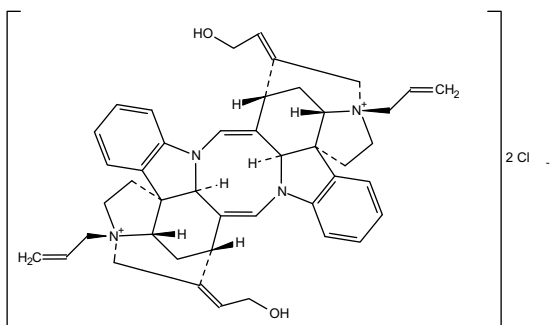
Solución estándar A - Transferir 0,5 ml de 2-butanol a un matraz aforado de 50 ml, agregar 0,5 ml de propanol y completar a volumen con *Solución muestra A*. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con *Solución muestra A*.

Solución estándar B - Transferir 100 μl de benceno a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Solución muestra A*. Transferir 0,20 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Solución muestra A*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar A* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de propanol (primer pico) y 2-butanol (segundo pico) no debe ser menor de 10.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 1 µl) de *Solución muestra A*, *Solución muestra B*, *Solución estándar A* y *Solución estándar B*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. La respuesta del pico de benceno en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra A* no debe ser mayor que la mitad de la respuesta del pico obtenido con la *Solución estándar B* (2 ppm). La suma de otras impurezas en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra B* no debe ser mayor a tres veces la respuesta del pico de 2-propanol en el cromatograma obtenido con la *Solución muestra B* (0,3 %).

ALCURONIO, CLORURO DE



$C_{44}H_{50}Cl_2N_4O_2$

PM: 738,0

15180-03-7

Definición - Cloruro de Alcuronio es Dicloruro de (23*E*,26*E*)-(1*R*,3*aS*,10*S*,11*aS*,12*R*,14*aS*,19*aS*,20*bS*,21*S*,22*aS*)-23,26-bis(2-hidroxiethyliden-1,12-diprop-2-enil-2,3,11,11*a*,13,14,22,22*a*-octahidro-10*H*,21*H*-1,21:10,12-dietano-19*aH*,20*bH*-[1,5]diazocino[1,2,3-*lm*:5,6,7-*l'm'*]dipirrol[2,3-*d*:2',3']dicarbazolina. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{44}H_{50}Cl_2N_4O_2$, calculado sobre la sustancia anhidra y libre de alcohol isopropílico y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o blanco-grisáceo. Muy soluble en agua y metanol; soluble en alcohol; prácticamente insoluble en ciclohexano.

Sustancias de referencia - Cloruro de Alcuronio SR-FA. Bromuro de *N*-Alilestricnina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto bajo nitrógeno, en un sitio frío.

ENSAYOS

[NOTA: proteger de la luz las muestras y las soluciones que contengan Cloruro de Alcuronio, realizar los procedimientos rápidamente, bajo luz de baja intensidad o empleando material de vidrio inactínico.]

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En Fase sólida.*

B - Una solución de Cloruro de Alcuronio debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Acidez o alcalinidad

Disolver 100 mg de Cloruro de Alcuronio en agua y diluir a 10 ml con el mismo solvente. Agregar 0,1 ml de rojo de metilo (SR) y 0,2 ml de ácido clorhídrico 0,01 N: la solución debe ser roja. Agregar 0,4 ml de hidróxido de sodio 0,01 N: la solución debe ser amarilla.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre - 430° y - 451°.

Solución muestra: 10 mg por ml, calculado sobre la sustancia anhidra y libre de alcohol isopropílico.

Alcohol isopropílico

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de sílice fundida de 30 m × 0,32 ó 0,53 mm recubierta con fase estacionaria constituida por 94 % de dimetilpolisiloxano y 6 % de cianopropilfenilpolisiloxano (espesor de la película de 1,8 ó 3 μm). Mantener la temperatura de la columna a 40 °C durante 20 minutos, aumentarla a razón de 10 °C por minuto hasta 240 °C y mantener a esta temperatura durante 20 minutos. Mantener el inyector y el detector a 140 y 250 °C, respectivamente. Emplear helio como gas transportador con una velocidad lineal de aproximadamente 35 cm por segundo, y utilizar un sistema de inyección de espacio libre superior y flujo dividido en proporción 1:5. La temperatura de equilibrio debe ser 80 °C, el tiempo de equilibrio de 60 minutos, la temperatura de la línea de transferencia de 85 °C, el tiempo de presurización de 30 segundos y el volumen de inyección de 1 ml.

Solución muestra - Disolver 200 mg de Cloruro de Alcuronio en agua y diluir a 20 ml con el mismo solvente.

Solución estándar - Preparar una solución de alcohol isopropílico en agua de aproximadamente 0,1 mg por ml.

Solución de resolución - Mezclar 5 ml de la *Solución muestra* y 1 ml de la *Solución estándar* en un envase para muestreo por espacio libre superior.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Inyectar 1 ml del espacio libre superior de la *Solución muestra* y de la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa de las diferencias entre las respuestas de los picos de alcohol isopropílico, obtenidos a partir de la *Solución muestra* y la *Solución de resolución*, en tres inyecciones repetidas realizadas de a pares, no debe ser mayor de 15 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo 1 ml del espacio gaseoso libre del envase de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Determinar, en base a las respuestas de los picos de alcohol isopropílico obtenidos con la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, la cantidad de alcohol isopropílico en la

porción de Cloruro de Alcuronio en ensayo: no debe contener más de 1 %.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 5,0 %.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,0 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,2 ml por minuto.

Fase móvil - Mezclar 200 ml de metanol, 400 ml de acetonitrilo y 400 ml de una solución de fosfato monobásico de potasio 0,1 M. Disolver 2,18 g de lauril sulfato de sodio en la mezcla y ajustar a pH 5,4 con ácido fosfórico al 10 %. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Mezclar 100 ml de metanol, 200 ml de acetonitrilo y 200 ml de fosfato monobásico de potasio 0,1 M. Disolver 1,09 g de lauril sulfato de sodio en la mezcla y ajustar a pH 8 con hidróxido de sodio al 10 %.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Cloruro de Alcuronio a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a volumen con *Diluyente*.

Solución estándar A - Diluir 0,5 ml de la *Solución muestra* en *Diluyente* y diluir a 100 con el mismo solvente.

Solución estándar B - Diluir 4 ml de la *Solución estándar A* a 10 ml con *Diluyente*.

Solución estándar C - Diluir 1 ml de la *Solución estándar A* a 10 ml con *Diluyente*.

Solución estándar D - Agregar 5 mg de Bromuro de *N*-Alilestricnina SR-FA a 5 ml de la *Solución muestra* y diluir a 100 ml con *Diluyente*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar B* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: ajustar la sensibilidad del sistema de modo tal que la altura del pico de cloruro de alcuronio sea al menos el 10 % de la escala completa del registrador. Cromatografiar 10 µl de la *Solución estándar D* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el ensayo no es válido a menos que la resolución *R* entre cloruro de alcuronio y bromuro de *N*-alilestricnina sea al menos 4,0.

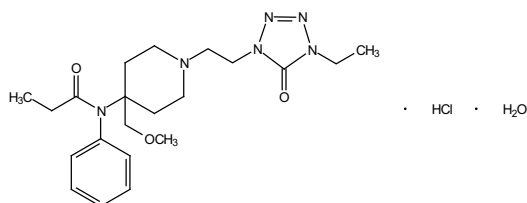
Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Solución muestra*, la *Solución estándar A* y la *Solución estándar C*. Cromatografiar la

Solución muestra durante al menos dos veces el tiempo de retención correspondiente al cloruro de alcuronio: la respuesta de ningún pico, a excepción del pico principal, en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar A* (0,5 %) y no más de uno de dichos picos debe tener una respuesta mayor que la del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar B* (0,2 %); la suma de las respuestas de todos los picos, a excepción del pico principal, no debe ser mayor que dos veces la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar A* (1,0 %). Descartar cualquier pico con una respuesta menor que la del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar C* (0,05 %).

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 300 mg de Cloruro de Alcuronio, disolver en 70 ml de anhídrido acético por agitación durante 1 minuto. Titular con ácido perclórico 0,1 N, empleando 0,1 ml de cristal violeta (SR) como indicador hasta que el color cambie de violeta-azulado a azul-verdoso. Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 36,9 mg de $C_{44}H_{50}Cl_2N_4O_2$.

ALFENTANILO, CLORHIDRATO DE



$\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{N}_6\text{O}_3 \cdot \text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ PM: 471,0 70879-28-6

Definición - Clorhidrato de Alfentanilo es Clorhidrato de *N*-[1-[2-(4-etil-4,5-dihidro-5-oxo-1*H*-tetrazol-1-il)etil]-4-(metoximetil)-4-piperidinil]-*N*-fenilpropanamida, monohidrato. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{N}_6\text{O}_3 \cdot \text{HCl}$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en alcohol, cloroformo y metanol; soluble en agua; moderadamente soluble en acetona.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Alfentanilo SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

Precaución - Manipular con sumo cuidado ya que es un potente analgésico opiode. Evitar la inhalación y el contacto con la piel.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Disolver 50 mg de Clorhidrato de Alfentanilo en una mezcla de 0,4 ml de amoníaco y 2 ml de agua. Mezclar, dejar reposar durante 5 minutos y filtrar. Acidificar el filtrado con ácido nítrico diluido: debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación del punto de fusión <260>

Método I. Entre 136 y 141 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 3 °C.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 4,0 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 235 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas esféricas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Sulfato ácido de tetrabutilamonio 0,01 M y acetonitrilo (86:14). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Alfentanilo SR-FA en *Fase móvil*, diluir cuantitativamente y en etapas con *Fase móvil*, si fuera necesario, para obtener una solución de aproximadamente 0,54 mg por ml.

Solución muestra - Pesarse exactamente alrededor de 54 mg de Clorhidrato de Alfentanilo, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 5.400 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 1,3; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 25 µl de la *Solución muestra*, registrar el cromatograma y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Clorhidrato de Alfentanilo en ensayo, en relación a la suma de las respuestas de todos los picos: no debe contener más de 0,5 % de cualquier impureza individual y la suma de todas las impurezas no debe ser mayor de 1,0 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 350 mg de Clorhidrato de Alfentanilo y disolver en 30 ml de ácido acético glacial. Agregar 3 ml de acetato mercúrico (SR), 3 gotas de *p*-naftolbenceína (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) hasta punto final color verde. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 45,30 mg de $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{N}_6\text{O}_3 \cdot \text{HCl}$.

ALGÍNICO, ÁCIDO

9005-32-7

Definición - Ácido Algínico es un carbohidrato coloidal hidrofílico extraído con álcali diluido de varias especies de algas pardas (*Phaeophyceae*) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo fibroso blanco o blanco amarillento. Soluble en soluciones alcalinas; insoluble en agua y solventes orgánicos.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Preparar una solución de Ácido Algínico al 0,7 % en hidróxido de sodio 0,1 N, transferir 5 ml de esta solución a un recipiente apropiado y agregar 1 ml de cloruro de calcio (SR): se debe desarrollar un precipitado gelatinoso y voluminoso.

B - Preparar una solución de Ácido Algínico al 0,7 % en hidróxido de sodio 0,1 N, transferir 5 ml de esta solución a un recipiente apropiado y agregar 1 ml de ácido sulfúrico 4 N: se debe desarrollar un precipitado pesado y gelatinoso.

C - Transferir aproximadamente 5 mg de Ácido Algínico a un tubo de ensayo, agregar 5 ml de agua, 1 ml de una solución de 1,3-naftalenodiol al 1 % en alcohol recientemente preparada y 5 ml de ácido clorhídrico. Calentar y mantener a ebullición durante 3 minutos. Enfriar aproximadamente a 15 °C y transferir a una ampolla de decantación de 50 ml con la ayuda de 5 ml de agua y extraer con 15 ml de éter isopropílico: la fase orgánica debe desarrollar color púrpura y debe ser más intenso que el de un blanco preparado de similar manera.

Determinación del pH <250>

Entre 1,5 y 3,5 determinado sobre una dispersión de Ácido Algínico al 3 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 15 % de su peso.

Cenizas totales <630>

Pesar exactamente alrededor de 4,0 g de Ácido Algínico, transferir a un crisol previamente pesado y someter a ignición hasta que el residuo este completamente carbonizado (aproximadamente 5 minutos). Someter a ignición nuevamente a 800 ± 25 °C hasta eliminar el residuo carbonoso durante aproximadamente 20 a 35 minutos: no debe contener más de 4,0 %.

Límite de arsénico <540>

Método II. No más de 3 ppm.

Plomo

Solución muestra - Agregar 1,0 g de Ácido Algínico a 20 ml de ácido nítrico, mezclar y calentar cuidadosamente hasta disolver. Continuar el calentamiento hasta reducir el volumen aproximadamente a 7 ml, enfriar rápidamente a temperatura ambiente, transferir a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua.

Procedimiento - Emplear 50 ml de *Solución muestra* y proceder según se indica en 600. Límite de plomo, pero empleando 15 ml de *Solución de citrato de amonio*, 3 ml de *Solución de cianuro de potasio* y 500 µl de *Solución de clorhidrato de hidroxilamina* y después de la primera extracción con *Solución de ditizona para extracción*, lavar los extractos clorofórmicos con 5 ml de agua, descartando la fase acuosa. El límite es 5 µg de plomo (correspondiente a no más de 10 ppm de Pb).

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 40 ppm. [NOTA: para humedecer la sustancia en ensayo emplear ácido nítrico en lugar de ácido sulfúrico].

Control higiénico de productos no obligatoriamente estériles <90>

El recuento de microorganismos aerobios viables totales no debe ser mayor de 200 bacterias por gramo y debe cumplir con el ensayo para *Salmonella spp.* y *Escherichia coli*.

Determinación del índice de acidez <480>

Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Ácido Algínico, suspender en una mezcla de 50 ml de agua y 30 ml de una solución de acetato de calcio (11 en 250) y agitar cuidadosamente. Dejar reposar durante 1 hora, agregar fenolftaleína (SR) y titular el ácido acético liberado con hidróxido de sodio 0,1 N. Realizar una determinación con un blanco y calcular el índice de acidez por la siguiente fórmula:

$$5,611(V_M - V_B)P$$

en la cual 5,611 es la décima parte del peso molecular del hidróxido de potasio, V_M y V_B son los volúmenes en ml de hidróxido de sodio consumidos por la preparación muestra y el blanco, respectivamente, y P es el peso en g de Ácido Algínico en ensayo. El índice de acidez no debe ser menor de 230 calculado sobre la sustancia seca.

ALGODÓN, ACEITE DE

Definición - Aceite de Algodón es el aceite fijo, refinado obtenido a partir de las semillas de las variedades de cultivo de *Gossipium hirsutum var.*, Linneo o de otras especies de *Gossipium* (Fam. Malvaceae) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido oleoso amarillo pálido. Inodoro o casi inodoro. A temperaturas por debajo de 10 °C pueden separarse del aceite partículas sólidas de grasa, y entre 0 y -5 °C el aceite se solidifica o se encuentra próximo a solidificarse. Miscible con éter, cloroformo, éter de petróleo y disulfuro de carbono. Poco soluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto. Evitar la exposición al calor excesivo.

ENSAYOS

Identificación

Aceite de Algodón debe presentar el perfil de composición de ácidos grasos indicado en la tabla siguiente, cuando se ensaya según se indica en *Composición de ácidos grasos en 480. Grasas y aceites fijos*:

Longitud de cadena carbonada	Número de dobles enlaces	Porcentaje (%)
14	0	0,5 a 2,0
16	0	17 a 29
18	0	1,0 a 4,0
20	0	< 0,5
22	0	< 0,5
24	0	< 0,5
18	1	13 a 44
18	2	40 a 63
18	3	0,1 a 2,1
22	1	< 0,5

Determinación de la densidad relativa <160>

Entre 0,915 y 0,921.

Determinación del índice de acidez <480>

Los ácidos grasos libres presentes en 10,0 g de Aceite de Algodón no deben consumir más de 2,0 ml de hidróxido de sodio 0,02 N para su neutralización.

Determinación del índice de iodo <480>

Entre 109 y 120.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

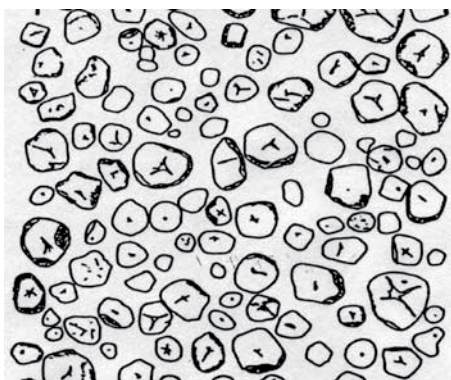
Impurezas orgánicas volátiles

Método II.

ALMIDÓN DE MAÍZ

Definición - Almidón de Maíz es obtenido a partir de la carióspside de *Zea mays* L y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo muy fino, casi blanco a amarillo débil. Insípido. Prácticamente insoluble en agua fría y alcohol. Presencia de granos con grietas e irregularidades en sus bordes.



Morfología de los granos de almidón de maíz.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Colocar partículas de Almidón de Maíz en una mezcla de agua y glicerina (1:1) sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio con un objetivo de no menos de 20x: debe contener granos angulosos poliédricos de tamaño irregular comprendido entre 2 a 23 μm o granos redondeados o esféricos de tamaño irregular comprendido entre 25 y 35 μm ; debe presentar un hilo central formado por una cavidad bien definida o por dos a cinco fisuras estrelladas; no debe presentar estrías concéntricas; los granos deben presentar una cruz cuando se interponen entre prismas de Nicol cruzados.

B - Suspender 1 g de Almidón de Maíz en 50 ml de agua, calentar a ebullición durante 1 minuto y enfriar: se debe formar un delgado mucílago turbio.

C - A 10 ml del mucílago obtenido en el ensayo de *Identificación B*, agregar 0,04 ml de iodo-ioduro de potasio (SR): debe presentar coloración rojo anaranjado que cambia a azul oscuro, la cual desaparece al calentar.

Determinación del pH <120>

Pesar exactamente alrededor de 5,0 g de Almidón de Maíz, transferir a un vaso de precipitados

y agregar 25,0 ml de agua recientemente hervida y enfriada. Agitar suavemente durante 1 minuto y dejar reposar durante 15 minutos. El pH de la solución debe estar comprendido entre 4,0 y 7,0.

Límite de hierro

Solución muestra - Agitar 1,5 g de Almidón de Maíz con 15 ml de ácido clorhídrico 2 N y filtrar.

Procedimiento - Transferir 10 ml de *Solución muestra* a un matraz aforado de 20 ml, agregar 2 ml de solución de ácido cítrico al 20 %, 0,1 ml de ácido tioglicólico y mezclar. Agregar hidróxido de sodio 10 N hasta que la solución sea alcalina al papel tornasol, completar a volumen con agua y mezclar. Proceder del mismo modo con 10 ml de solución de hierro (1 ppm) (SL) para obtener una solución control. Luego de 5 minutos, si la *Solución muestra* presenta color rosa, este no debe ser más intenso que el de la solución control (10 ppm).

Pérdida por secado <680>

Secar a 130 °C durante 90 minutos: no debe perder más de 15,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,6 %, determinado a 600 ± 50 °C.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

El recuento de microorganismos aerobios viables totales no debe ser mayor que 10^3 bacterias ni 10^2 hongos por gramo determinados por recuento en placa. La sustancia en ensayo debe cumplir con el ensayo de *Escherichia coli*.

Sustancias oxidantes

Pesar exactamente alrededor de 4,0 g de Almidón de Maíz, transferir a un erlenmeyer de 125 ml provisto de un tapón de vidrio, agregar 50,0 ml de agua, insertar el tapón y agitar durante 5 minutos. Transferir a un tubo de centrifuga de 50 ml, provisto de tapón de vidrio y centrifugar. Transferir 30,0 ml del líquido sobrenadante a un erlenmeyer de 125 ml, provisto de un tapón de vidrio, agregar 1 ml de ácido acético glacial y entre 0,5 a 1,0 g de ioduro de potasio. Insertar el tapón, agitar y dejar reposar durante 25 a 30 minutos en la oscuridad. Agregar 1 ml de almidón (SR) y titular con solución de tiosulfato de sodio 0,002 N hasta que desaparezca el color del complejo almidón-iodo. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de tiosulfato de sodio 0,002 N equivale a 34 μg de oxidante, calculado como peróxido de hidrógeno. No deben consumirse más de 1,4 ml de tiosulfato de sodio 0,002 N (0,002 %, expresado como H_2O_2).

Límite de dióxido de azufre

Solución de peróxido de hidrógeno - Preparar una solución de peróxido de hidrógeno al 3 %. Inmediatamente antes de usar, agregar 3 gotas de azul de bromofenol (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,01 N hasta punto final azul-violeta. No debe excederse del punto final.

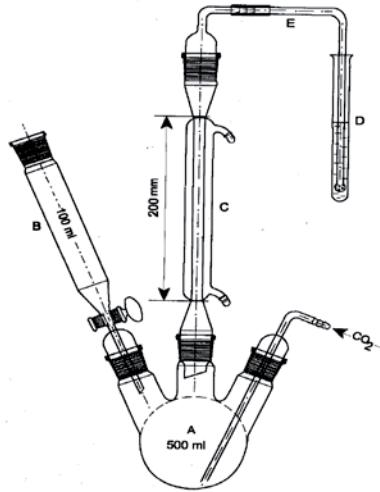


Figura - Aparato para la determinación de dióxido de azufre.

Procedimiento - Transferir 150 ml de agua al balón A (ver Figura), cerrar el grifo de la ampolla B y hacer pasar dióxido de carbono a través de todo el sistema, el caudal debe ser aproximadamente 100 ml por minuto, abrir el paso de agua fría a través del refrigerante y transferir 10 ml de *Solución de peróxido de hidrógeno* al tubo de recolección D. Luego de 15 minutos, sin interrumpir la corriente de dióxido de carbono remover la ampolla e introducir 25 mg de Almidón de Maíz con la ayuda de 100 ml de agua. Aplicar grasa de grifo a la junta externa de la separación de la ampolla, reemplazar la separación de la ampolla en el balón y cerrar el grifo. Agregar 80 ml de ácido clorhídrico diluido al balón evitando el escape de dióxido de azufre con el cierre del grifo luego del ácido clorhídrico agregado. Colocar el aparato en un baño de agua y calentar a ebullición durante 1 hora. Transferir cuantitativamente y con la ayuda de agua el contenido a un erlenmeyer. Calentar en un baño de agua durante 15 minutos y dejar enfriar. Agregar 0,1 ml de azul de bromofenol (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) hasta que el color vire de amarillo a azul-violeta con una duración no menor de 20 segundos. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Calcular el contenido de dióxido de azufre en μg por g por la fórmula siguiente:

$$32,030VN/P$$

en la cual V es el volumen en ml de hidróxido de sodio consumido, N es la normalidad del hidróxido de sodio empleado y P es el peso en mg de la porción de Almidón de Maíz en ensayo: no debe contener más de 50 μg por g de sustancia.

Límite de Gliadinas

Aplicar un método inmunológico que detecte específicamente las proteínas nocivas para los enfermos celíacos. Este análisis no debe presentar interferencias por reactividad cruzada con proteínas no relacionadas y debe mostrar una alta capacidad de detección. El límite es 1 ppm.

ROTULADO

Cuando Almidón de Maíz este destinado a la preparación de formas farmacéuticas en cuyo rótulo se indique que es APTO PARA CELÍACOS, debe cumplir con *Límite de Gliadinas*.

ALMIDÓN DE PAPA

Definición - Almidón de Papa es obtenido a partir de los tubérculos de *Solanum tuberosum* L y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco muy fino. Inodoro. Prácticamente insoluble en agua fría y alcohol.



Morfología de los granos de almidón de papa.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Colocar partículas de Almidón de Papa en una mezcla de glicerol y agua (1:1) sobre un portaobjetos de vidrio y examinar la mezcla empleando un microscopio: debe presentar granos de contorno irregular, ovales y piriformes de 30 a 100 μm , o redondeados de 10 a 35 μm . Puede haber ocasionalmente granos con dos a cuatro componentes. Los granos ovales y piriformes deben tener un hilo excéntrico, los redondeados un hilo centrado o ligeramente excéntrico, todos deben mostrar estrías concéntricas claramente visibles; los granos deben presentar una cruz cuando se interponen entre prismas de Nicol cruzados.

B - Suspender 1 g de Almidón de Papa en 50 ml de agua, calentar a ebullición durante 1 minuto y enfriar: debe formarse un delgado mucílago turbio.

C - A 1 ml del mucílago obtenido en el ensayo de Identificación B agregar 0,05 ml de Iodo-ioduro de potasio (SR1): debe presentar coloración azul oscuro, la cual desaparece al calentar.

Determinación del pH <250>

Pesar exactamente alrededor de 5,0 g de Almidón de Papa, transferir a un matraz aforado de 25 ml y completar a volumen con agua recientemente hervida y enfriada. Dejar reposar durante

15 minutos. El pH de la solución debe estar comprendido entre 5,0 y 8,0.

Límite de hierro

Debe cumplir con los requisitos cuando se ensaya según se indica en *Límite de hierro en Almidón de Maíz*.

Pérdida por secado <680>

Secar a 130 °C durante 90 minutos: no debe perder más de 20 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,6 % determinado a 600 ± 50 °C.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

El recuento de microorganismos aerobios viables totales no debe ser mayor que 10^3 bacterias ni 10^2 hongos por gramo determinados por recuento en placa. La sustancia en ensayo debe cumplir con el ensayo de *Escherichia coli*.

Sustancias oxidantes

Debe cumplir con los requisitos cuando se ensaya según se indica en *Sustancias oxidantes en Almidón de Maíz*.

Límite de dióxido de azufre

Debe cumplir con los requisitos cuando se ensaya según se indica en *Límite de dióxido de azufre en Almidón de Maíz*.

Límite de Gliadinas

Aplicar un método inmunoquímico que detecte específicamente las proteínas nocivas para los enfermos celíacos. Este análisis no debe presentar interferencias por reactividad cruzada con proteínas no relacionadas y debe mostrar una alta capacidad de detección. El límite es 1 ppm.

ROTULADO

Cuando Almidón de Papa este destinado a la preparación de formas farmacéuticas en cuyo rótulo se indique que es APTO PARA CELÍACOS, debe cumplir con *Límite de Gliadinas*.

ALMIDÓN DE TRIGO

Definición - Almidón de Trigo es obtenido a partir de la cariósida de *Triticum aestivum* L y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo muy fino de color blanco. Prácticamente insoluble en agua fría y alcohol. Puede contener una pequeña cantidad de fragmentos del tejido de la planta original.



Morfología de los granos de almidón de trigo.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Colocar partículas de Almidón de Trigo en una mezcla de agua y glicerol (1:1) sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio: debe presentar granos grandes y pequeños y muy raramente de tamaño intermedio; los granos grandes con un diámetro entre 10 a 60 μm son discoideas o más raramente reniformes vistos de frente; debe presentar un hilo central y estrías invisibles o poco visibles, y a veces con grietas en los bordes; vistos de perfil, los granos son elípticos y fusiformes y el hilo debe aparecer como una hendidura a lo largo del eje principal; los granos pequeños redondeados y poliédricos, tienen un diámetro de 2 a 10 μm ; los granos deben presentar una cruz cuando se interponen entre prismas de Nicol cruzados.

B - Suspender 1 g de Almidón de Trigo en 50 ml de agua, calentar a ebullición durante 1 minuto y enfriar: debe formarse un delgado mucílago turbio.

C - A 1 ml del mucílago obtenido en el ensayo de Identificación B agregar 0,05 ml de iodo-ioduro de potasio (SR1): debe presentar coloración azul oscuro, la cual desaparece al calentar.

Determinación del pH <250>

Pesar exactamente alrededor de 5,0 g de Almidón de Trigo, transferir a un matraz aforado de 25 ml y completar a volumen con agua reciente-

mente hervida y enfriada. Dejar reposar durante 15 minutos. El pH de la solución debe estar comprendido entre 4,5 y 7,0.

Límite de hierro

Debe cumplir con los requisitos cuando se ensaya según se indica en *Límite de hierro en Almidón de Maíz*.

Proteínas totales

Pesar exactamente alrededor de 6,0 g de Almidón de Trigo, transferir a un erlenmeyer de combustión y agregar 4 g de una mezcla de 100 g de sulfato de potasio, 5 g de sulfato cúprico y 2,5 g de selenio y 3 perlas de vidrio. Lavar el cuello y las paredes del erlenmeyer con 5 ml de ácido sulfúrico para arrastrar las partículas adheridas y mezclar con movimientos rotatorios. Tapar el erlenmeyer de forma no hermética para evitar una pérdida excesiva de ácido sulfúrico y calentar gradualmente, aumentando la temperatura hasta ebullición vigorosa con condensación del ácido sulfúrico en el cuello del matraz. [Precaución: se debe evitar un sobrecalentamiento en la parte superior del erlenmeyer]. Continuar la ebullición durante 30 minutos, dejar enfriar, disolver el material sólido agregando cuidadosamente 25 ml de agua, enfriar nuevamente y transferir la mezcla a un aparato de destilación. Agregar 30 ml de hidróxido de sodio concentrado (42 en 100) y destilar inmediatamente haciendo pasar el vapor por la mezcla. Recolectar aproximadamente 40 ml del destilado en 20,0 ml de ácido clorhídrico 0,01 N (SV) con suficiente agua para cubrir el extremo del refrigerante. Hacia el final de la destilación, bajar el envase colector de manera que la parte terminal del refrigerante se halle por encima de la superficie de la solución. Tomar las precauciones necesarias para evitar que el agua condensada en la superficie exterior del refrigerante se mezcle con el contenido del envase recolector. Titular el destilado con hidróxido de sodio 0,01 N (SV) empleando Púrpura de metilo (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco empleando 50 mg de glucosa en lugar de Almidón de Trigo y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Calcular el contenido de nitrógeno mediante la fórmula siguiente:

$$0,01401V/P$$

en la cual V es el volumen en ml de hidróxido de sodio 0,01 N consumido y P es el peso en g de la porción de Almidón de Trigo en ensayo: no debe contener más de 0,3 % de proteínas totales (correspondientes a 0,048 % de N_2 , con un factor de conversión de 6,25).

Pérdida por secado <680>

Secar a 130 °C durante 90 minutos: no debe perder más de 15,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,6 % determinado a 600 ± 50 °C.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

El recuento de microorganismos aerobios viables totales no debe ser mayor que 10^3 bacterias ni 10^2 hongos por gramo determinados por recuento en placa. La sustancia en ensayo debe cumplir con el ensayo de *Escherichia coli*.

Sustancias oxidantes

Debe cumplir con los requisitos cuando se ensaya según se indica en *Sustancias oxidantes* en *Almidón de Maíz*.

Límite de dióxido de azufre

Debe cumplir con los requisitos cuando se ensaya según se indica en *Límite de dióxido de azufre* en *Almidón de Maíz*.

Límite de Gliadinas

Aplicar un método inmunoquímico que detecte específicamente las proteínas nocivas para los enfermos celíacos. Este análisis no debe presentar interferencias por reactividad cruzada con proteínas no relacionadas y debe mostrar una alta capacidad de detección. El límite es 1 ppm.

ROTULADO

Cuando Almidón de Trigo este destinado a la preparación de formas farmacéuticas en cuyo rótulo se indique que es APTO PARA CELÍACOS, debe cumplir con *Límite de Gliadinas*.

ALMIDÓN GLICOLATO SÓDICO

Definición - Almidón Glicolato Sódico es la Sal sódica del éter carboximetílico del almidón o del éter carboximetílico entrecruzado del almidón. Puede contener no más de 7,0 por ciento de Cloruro de Sodio. Almidón Glicolato Sódico tipo A debe contener no menos de 2,8 por ciento y no más de 4,2 por ciento de sodio y Almidón Glicolato Sódico tipo B no debe contener no menos de 2,0 y no más de 3,4 por ciento de sodio y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco, insípido, inodoro, se desliza relativamente bien; disponible en varios grados diferentes de viscosidad. Una dispersión al 2% (p/v) en agua fría sedimenta por reposo en forma de capa altamente hidratada.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados, preferentemente protegidos de variaciones amplias de temperatura y humedad que pueden causar aglutinación.

ENSAYOS

Identificación

A - Una solución de Almidón Glicolato Sódico levemente acidificada debe desarrollar color azul en presencia de iodo-ioduro de potasio (SR).

B - Una porción de 2 ml de la solución preparada para *Límite de hierro* debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

Determinación del pH <250>

Dispersar 1 g de Almidón Glicolato Sódico en 30 ml de agua: el pH de la suspensión resultante debe estar comprendido entre 5,5 y 7,5 para el tipo A y entre 3,0 y 5,0 para el tipo B.

Pérdida por secado <680>

Secar a 130 °C durante 90 minutos: no debe perder más de 10,0 % de su peso.

Límite de hierro

Transferir 2,5 g de Almidón Glicolato Sódico a un crisol de platino o sílice, agregar 2 ml de ácido sulfúrico 10 N y calentar en baño de agua aumentando progresivamente la temperatura. Someter a ignición a 600 ± 25 °C y continuar calentando hasta que toda partícula negra haya desaparecido. Enfriar, agregar unas gotas de ácido sulfúrico 2 N, calentar y someter a ignición a la misma temperatura. Agregar unas gotas de carbonato de amonio 2 N, evaporar a sequedad y someter a ignición a la misma temperatura. Enfriar, disolver el residuo en 50 ml de agua y mezclar. Transferir 10 ml de esta solución y 10 ml de solución de hierro (1 ppm)

(SL) (solución control) a sendos matraces de 20 ml, agregar 2 ml de solución de ácido cítrico al 20 % y 0,1 ml de ácido tioglicólico y mezclar. Agregar hidróxido de amonio hasta que las soluciones sean alcalinas al papel tornasol, completar a volumen con agua y mezclar. Luego de 5 minutos la solución obtenida a partir de la solución muestra debe ser de color rosa y no más intensa que la del control (0,002 %).

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Límite de cloruro de sodio

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Almidón Glicolato Sódico, suspender en 100 ml de agua, agregar 1 ml de ácido nítrico y titular con nitrato de plata 0,1 N (SV) determinando el punto final potenciométricamente, empleando un electrodo indicador de plata y un electrodo de referencia de doble unión que contenga una solución de nitrato de potasio al 10 % en la camisa externa y una solución de relleno estándar en la camisa interna (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de nitrato de plata 0,1 N equivale a 5,84 mg de ClNa.

Límite de glicolato de sodio

[NOTA: emplear material inactivo.]

Solución de 2,7-dihidroxinaftaleno - Disolver 10 mg de 2,7-dihidroxinaftaleno en 100 ml de ácido sulfúrico y dejar reposar hasta decoloración. [NOTA: emplear antes de los dos días de su preparación.]

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 310 mg de ácido glicólico previamente secado en desecador durante toda la noche a temperatura ambiente, transferir a un matraz aforado de 500 ml, disolver en agua, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, agregar 4 ml de ácido acético 6 N y dejar reposar durante 30 minutos. Agregar 50 ml de acetona y 1 g de cloruro de sodio, mezclar, filtrar empleando papel de filtro humedecido con acetona. Lavar el matraz y el filtro con acetona, combinar el filtrado con el líquido de lavado, completar a volumen con solución de acetona y mezclar. Dejar reposar durante 24 horas y emplear el líquido sobrenadante como líquido de comparación.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Almidón Glicolato Sódico, transferir a un vaso de precipitados de 100 ml, agregar 4 ml de ácido acético 6 N y 5 ml de agua y agitar hasta disolver durante 10 minutos. Agregar 50 ml de acetona y 1 g de cloruro de sodio, mezclar, filtrar empleando papel de filtro humedecido con acetona. Lavar el matraz y el filtro con acetona, combinar el

filtrado con el líquido sobrenadante, completar a volumen con acetona y dejar reposar durante 24 horas. Se debe emplear el líquido sobrenadante.

Procedimiento - Calentar por separado 2 ml de *Solución estándar* y *Solución muestra* en un baño de agua durante 20 minutos para eliminar la acetona, enfriar a temperatura ambiente, agregar 20,0 ml de *Solución de 2,7-dihidroxinaftaleno*, mezclar y calentar en baño de agua durante 20 minutos. Enfriar bajo corriente de agua, transferir cuantitativamente a un matraz aforado de 25 ml y completar a volumen con ácido sulfúrico bajo corriente de agua. Antes de los 10 minutos determinar la absorbancia de la *Solución estándar* y la *Solución muestra* a 540 nm empleando agua como blanco: la absorbancia de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la de la *Solución estándar* (2,0 %).

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir para el ensayo de *Salmonella sp.* y *Escherichia coli*.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Almidón Glicolato Sódico, disolver en 20 ml de alcohol al 80 %, agitar durante 10 minutos y filtrar. Repetir la extracción hasta que el cloruro haya sido completamente eliminado. Secar la porción insoluble a 105 °C hasta peso constante, transferir a un erlenmeyer 700 mg exactamente pesados, agregar 80 ml de ácido acético glacial y calentar a reflujo en baño de agua hirviendo durante 2 horas. Enfriar a temperatura ambiente y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Calcular la cantidad en porcentaje de sodio combinado en la forma de almidón glicolato sódico por la fórmula siguiente:

$$100(22,99)VN/P$$

en la cual *V* es el volumen en ml del ácido perclórico 0,1 N (SV) consumido, *N* es la normalidad del ácido perclórico y *P* es el peso en mg de la porción de Almidón Glicolato Sódico del residuo seco insoluble en alcohol al 80 % en ensayo.

ROTULADO

Se debe indicar en el rótulo el intervalo de pH.

ALMIDÓN PREGELATINIZADO

Definición - Almidón Pregelatinizado es Almidón químicamente y/o mecánicamente procesado para disgregar todos o parte de los gránulos, en presencia de agua y posteriormente secado. Algunas clases de Almidón Pregelatinizado pueden ser modificados para hacerlos compresibles y de fácil fluidez. Almidón Pregelatinizado debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo moderadamente grueso a fino, blanco o casi blanco. Poco soluble a soluble en agua fría; insoluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A una suspensión de Almidón Pregelatinizado, agregar unas gotas de yodo (SR): debe desarrollar coloración azul intenso.

Determinación del pH <250>

Suspender $10,0 \pm 0,1$ g de Almidón Pregelatinizado en 10 ml de alcohol y diluir con agua a 100 ml. Agitar continuamente con velocidad moderada durante 5 minutos y determinar inmediatamente el pH: debe estar comprendido entre 4,5 y 7,0.

Pérdida por secado <680>

Secar a $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 4 horas: no debe perder más de 14,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,5 %.

Límite de hierro <580>

Disolver el residuo obtenido en el ensayo 270. *Determinación del residuo de ignición* en 8 ml de ácido clorhídrico con la ayuda de calentamiento suave, diluir con agua a 100 ml y mezclar. Diluir 25 ml de esta solución con agua a 47 ml: el límite es 20 ppm (0,002 %).

Sustancias oxidantes

A 5,0 g de Almidón Pregelatinizado agregar 20 ml de una mezcla de metanol y agua (50:50), agregar 1 ml de ácido acético 6 N y agitar hasta obtener una suspensión homogénea. Agregar 0,5 ml de una solución saturada recientemente preparada de yoduro de potasio, mezclar y dejar reposar durante 5 minutos: no se debe observar color azul, pardo o púrpura.

Límite de dióxido de azufre

Mezclar 20,0 g de Almidón Pregelatinizado con

200 ml de una solución de sulfato de sodio anhidro (1 en 5) y filtrar. A 100 ml del filtrado transparente obtenido, agregar 3 ml de almidón (SR) y titular con iodo 0,01 N (SV) hasta obtener color azul permanente: no se debe consumir más de 2,7 ml (0,008 %).

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

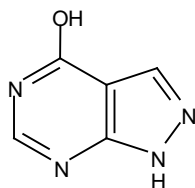
Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

El recuento de aerobios viables totales no debe ser mayor de 10^3 por gramo y el recuento de hongos y levaduras no debe ser mayor de 10^2 . Debe cumplir con los requisitos del ensayo para *Salmonella spp.* y *Escherichia coli*.

ROTULADO

Indicar fuente de obtención.

ALOPURINOL



$C_5H_4N_4O$ PM:136,1 315-30-0

Definición - Alopurinol es 1H-Pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ol. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_5H_4N_4O$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Soluble en soluciones diluidas de hidróxidos alcalinos; muy poco soluble en agua y alcohol; prácticamente insoluble en éter y cloroformo.

Sustancias de referencia - Alopurinol SR-FA. Impureza A de Alopurinol SR-FA: Hemisulfato de 3-aminopirazol-4-carboxamida.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Disolver 10 mg de Alopurinol en 1 ml de hidróxido de sodio 0,1 N y diluir a 100 ml con ácido clorhídrico 0,1 N. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con ácido clorhídrico 0,1 N. Examinar entre 220 y 350 nm (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*). La solución debe presentar un máximo de absorción a aproximadamente 250 nm y un mínimo a aproximadamente 231 nm. La relación de absorancias medidas a 231 y 250 nm, se debe encontrar entre 0,52 y 0,62.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío durante 5 horas a 105 °C: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con celulosa para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,1 mm de espesor.

Fase móvil - Emplear una mezcla preparada agitando 200 ml de alcohol *n*-butílico y 200 ml de hidróxido de amonio 6 N, descartar la fase inferior y

agregar 20 ml de alcohol *n*-butílico a la fase superior.

Solución estándar - Disolver una cantidad de Impureza A de Alopurinol SR-FA en hidróxido de amonio 6 N para obtener una solución de aproximadamente 50 µg por ml.

Solución muestra - Disolver 250 mg de Alopurinol en 10,0 ml de una mezcla de hidróxido de amonio 6 N e hidróxido de sodio 1 N (9:1) y mezclar.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de la *Solución estándar* y 10 µl de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm: ninguna mancha secundaria en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar* (0,2 %).

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Alopurinol, disolver en 30 ml de dimetilformamida, calentando si fuera necesario, y titular con hidróxido de tetrabutilamonio 0,1 N (SV). Determinar el punto final potenciométricamente, empleando un sistema de electrodos de vidrio-calomel y tomando las precauciones necesarias para impedir la absorción de dióxido de carbono atmosférico. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de tetrabutilamonio 0,1 N equivale a 13,61 mg de $C_5H_4N_4O$.

ALQUITRÁN MINERAL

Definición - El Alquitrán Mineral es el alquitrán obtenido como subproducto durante la destilación destructiva del carbón bituminoso a temperaturas entre 900 y 1.100 °C.

Caracteres generales - Líquido viscoso de color negro, más pesado que el agua. Se solubiliza casi completamente en nitrobenceno, quedando solamente una pequeña porción sin disolverse suspendida en la solución; moderadamente soluble en acetona, alcohol, cloroformo, disulfuro de carbono, éter, éter de petróleo y metanol, poco soluble en agua, a la cual le imparte un olor característico y una débil reacción alcalina.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

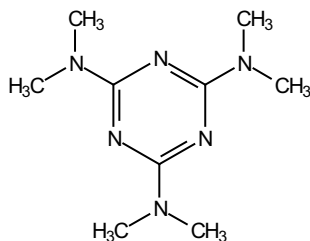
A - Una solución saturada de Alquitrán Mineral debe ser alcalina frente al tornasol.

B - A 10 ml de éter de petróleo, agregar con cuidado 0,5 g de Alquitrán Mineral y dejar reposar durante 30 minutos. El líquido sobrenadante, examinado a la luz natural debe presentar fluorescencia azul que debe ser más intensa cuando se observa bajo luz ultravioleta a 366 nm.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 2,0 %, determinado sobre 100 mg.

ALTRETAMINA



$C_9H_{18}N_6$ PM: 210,3 645-05-6

Definición - Altretamina es *N,N,N',N',N'',N''*-Hexametil-1,3,5-triazina-2,4,6-triamina. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_9H_{18}N_6$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco cristalino. Soluble en cloroformo; insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Altretamina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 1 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límites de metales pesados <590>

Método II. No más de 40 μg por g.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 227 nm y una columna de 30 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Solución reguladora de pH 8,0 - Disolver 790 mg de carbonato de amonio en 1 litro de agua.

Ajustar a pH 8,00 \pm 0,05 con una solución de ácido fórmico 1 en 10 o hidróxido de amonio 1 en 10.

Fase móvil - Metanol y **Solución reguladora de pH 8** (65:35). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Metanol y agua (65:35).

Preparación estándar - Pesarse exactamente alrededor de 25 mg de Altretamina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en 35 ml de metanol, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 0,05 mg por ml.

Preparación muestra - Pesarse exactamente alrededor de 25 mg de Altretamina, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en 35 ml de metanol, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 1,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_9H_{18}N_6$ en la porción de Altretamina en ensayo.

ALUMINIO DESECADO, HIDRÓXIDO DE

Al(OH)₃ PM: 78,0 21645-51-2

Definición - Hidróxido de Aluminio Desecado es Hidróxido de Aluminio amorfo en el cual hay una sustitución parcial de carbonato por hidróxido. Debe contener el equivalente a no menos de 76,5 por ciento de Al(OH)₃, puede contener cantidades variables de carbonato básico de aluminio y bicarbonato y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco, inodoro, amorfo. Soluble en ácidos minerales diluidos y en soluciones de hidróxidos alcalinos fijos; insoluble en agua y alcohol.

Sustancia de referencia - Hidróxido de Aluminio Desecado SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Disolver 500 mg de Hidróxido de Aluminio Desecado en 10 ml de ácido clorhídrico 3 N, calentar suavemente: la solución debe responder a los ensayos para *Aluminio* <410>.

Capacidad neutralizante de ácido <30>

No menor a 25,0 mEq por g, cuando se ensayan 400 mg según se indica para *Polvos* en *Preparaciones muestra*.

Determinación del pH <250>

No debe ser mayor de 10,0, determinado sobre una dispersión acuosa 1 en 25.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Disolver 1,0 g de Hidróxido de Aluminio Desecado en 30 ml de ácido nítrico 2 N, calentar a ebullición, agregar agua para obtener 100 ml y filtrar: una porción de 5,0 ml del filtrado, diluido con un volumen igual de agua, no debe presentar más cloruro que el correspondiente a 0,60 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,85 %).

Sulfato - Disolver 330 mg en 15 ml de ácido clorhídrico 3 N, calentar a ebullición, agregar agua para obtener 250 ml y filtrar: una porción de 25 ml del filtrado no debe presentar más sulfato que el correspondiente a 0,20 ml de ácido sulfúrico 0,020 N (0,6 %).

Límite de arsénico <540>

Método I. Disolver 1,5 g en 80 ml de ácido sulfúrico 7 N y diluir a 220 ml con agua: 55 ml de la solución resultante debe cumplir con los requisitos del ensayo, pero omitiendo el agregado de 20 ml de ácido sulfúrico 7 N especificado en *Procedimiento*. El límite es 8 ppm.

Límite de metales pesados <590>

Disolver 330 mg de Hidróxido de Aluminio Desecado en 10 ml de ácido clorhídrico 3 N con la ayuda de calor, filtrar si fuera necesario y diluir a 25 ml con agua: no más de 0,006 %.

VALORACIÓN

Solución titulante de edetato disódico - Disolver 18,6 g de edetato disódico en agua para obtener 1 litro.

Estandarización de la Solución titulante de edetato disódico - Pesar exactamente alrededor de 2,0 g de alambre de aluminio, transferir a un matraz aforado de 1 litro y agregar 50 ml de una mezcla de ácido clorhídrico y agua (1:1). Agitar el matraz por rotación ocasionalmente hasta que todo el aluminio se haya disuelto. Completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 10 ml de esta solución a un vaso de precipitados de 250 ml y agregar en el siguiente orden, agitando continuamente: 25,0 ml de *Solución titulante de edetato disódico* y 20 ml de solución reguladora de ácido acético-acetato de amonio (SR). Calentar a ebullición suavemente durante 5 minutos. Enfriar y agregar 50 ml de alcohol y 2 ml de ditizona (SR). Titular con sulfato de cinc 0,05 M (SV) hasta color rosado brillante. Realizar una determinación con un blanco, sustituyendo la solución de aluminio por 10 ml de agua y hacer las correcciones necesarias. Calcular la molaridad de la solución por la fórmula siguiente:

$$P/27,0V$$

en la cual *P* es el peso en mg de aluminio en la porción de solución en ensayo y *V* es el volumen consumido en ml de la *Solución de edetato disódico*.

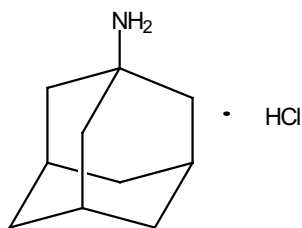
Procedimiento - Pesar exactamente alrededor de 2,0 g de Hidróxido de Aluminio Desecado y disolver en 15 ml de ácido clorhídrico con la ayuda de calor. Enfriar, transferir a un matraz aforado de 500 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 20 ml de esta solución a un vaso de precipitados de 250 ml y agregar, en el siguiente orden y agitando continuamente: 25,0 ml de *Solución titulante de edetato disódico* y 20 ml de solución reguladora de ácido acético-acetato de amonio (SR), luego calentar la solución casi a punto de ebullición durante 5 minutos. Enfriar y agregar

50 ml de alcohol y 2 ml de ditizona (SR). Titular la solución con sulfato de cinc 0,05 M (SV) hasta color rosado brillante. Realizar una determinación con un blanco, sustituyendo la solución en ensayo por 20 ml de agua, y hacer las correcciones necesarias. Cada ml de *Solución titulante de edetato disódico* 0,05 M equivale a 3,90 mg de $\text{Al}(\text{OH})_3$.

ROTULADO

Cuando en el rótulo se declare la cantidad equivalente de Hidróxido de Aluminio Desechado, se debe entender que cada mg de Hidróxido de Aluminio Desechado equivale a 0,765 mg de $\text{Al}(\text{OH})_3$.

AMANTADINA, CLORHIDRATO DE



$C_{10}H_{17}N \cdot HCl$ PM: 187,7 665-66-7

Definición - Clorhidrato de Amantadina es Clorhidrato de 1-adamantanamina. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{10}H_{17}N \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol y cloroformo.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Amantadina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Disolver 2,5 g de Clorhidrato de Amantadina en agua libre de dióxido de carbono y diluir a 25 ml con el mismo solvente. Transferir 1 ml de esta solución a un recipiente apropiado: debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 3,0 y 5,5; determinado sobre una solución 1 en 5.

Transparencia de la solución

Disolver 2 g de Clorhidrato de Amantadina en 10 ml de agua: la solución debe ser transparente y casi incolora.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,5 %.

Límite de metales pesados <590>

Método I. Emplear 1 ml de ácido acético 1 N en preparación de la *Solución muestra*. No más de 0,001 %.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama, una columna de sílice fundida de $30\text{ m} \times 0,53\text{ mm}$ con fase estacionaria constituida por 5 % de fenil polisiloxano 95 % de metil polisiloxano de $1\text{ }\mu\text{m}$ y un sistema de inyección de flujo dividido. Emplear helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 4 ml por minuto y un caudal de compensación de 200 ml por minuto, con un flujo dividido en la proporción 50:1. Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 220 y 300 °C, respectivamente. Equilibrar la columna a aproximadamente 70 °C durante 5 minutos y luego incrementar linealmente a razón de 10 °C por minuto hasta 250 °C durante al menos 17 minutos.

Solución del estándar interno - Pesarse exactamente alrededor de 500 mg de adamantano, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver con diclorometano, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Solución estándar - Pesarse exactamente alrededor de 10 mg de Clorhidrato de Amantadina SR-FA y transferir a una ampolla de decantación. Agregar 20 ml de hidróxido de sodio 5,0 N y 18 ml de diclorometano y agitar durante 10 minutos. Descartar la fase acuosa, secar la fase orgánica agitando por rotación con sulfato de sodio anhidro y dejar reposar durante unos minutos para asegurar que el agua remanente ha sido removida. Filtrar, recolectar el filtrado en un matraz aforado de 20 ml, agregar 0,2 ml de *Solución del estándar interno* y completar a volumen con diclorometano.

Solución muestra - Pesarse exactamente alrededor de 1,0 g de Clorhidrato de Amantadina, transferir a una ampolla de decantación. Agregar 20 ml de hidróxido de sodio 5,0 N y 18 ml de diclorometano y agitar durante 10 minutos. Descartar la fase acuosa, secar la fase orgánica agitando por rotación con sulfato de sodio anhidro y dejar reposar durante unos minutos para asegurar que el agua remanente ha sido removida. Filtrar, recolectar el filtrado en un matraz aforado de 20 ml, agregar 0,2 ml de *Solución del estándar interno* y completar a volumen con diclorometano.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente de 0,7 para adamantano y 1,0 para la clorhidrato de amantadina; la resolución *R* entre los picos de adamantano y clorhidrato de amantadina no debe ser menor de 20; la desviación estándar relativa

para inyecciones repetidas determinada a partir de los cocientes de las respuestas de los picos de amantadina y adamantano no debe ser mayor de 5,0%.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 2 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra* registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Clorhidrato de Amantadina en ensayo, relacionando la respuesta del pico de cada impureza individual y la del estándar interno obtenidas a partir de la *Solución muestra* con las respuestas de los picos de amantadina y de adamantano obtenidos a partir de la *Solución estándar*. No debe contener más de 0,3 % de cualquier impureza individual y no más de 1,0 % de impurezas totales.

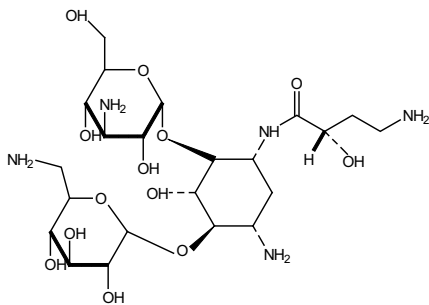
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 150 mg de Clorhidrato de Amantadina, disolver en una mezcla de 50 ml de alcohol y 5 ml de ácido clorhídrico 0,1 N y agitar. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente (ver 780. *Volumetría*). Leer el volumen agregado entre los dos puntos de inflexión. Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 18,77 mg de $C_{10}H_{17}N \cdot HCl$.

AMIKACINA



$C_{22}H_{43}N_5O_{13}$ PM: 585,6 37517-28-5

Definición - Amikacina es 6--O-(3-Amino-3-deoxi- α -D-glucopiranosil)-4-O-(6-amino-6-deoxi- α -D-glucopiranosil)-N¹-[(2S)-4-amino-2-hidroxibutanoil]-2-deoxi-D-estreptamina. Debe contener no menos de 96,5 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{22}H_{43}N_5O_{13}$, calculada sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Moderadamente soluble en agua; poco soluble en metanol; prácticamente insoluble en acetona y alcohol.

Sustancias de referencia - Amikacina SR-FA. Impureza A de Amikacina SR-FA: 4-O-(3-amino-3-desoxi- α -D-glucopiranosil)-6-O-(6-amino-6-desoxi- α -D-glucopiranosil)-1-N-[(2S)-4-amino-2-hidroxibutanoil]-2-desoxi-L-estreptamina.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Determinación del pH <250>

Entre 9,5 y 11,5; determinado sobre una solución al 1 %, en agua libre de dióxido de carbono.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 8,5 %.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +97° y +105°, calculada sobre la sustancia anhidra.

Solución muestra: Disolver 0,5 g de Amikacina en agua y diluir a 25 ml con el mismo solvente.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,5 %.

Sustancias relacionadas

[NOTA: mantener la temperatura de todas las preparaciones en ensayo a aproximadamente 10 °C].

Sistema cromatográfico y Fase móvil - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar A - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Impureza A de Amikacina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a volumen con agua. Transferir 0,2 ml de esta solución a un recipiente de vidrio con tapa esmerilada conteniendo 2,0 ml de una solución de ácido 2,4,6-trinitrobenceno sulfónico al 1 %. Agregar 3,0 ml de piridina, tapar y agitar enérgicamente durante 30 segundos. Calentar en un baño de agua a 75 °C durante 45 minutos. Enfriar en agua fría durante 2 minutos y agregar 2,0 ml de ácido acético glacial. Agitar durante 30 segundos.

Solución estándar B - Pesar exactamente alrededor de 5 mg de Amikacina SR-FA y 5 mg de Impureza A de Amikacina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver y completar a volumen con agua. Proceder según se indica para *Solución estándar A* comenzando donde dice "*Transferir 0,2 ml de esta solución...*".

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Amikacina, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver y completar a volumen con agua. Proceder según se indica para *Solución estándar A* comenzando donde dice "*Transferir 0,2 ml de esta solución...*".

Blanco - Proceder según se indica en *Solución estándar A* comenzando donde dice "*Transferir 0,2 ml de esta solución...*", pero empleando 0,2 ml de agua.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar B* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de amikacina e impureza A de amikacina no debe ser menor de 3,5.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución muestra*, la *Solución estándar A* y el *Blanco*. Registrar los cromatogramas de la *Solución muestra* durante cuatro veces el tiempo de retención de amikacina y medir las respuestas de todos los picos: la respuesta del pico correspondiente a impureza A de amikacina obtenido con la *Solución muestra* no debe ser mayor a la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (1 %); a excepción del pico principal y el pico correspondiente a impureza A de amikacina, la respuesta de ningún pico debe ser mayor que la mitad de la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar A* (0,5 %); la

suma de las respuestas de todos los picos de impurezas exceptuando la Impureza A, no debe ser mayor a 1,5 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (1,5 %). Descartar todo pico debido al *Blanco* y cualquier pico con una respuesta menor a 0,1 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (0,1%).

VALORACIÓN

[NOTA: mantener la temperatura de todas las preparaciones en ensayo a aproximadamente 10 °C].

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 340 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. La temperatura de la columna se debe mantener a 30 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol y solución de fosfato monobásico de potasio al 0,27 % ajustada a pH 6,5 con hidróxido de potasio al 2,2 % (70:30). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Transferir aproximadamente 50 mg de Amikacina SR-FA, exactamente pesados, a un matraz aforado de 50 ml. Disolver, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 0,2 ml de esta solución a un recipiente de vidrio con tapa esmerilada conteniendo 2,0 ml de una solución de ácido 2,4,6-trinitrobenceno sulfónico al 1 %. Agregar 3,0 ml de piridina, tapar y agitar enérgicamente durante 30 segundos. Calentar en un baño de agua a 75 °C durante 45 minutos. Enfriar en agua fría durante 2 minutos y agregar 2,0 ml de ácido acético glacial. Agitar durante 30 segundos.

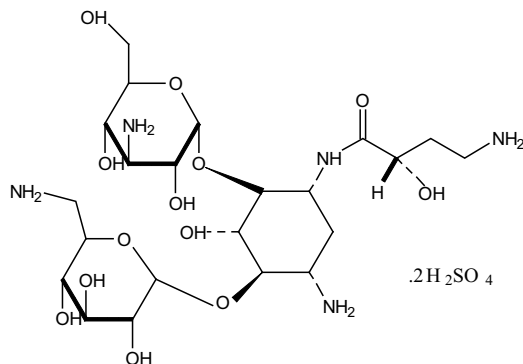
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Amikacina, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver, completar a volumen con agua y mezclar. Proceder según se indica para *Preparación estándar* comenzando donde dice "Transferir 0,2 ml de esta solución...".

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la

cantidad de C₂₂H₄₃N₅O₁₃ en la porción de Amikacina en ensayo.

AMIKACINA, SULFATO DE



$C_{22}H_{43}N_5O_{13} \cdot 2H_2SO_4$ PM: 781,8 39831-55-5

Definición - Sulfato de Amikacina es sulfato de 6-*O*-(3-Amino-3-desoxi- α -*D*-glucopiranosil)-4-*O*-(6-amino-6-desoxi- α -*D*-glucopiranosil)-1-*N*-[2(2*S*)-4-amino-2-hidroxibutanoil]-2-desoxi-*D*-estreptamina. Debe contener no menos de 96,5 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{22}H_{47}N_5O_{21}S_2$, calculada sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Muy soluble en agua; prácticamente insoluble en acetona y alcohol.

Sustancias de referencia - Sulfato de Amikacina SR-FA. Impureza A de Amikacina SR-FA: 4-*O*-(3-amino-3-desoxi- α -*D*-glucopiranosil)-6-*O*-(6-amino-6-desoxi- α -*D*-glucopiranosil)-1-*N*-[(2*S*)-4-amino-2-hidroxibutanoil]-2-desoxi-1-estreptamina.

CONSERVACIÓN

En envases herméticos.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Debe responder a los ensayos para Sulfato <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 2,0 y 4,0; determinado sobre una solución al 1 %, en agua libre de dióxido de carbono.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +76° y +84°, calculada sobre la sustancia seca.

Solución muestra: Disolver 0,5 g de Sulfato de Amikacina en agua y diluir a 25 ml con el mismo solvente.

Sustancias relacionadas

[NOTA: mantener la temperatura de todas las preparaciones en ensayo a aproximadamente 10 °C].

Sistema cromatográfico y Fase móvil - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar A - Pesarse exactamente alrededor de 10 mg de Impureza A de Amikacina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a volumen con agua. Transferir 0,2 ml de esta solución a un recipiente de vidrio con tapa esmerilada, conteniendo 2,0 ml de una solución de ácido 2,4,6-trinitrobenceno sulfónico al 1 %. Agregar 3 ml de piridina, tapar y agitar enérgicamente durante 30 segundos. Calentar en un baño de agua a 75 °C durante 2 horas. Enfriar en agua fría durante 2 minutos y agregar 2 ml de ácido acético glacial. Agitar durante 30 segundos.

Solución estándar B - Pesarse exactamente alrededor de 5 mg de Sulfato de Amikacina SR-FA y 5 mg de Impureza A de Amikacina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver y completar a volumen con agua. Proceder según se indica para *Solución estándar A* comenzando donde dice “Transferir 0,2 ml de esta solución...”.

Solución muestra - Disolver 100 mg de Sulfato de Amikacina en agua y diluir a 10 ml con el mismo solvente. Proceder según se indica para *Solución estándar A* comenzando donde dice “Transferir 0,2 ml de esta solución...”.

Blanco - Proceder según se indica para *Solución estándar A* comenzando donde dice “Transferir 0,2 ml de esta solución...”, pero empleando 0,2 ml de agua.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar B* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de sulfato de amikacina e impureza A de amikacina no debe ser menor de 3,5.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución muestra*, la *Solución estándar A* y el *Blanco*. Cromatografiar la *Solución muestra* durante cuatro veces el tiempo de retención de amikacina y registrar las respuestas de todos los picos: en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta del pico correspondiente a impureza A de amikacina no debe ser mayor a la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (1 %); a excepción del pico principal y el pico correspondiente a impureza A de amikacina, la respuesta de ningún pico debe ser mayor que la mitad de la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar A* (0,5 %); la suma de las respuestas de

todos los picos de impurezas, exceptuando la Impureza A no debe ser mayor a 1,5 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (1,5 %). Ignorar cualquier pico debido al *Blanco* y cualquier pico con una respuesta menor a 0,1 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (0,1 %).

Sulfato

Disolver 250 mg de Sulfato de Amikacina en 100 ml de agua y ajustar a pH 11,0 con amoníaco concentrado. Agregar 10,0 ml de Cloruro de bario 0,1 M y 0,5 mg de púrpura de ftaleína como indicador. Titular con Edetato disódico 0,1 M (SV) agregando 50 ml de alcohol cuando el color comience a cambiar y continuar la titulación hasta que el color violeta-azulado desaparezca. No debe contener más de 23,3 a 25,8 % de sulfato (SO_4^{2-}), calculado sobre la sustancia seca. Cada ml de Cloruro de bario 0,1 M equivale a 9,606 mg de sulfato.

Pérdida por secado <680>

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Sulfato de Amikacina, secar en estufa entre 100 y 105 °C y a una presión de no más de 5 mm de Hg durante 3 horas, enfriar y pesar: no debe perder más de 13,0 % de su peso.

Ensayo de piretógenos <340>

Cuando el Sulfato de Amikacina esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral, debe cumplir con los requisitos de ensayo, cuando se inyectan 5 ml de una solución de Sulfato de Amikacina de aproximadamente 25 mg por ml, en *Agua para inyectables* por kg de peso corporal del conejo.

VALORACIÓN

[NOTA: mantener la temperatura de todas las preparaciones en ensayo a aproximadamente 10 °C].

Sistema cromatográfico y Fase móvil - Proceder según se indica en *Valoración en Amikacina*.

Preparación estándar – Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Sulfato de Amikacina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver, completar a volumen con agua y mezclar. Proceder según se indica para *Solución estándar A* en *Sustancias relacionadas* comenzando donde dice “Transferir 0,2 ml de esta solución...”.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Sulfato de Amikacina, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver, completar a volumen con agua y mezclar. Proceder según se indica para *Solución estándar A* en *Sustancias relacionadas* comenzando donde dice “Transferir 0,2 ml de esta solución...”.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) -

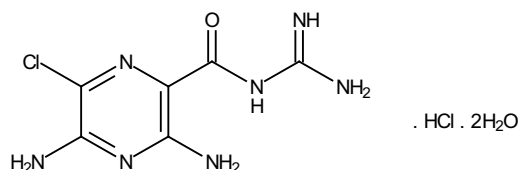
Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $\text{C}_{22}\text{H}_{47}\text{N}_5\text{O}_{21}\text{S}_2$ en la porción de Sulfato de Amikacina en ensayo.

ROTULADO

Cuando Sulfato de Amikacina esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral, indicar en el rótulo que es apirógena.

AMILORIDA, CLORHIDRATO DE



C₆H₈ClN₇O . HCl . 2H₂O PM: 302,1 17440-83-4

Definición - Clorhidrato de Amilorida es Clorhidrato de *N*-amidino-3,5-diamino-6-cloropirazincarboxamida dihidrato. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de C₆H₈ClN₇O . HCl, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo amarillo o amarillento verdoso, inodoro o prácticamente inodoro. Fácilmente soluble en dimetilsulfóxido; moderadamente soluble en metanol; poco soluble en agua; insoluble en acetato de etilo, acetona, cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Amilorida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*.

B - Absorción ultravioleta <470>

Concentración: Preparar una solución de Clorhidrato de Amilorida que contenga 600 µg por ml en agua. Diluir con ácido clorhídrico 0,1 N hasta obtener una solución de aproximadamente 9,6 µg por ml.

C - Una solución de Clorhidrato de Amilorida debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Acidez

Disolver 1,0 g de Clorhidrato de Amilorida en 100 ml de una mezcla de metanol y agua (1:1) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N, determinando el punto final potenciométricamente: deben consumirse no más de 0,30 ml (0,1 % como HCl).

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Debe contener entre 11,0 y 13,0 % determinado sobre 200 mg.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía de 0,25 mm de espesor, previamente lavada con metanol.

Fase móvil - Tetrahidrofurano e hidróxido de amonio 3 N (15:2).

Diluyente - Metanol y cloroformo (4:1).

Soluciones estándar - Preparar una serie de soluciones *A, B, C, D, E* y *F* de Clorhidrato de Amilorida SR-FA en *Diluyente* según se indica a continuación:

Solución estándar	Concentración µg por ml	% con respecto a la muestra
<i>A</i>	4.000	100
<i>B</i>	40	1
<i>C</i>	20	0,5
<i>D</i>	8	0,2
<i>E</i>	4	0,1
<i>F</i>	2	0,05

Solución muestra - Preparar una solución de Clorhidrato de Amilorida en *Diluyente* de aproximadamente 4 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de cada una de las *Soluciones estándar A, B, C, D, E* y *F* y 5 µl de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones con una corriente de nitrógeno y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 366 nm: el valor de *R_f* de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar al obtenido con la *Solución estándar A*. Estimar la intensidad de cualquier mancha secundaria observada en el cromatograma de la *Solución muestra* comparando con las manchas principales en los cromatogramas de las *Soluciones estándar B, C, D, E* y *F*: la suma de las intensidades de cualquier mancha secundaria no debe ser mayor que la intensidad de la mancha principal obtenida con la *Solución estándar B* (1 %).

Impurezas orgánicas volátiles <520>

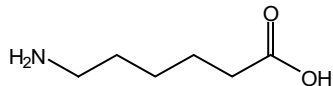
Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Clorhidrato de Amilorida, disolver en una mezcla de 5 ml de ácido clorhídrico 0,01 N y 50 ml de alcohol y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) determinando el punto final potenciométricamente (ver 780. *Volumetría*). Leer el volumen agregado entre los dos puntos de inflexión. Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 26,61 mg de $C_6H_8ClN_7O \cdot HCl$.

AMINOCAPROICO, ÁCIDO



$C_6H_{13}NO_2$

PM: 131,2

60-32-2

Definición - Ácido Aminocaproico es Ácido 6-aminohexanoico. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,5 por ciento de $C_6H_{13}NO_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco. Inodoro. Funde aproximadamente a 205 °C. Sus soluciones son neutras al tornasol. Fácilmente soluble en ácidos, agua y en soluciones de hidróxidos alcalinos; poco soluble en alcohol y metanol; prácticamente insoluble en cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Ácido Aminocaproico SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C. No debe perder más de 0,5 %.

Determinación de residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

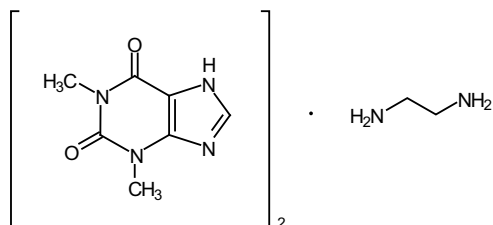
Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Ácido Aminocaproico, transferir a un recipiente apropiado y disolver en 20 ml de ácido acético glacial. Agregar cristal violeta (SR) como indicador y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) hasta viraje del indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 13,12 mg de $C_6H_{13}NO_2$.

AMINOFILINA



$C_{16}H_{24}N_{10}O_4$ PM: 420,4 317-34-0
Dihidrato PM: 456,5 49746-06-7

Definición - Aminofilina es teofilina con etilendiamina (2:1). Debe contener no menos de 84,0 por ciento y no más de 87,4 por ciento de teofilina anhidra ($C_7H_8N_4O_2$), calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo o gránulos blancos a levemente amarillentos. Por exposición al aire, pierde gradualmente etilendiamina y adsorbe dióxido de carbono liberando la teofilina. Sus soluciones son alcalinas al tornasol. Soluble en agua; insoluble en etanol y éter. Un gramo disuelto en 5 ml de agua cristaliza por reposo y se resolubiliza por el agregado de una pequeña cantidad de etilendiamina.

Sustancia de referencia - Teofilina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Disolver 500 mg de Aminofilina en 20 ml de agua, agregar agitando constantemente 1 ml de ácido clorhídrico 3 N, filtrar (retener el filtrado), lavar el precipitado con porciones pequeñas de agua fría y secar a 105 °C durante 1 hora: el precipitado de teofilina obtenido debe fundir entre 270 y 274 °C.

B - Transferir 10 mg del precipitado seco obtenido en el ensayo de *Identificación A* a una cápsula de porcelana, agregar 1 ml de ácido clorhídrico y 100 mg de clorato de potasio, evaporar en un baño de vapor hasta sequedad e invertir la cápsula sobre un recipiente que contenga unas pocas gotas de hidróxido de amonio 6 N: el residuo debe adquirir un color púrpura que debe desaparecer por el agregado de soluciones de álcalis fijos.

C - Al filtrado obtenido en el ensayo de *Identificación A* agregar 0,5 ml de cloruro de bencenosul-

fonilo y 5 ml de hidróxido de sodio 1 N, agitar mecánicamente durante 10 minutos. Agregar 5 ml de ácido clorhídrico 3 N, enfriar, recolectar la disulfonamida de etilendiamina precipitada, lavar con agua, recrystalizar a partir del agua y secar a 105 °C durante 1 hora: el precipitado seco debe fundir entre 164 y 171 °C.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,75 % (forma anhidra) y no más de 7,9 % (forma hidratada); determinado sobre 1,5 g, empleando una mezcla de 25 ml de cloroformo y 25 ml de metanol anhidro.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,15 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

Contenido de etilendiamina

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Aminofilina y disolver en 30 ml de agua. Agregar naranja de metilo (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,1 N (SV). Cada ml de ácido clorhídrico 0,1 N equivale a 3,005 mg de $C_2H_8N_2$. El contenido de etilendiamina ($C_2H_8N_2$) debe estar entre 157 y 175 mg por g de $C_7H_8N_4O_2$ determinado en *Valoración*.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 15 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Mezclar 200 ml de metanol, 960 mg de 1-pentanosulfonato de sodio y agua suficiente para preparar 1 litro. Ajustar a pH 2,9 ± 0,1 con ácido acético glacial. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Agua y metanol (4:1).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Teofilina SR-FA en *Diluyente* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Diluyente* para obtener una solución con una concentración de aproximadamente 0,08 mg por ml.

Solución de resolución - Disolver una cantidad apropiada de teobromina en la *Preparación estándar* para obtener una solución con una concentración de aproximadamente 0,08 mg por ml. Transferir 20,0 ml de esta solución a un matraz aforado de

25 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 24 mg de Aminofilina y transferir a un matraz aforado de 250 ml. Disolver en *Diluyente*, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

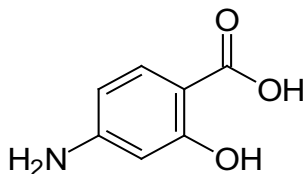
Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,65 para teobromina y 1,00 para teofilina; el factor de asimetría para el pico de teofilina no debe ser mayor de 2,0; la resolución *R* entre los picos de teobromina y teofilina no debe ser menor de 3,0. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad en mg de teofilina ($C_7H_8N_4O_2$) en la porción de Aminofilina en ensayo.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si es anhidra o hidratada y declarar el contenido de teofilina anhidra.

AMINOSALICÍLICO, ÁCIDO



$C_7H_7NO_3$

PM: 153,1

65-49-6

Sinonimia - Ácido *p*-Aminosalicílico. Ácido 4-Aminosalicílico.

Definición - Ácido Aminosalicílico es Ácido 4-amino-2-hidroxibenzoico. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_7H_7NO_3$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Se oscurece por exposición a la luz o al aire. Inodoro o con leve olor a ácido acético. Soluble en alcohol; poco soluble en agua y éter, prácticamente insoluble en benceno.

Sustancias de referencia - Ácido Aminosalicílico SR-FA. *m*-Aminofenol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

[NOTA: no utilizar soluciones de Ácido Aminosalicílico que sean más oscuras que una solución recientemente preparada.]

Identificación

A - Absorción ultravioleta <470>. Disolver 0,25 g de Ácido Aminosalicílico en 3 ml de hidróxido de sodio 1 N, transferir a un matraz aforado de 500 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 250 ml conteniendo 12,5 ml de solución reguladora de fosfato pH 7,0 (ver *Soluciones reguladoras en Reactivos y Soluciones*). Completar a volumen con agua y mezclar. Medir la absorbancia con un espectrofotómetro, empleando solución reguladora de fosfato pH 7,0 como blanco: debe presentar máximos a 265 ± 2 y 299 ± 2 nm y la relación entre las absorbancias a 265 y 299 (A_{265}/A_{299}) debe encontrarse entre 1,50 y 1,56.

B - Transferir 1 g de Ácido Aminosalicílico a un balón pequeño y agregar 10 ml de anhídrido

acético. Calentar en un baño de vapor durante 30 minutos. Agregar 40 ml de agua, mezclar, filtrar, enfriar y dejar reposar hasta que el derivado diacetilado cristalice. Recolectar el precipitado en un filtro, lavar varias veces con agua y secar a $105^\circ C$ durante una hora: el punto de fusión del derivado diacetilado obtenido debe estar comprendido entre 191 y $197^\circ C$.

C - Agitar 100 mg de Ácido Aminosalicílico con 10 ml de agua y filtrar. A 5 ml del filtrado, agregar 1 gota de cloruro férrico (SR): se debe producir coloración violeta.

Determinación del pH <250>

Entre 3,0 y 3,7; determinado sobre una solución saturada.

Determinación de agua <120>

Método I. No más de 0,5 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Disolver 0,50 g en una mezcla de 5 ml de ácido nítrico y 15 ml de agua: la solución no debe contener más cloruro que el correspondiente a 0,30 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,042 %).

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,003 %.

Límite de *m*-aminofenol

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Preparar según se indica en *Valoración*.

Solución del estándar interno - Disolver una cantidad exactamente pesada de sulfanilamida en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 5 μg por ml.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de *m*-Aminofenol SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 12 μg por ml. Transferir 10,0 ml de esta solución y 10,0 ml de *Solución del estándar interno* a un matraz aforado inactínico de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución muestra - Transferir aproximadamente 50 mg de Ácido Aminosalicílico a un matraz aforado inactínico de 100 ml, agregar 50 ml de *Fase móvil* y mezclar hasta disolución completa. Agregar 10,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,66 para sulfanilamida y 1,0 para *m*-aminofenol; la resolución *R* entre los picos de sulfanilamida y *m*-aminofenol no debe ser menor de 2,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 7 %.

Procedimiento - [NOTA: luego de usar , lavar la columna durante 30 minutos con una mezcla filtrada y desgasificada de metanol, agua y ácido fosfórico (77:23:0,6), y luego lavar durante 30 minutos con una mezcla filtrada y desgasificada de metanol y agua (50:50)]. Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el porcentaje de *m*-aminofenol en la porción de Ácido Aminosalicílico en ensayo. No debe contener más de 0,25 % de *m*-aminofenol.

Sulfuro de hidrógeno, dióxido de azufre y alcohol amílico

Disolver 500 mg de Ácido Aminosalicílico en 5 ml de hidróxido de sodio 1 N, agregar 6 ml de ácido clorhídrico 3 N y mezclar vigorosamente: no debe percibirse olor a sulfuro de hidrógeno ni a dióxido de azufre, ni debe percibirse más que un leve olor a alcohol amílico. No debe producirse decoloración de una pieza de papel embebida en acetato de plomo, sostenida sobre la mezcla.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Preparar una mezcla de 425 ml de fosfato dibásico de sodio 0,05 M, 425 ml de fosfato monobásico de sodio 0,05 M y 150 ml de metanol conteniendo 1,9 g de hidróxido de tetrabutilamonio. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver 100. *Cromatografía*).

Solución del estándar interno - Disolver una cantidad exactamente pesada de *Paracetamol* en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 5 mg por ml.

Preparación estándar- Pesar exactamente alrededor de 12,5 mg de Ácido Aminosalicílico SR-FA, transferir a un matraz aforado inactínico de 25 ml, agregar 15 ml de *Fase móvil* y mezclar hasta diso-

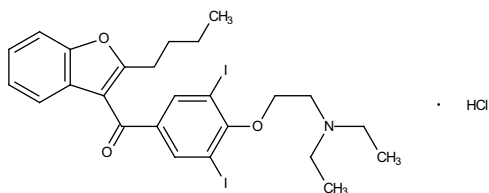
lución completa. Agregar 2,5 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Preparación muestra - Proceder según se indica en *Preparación estándar* utilizando Ácido Aminosalicílico en lugar de Ácido Aminosalicílico SR-FA.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,83 para paracetamol y 1,0 para ácido aminosalicílico; la resolución *R* entre los picos de paracetamol y ácido aminosalicílico no debe ser menor de 1,7; la desviación estándar relativa para los cocientes entre las respuestas de los picos de ácido aminosalicílico y paracetamol no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - [NOTA: luego de usar , lavar la columna durante 30 minutos con una mezcla filtrada y desgasificada de metanol, agua y ácido fosfórico (77:23:0,6), y luego lavar durante 30 minutos con una mezcla filtrada y desgasificada de metanol y agua (50:50)]. Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₇H₇NO₃ en la porción de Ácido Aminosalicílico en ensayo.

AMIODARONA, CLORHIDRATO DE



$C_{25}H_{29}I_2NO_3 \cdot HCl$ PM: 681,8 19774-82-4

Definición - Clorhidrato de Amiodarona es Clorhidrato de 2-butil-3-benzofuranil-4-[2-(dietilamino)etoxi]-3,5-diiodofenilcetona. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{25}H_{29}I_2NO_3 \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino fino, blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en cloruro de metileno; soluble en metanol; moderadamente soluble en alcohol; muy poco soluble en agua.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Amiodarona SR-FA. Impureza D de Clorhidrato de Amiodarona SR-FA: 2-*N*-butil-3-(3',5'-diiodo-4'-hidroxibenzoil)benzofurano. Impureza E de Clorhidrato de Amiodarona SR-FA: 2-*N*-butil-3-(4-hidroxibenzoil)benzofurano. Impureza H de Clorhidrato de Amiodarona SR-FA: Clorhidrato de (2-cloroetil)dietilamina.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados. Proteger de la humedad. A temperatura que no exceda los 30 °C.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

C - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Sustancias relacionadas*. El tiempo de retención del pico correspondiente a amiodarona en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución estándar*.

Determinación del pH <250>

Disolver 1,0 g de Clorhidrato de Amiodarona en agua libre de dióxido de carbono, calentar a 80 °C,

enfriar y diluir a 20 ml con el mismo solvente. El pH de la solución se debe encontrar entre 3,2 y 3,8.

Ioduro

[NOTA: preparar simultáneamente la *Solución muestra* y *Solución estándar*].

Solución A - Agregar 1,50 g de Clorhidrato de Amiodarona a 40 ml de agua a 80 °C y agitar hasta disolución completa. Enfriar y diluir a 50,0 ml con agua.

Solución estándar - A 15,0 ml de *Solución A*, agregar 1,0 ml de ácido clorhídrico 0,1 M, seguidamente 1,0 ml de una solución que contenga 88,2 µg por ml de ioduro de potasio y 1,0 ml de iodato de potasio 0,05 M. Diluir a 20,0 ml con agua. Dejar la solución en reposo durante 4 horas, protegida de la luz.

Solución muestra - A 15,0 ml de *Solución A*, agregar 1,0 ml de ácido clorhídrico 0,1 M, seguidamente 1,0 ml de iodato de potasio 0,05 M y diluir a 20,0 ml con agua. Dejar la solución en reposo durante 4 horas protegida de la luz.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 420 nm, con un espectrofotómetro, empleando como blanco una mezcla de 15,0 ml de *Solución A* y 1,0 ml de ácido clorhídrico 0,1 M diluidos a 20,0 ml con agua. La absorbancia de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la mitad del valor de la absorbancia de la *Solución estándar* (150 ppm).

Límite de metales pesados <590>

Método VI. Preparar la *Solución muestra* a partir de 1,0 g de Clorhidrato de Amiodarona y la *Solución estándar* empleando 2 ml de *Solución estándar de plomo* (10 ppm). No más de 0,002 %.

Pérdida por secado <680>

Pesar exactamente alrededor de 1,000 g, secar a 50 °C durante 4 horas a una presión no mayor de 2 mm Hg; no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de Impureza H

[NOTA: preparar las soluciones inmediatamente antes de su uso y mantenerlas protegidas de la luz].

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloruro de metileno, metanol y ácido fórmico anhidro (85:10:5).

Solución estándar - Preparar una solución de Impureza H de Clorhidrato de Amiodarona SR-FA de aproximadamente 0,2 mg por ml en cloruro de metileno.

Solución muestra - Preparar una solución de Clorhidrato de Amiodarona de aproximadamente 100 mg por ml en cloruro de metileno.

Revelador 1 - Iodobismutato de potasio (SR1).

Revelador 2 - Peróxido de hidrógeno al 3 % (SR).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de la *Solución muestra* y 5 µl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y secar en una corriente de aire frío. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 1* y luego con *Revelador 2*. Examinar inmediatamente la placa bajo luz diurna. La mancha correspondiente a impureza H en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar* (0,2 %).

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 240 nm y una columna de 15,0 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto. Mantener la columna a 30 °C.

Solución reguladora de pH 4,9 - A 800 ml de agua agregar 3,0 ml de ácido acético glacial, ajustar a pH 4,9 con amoníaco diluido y completar a 1 litro con agua.

Fase móvil - Acetonitrilo, metanol y *Solución reguladora de pH 4,9* (400:300:300). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Diluyente - Acetonitrilo y agua (50:50).

Solución estándar - Disolver 10 mg de Impureza D de Clorhidrato de Amiodarona SR-FA, 10 mg de Impureza E de Clorhidrato de Amiodarona SR-FA y 10 mg de Clorhidrato de Amiodarona SR-FA en metanol. Diluir a 50,0 ml con el mismo solvente. Diluir 1,0 ml de esta solución a un matraz a 20,0 ml con *Diluyente*.

Solución muestra - Disolver 125 mg de Clorhidrato de Amiodarona en *Diluyente* y diluir a 25,0 ml con *Diluyente*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedi-*

miento: la resolución *R* entre los picos de impureza D e impureza E no debe ser menor de 3,5.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, registrar los cromatogramas durante al menos 60 minutos y medir las respuestas de todos los picos. Los tiempos de retención deben ser aproximadamente 6,9 minutos para impureza D, 8,4 minutos para impureza E y 27,8 minutos para amiodarona. Identificar los picos que pudieran aparecer en el cromatograma de la *Solución muestra* de acuerdo a los tiempos de retención relativos indicados en la siguiente tabla:

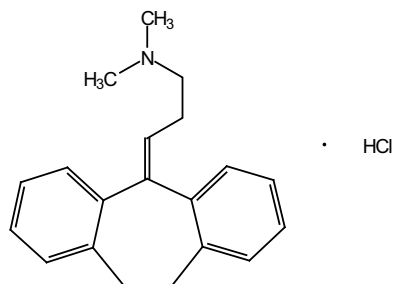
<i>Pico</i>	<i>Tiempo de retención relativo</i>
impureza A	0,26
impureza D	0,29
impureza E	0,37
impureza B	0,49
impureza C	0,55
impureza G	0,62
impureza F	0,69
amiodarona	1,00

en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta de ningún pico individual debe ser mayor a la respuesta del pico correspondiente a amiodarona obtenido con la *Solución estándar* (0,2 %); la suma de las respuestas de todos los picos no debe ser mayor a 2,5 veces la respuesta del pico correspondiente a amiodarona obtenido con la *Solución estándar* (0,5 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor a 0,1 veces la respuesta del pico correspondiente a amiodarona obtenido con la *Solución estándar* (0,02 %).

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 600 mg de Clorhidrato de Amiodarona, transferir a un recipiente apropiado y disolver en una mezcla de 5,0 ml de ácido clorhídrico 0,01 M y 75 ml de alcohol absoluto y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente (ver 780. *Volumetría*). Leer el volumen agregado entre los dos puntos de inflexión. Cada ml de de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 68,18 mg de C₂₅H₂₉I₂NO₃ · HCl.

AMITRIPTILINA, CLORHIDRATO DE



$C_{20}H_{23}N \cdot HCl$ PM: 313,9 549-18-8

Definición - Clorhidrato de Amitriptilina es Clorhidrato de 10,11-dihidro-*N,N*-dimetil-5*H*-dibenzo[*a,d*]ciclohepteno-) $\Delta^{5,\gamma}$ -propilamina. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_{20}H_{23}N \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino o cristales pequeños blancos, inodoro o prácticamente inodoro. Fácilmente soluble en agua, alcohol, cloroformo y metanol; insoluble en éter.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Amitriptilina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: Metanol.

Concentración: 10 μ g por ml.

Las absorbividades a 239 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

C - Debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 195 y 199 °C.

Determinación del pH <250>

Entre 5,0 y 6,0, determinado sobre una solución 1 en 100.

Pérdida por secado <680>

Secar a 60 °C hasta peso constante a una presión que no exceda los 5 mm Hg: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol e hidróxido de amonio (135:15:1).

Soluciones estándar - Disolver Clorhidrato de Amitriptilina SR-FA en metanol y mezclar hasta obtener una solución de aproximadamente 0,8 mg por ml. Diluir esta solución cuantitativamente con metanol hasta obtener las *Soluciones estándar* con las siguientes concentraciones:

Solución estándar	Dilución	Concentración (μ g por ml)	% con respecto a la muestra
A	1 en 2	400	1,0
B	1 en 4	200	0,5
C	1 en 5	160	0,4
D	1 en 10	80	0,2
E	1 en 20	40	0,1

Solución muestra - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Amitriptilina en metanol para obtener una solución de aproximadamente 40 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de cada *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm. Comparar la intensidad de cualquier mancha secundaria observada en el cromatograma de la *Solución muestra* con las intensidades de las manchas principales en los cromatogramas de las *Soluciones estándar*. [NOTA: ignorar las manchas observadas en el origen de los cromatogramas]. Ninguna mancha secundaria en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser de mayor tamaño o intensidad que

la mancha principal obtenida con la *Solución estándar B* (0,5 %) y la suma de las intensidades de todas las manchas secundarias obtenidas a partir de la *Solución muestra* debe corresponder a no más de 1,0 %. Ignorar cualquier mancha en el cromatograma de la *Solución muestra* que sea menor en tamaño o intensidad que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar E* (0,1 %).

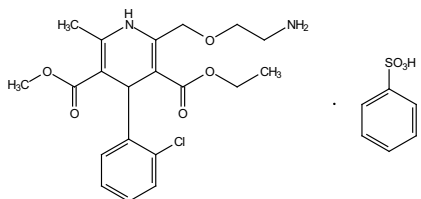
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Clorhidrato de Amitriptilina, disolver en 30 ml de ácido acético glacial, calentar suavemente, si fuera necesario. Enfriar, agregar 10 ml de acetato mercuríco (SR), agregar cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) hasta punto final verde. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 31,39 mg de $C_{20}H_{23}N \cdot HCl$.

AMLODIPINA BESILATO DE



$C_{20}H_{25}ClN_2O_5 \cdot C_6H_6O_3S$

PM: 567,1
111470-99-6

Definición - Besilato de Amlodipina es Bencenosulfonato de 3-etil-5-metil-(4*RS*)-2-[(aminoetoxi)metil]-4-(2-clorofenil)-6-metil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{20}H_{25}ClN_2O_5 \cdot C_6H_6O_3S$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en metanol; moderadamente soluble en alcohol; poco soluble en agua y en 2-propanol.

Sustancia de referencia - Besilato de Amlodipina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico correspondiente a besilato de amlodipina en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución estándar*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre $-0,10^\circ$ y $+0,10^\circ$.

Solución muestra: 10 mg por ml, en metanol.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,5 %, calculado sobre 3 g.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Sustancias relacionadas

ENSAYO A

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Emplear la fase superior de una mezcla de Metil isobutil cetona, agua y ácido acético glacial (50:25:25).

Solución muestra A - Disolver 140 mg de Besilato de Amlodipina en metanol y diluir a 2 ml con el mismo solvente.

Solución muestra B - Diluir 1 ml de *Solución muestra A* a 10 ml con metanol.

Solución estándar A - Disolver 70 mg de Besilato de Amlodipina SR-FA en 1 ml de metanol.

Solución estándar B - Diluir 1 ml de *Solución estándar A* a 10 ml con metanol.

Solución estándar C - Diluir 3 ml de *Solución muestra B* a 100 ml con metanol.

Solución estándar D - Diluir 1 ml de la *Solución muestra B* a 100 ml con metanol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de cada solución. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y secar durante 15 minutos a 80 °C. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm y a 366 nm: a excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido con la *Solución muestra A*, ninguna mancha debe ser más intensa que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar C* (0,3 %) y como máximo dos manchas pueden ser más intensas que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar D* (0,1 %). El ensayo solo es válido si el cromatograma obtenido con la *Solución estándar A* presenta dos manchas completamente separadas con valores de R_f de aproximadamente 0,18 y 0,22.

ENSAYO B

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución de resolución y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Besilato de Amlodipina, disolver en *Fase móvil* y diluir a 50 ml con *Fase móvil*.

Solución estándar - Diluir 3 ml de la *Solución muestra* a 100 ml con *Fase móvil* y diluir 5 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Procedimiento - Cromatografiar la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. Registrar los cromatogramas durante tres veces el tiempo de retención del pico de amlodipina. En el cromatograma obtenido con la *Solución muestra*, dos veces la

respuesta del pico correspondiente a impureza D no debe ser mayor que la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (0,3 %); la suma de las respuestas de todos los picos, a excepción del pico principal y el pico correspondiente a impureza D, no debe ser mayor que la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (0,3 %). Ignorar cualquier pico correspondiente a benzenosulfonato (tiempo de retención relativo 0,2) y cualquier pico con una respuesta menor a 0,1 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (0,03 %).

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 237 nm y una columna de 15 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución de trietilamina - Disolver 7,0 ml de trietilamina en 1 litro de agua y ajustar a pH 3,0 ± 0,1 con ácido fosfórico.

Fase móvil - Solución de trietilamina, metanol y acetonitrilo (50:35:15). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Solución de resolución - Disolver 5 mg de Besilato de Amlodipina en 5 ml de peróxido de hidrógeno al 30 %. Calentar a 70 °C durante 45 minutos.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Besilato de Amlodipina, disolver en *Fase móvil* y diluir a 50 ml con *Fase móvil*. Diluir 5 ml de esta solución a 100 ml con *Fase móvil*.

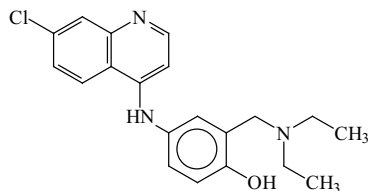
Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Besilato de Amlodipina SR-FA, disolver en *Fase móvil* y diluir a 50 ml con *Fase móvil*. Diluir 5 ml de esta solución a 100 ml con *Fase móvil*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos correspondientes a amlodipina y 3-Etil-5-metil-2-[(2-aminoetoxi)metil]-4-(2-clorofenil)-6-metilpiridina-3,5-dicarboxilato (impureza D de amlodipina) no debe ser menor de 4,5. Los tiempos de retención relativos deben ser 0,5 para impureza D y 1,0 para amlodipina.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la

cantidad de $C_{20}H_{25}ClN_2O_5 \cdot C_6H_6O_3S$ en la porción de Besilato de Amlodipina en ensayo.

AMODIAQUINA



$C_{20}H_{22}ClN_3O$ PM: 355,9 86-42-0

Definición - Amodiaquina es 4-[(7-Cloro-4-quinolinil)amino]-2-[(diethylamino)metil]fenol.

Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_{20}H_{22}ClN_3O$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo amarillo pálido o amarillo claro. Inodoro. Moderadamente soluble en ácido clorhídrico 1 N; poco soluble en alcohol; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Amodiaquina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Preparar el estándar del siguiente modo: disolver 20 mg de Clorhidrato de Amodiaquina SR-FA en 10 ml de agua en una ampolla de decantación, agregar 1 ml de hidróxido de amonio y extraer con una porción de 25 ml de cloroformo. Evaporar el extracto cloroformico y secar el residuo a 105 °C durante 2 horas.

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: Ácido clorhídrico 0,1 N.

Concentración: 10 µg por ml.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,5 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en placa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo saturado con hidróxido de amonio y alcohol absoluto (9:1).

Solución estándar A - Transferir 20 mg de Clorhidrato de Amodiaquina SR-FA a un tubo de ensayo con tapón de vidrio, agregar 1,0 ml de cloroformo saturado con hidróxido de amonio y agitar vigorosamente durante 2 minutos. Dejar depositar los sólidos y transferir el líquido a otro tubo de ensayo.

Solución estándar B - Diluir 1 ml de *Solución estándar A* a 200 ml con cloroformo saturado con hidróxido de amonio.

Solución muestra - Disolver 150 mg de Amodiaquina en 10 ml de cloroformo saturado con hidróxido de amonio.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de la *Solución muestra* y 10 µl de las *Soluciones estándar A* y *B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente de solvente y dejar secar. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar al obtenido con la *Solución estándar B* y ninguna mancha secundaria en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser mayor en tamaño o intensidad que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar B*.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Solvente: Dimetil sulfoxido.

VALORACIÓN

Preparación estándar - Preparar una solución que contenga 15 µg de Clorhidrato de Amodiaquina SR-FA por ml en ácido clorhídrico 0,1 N.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor 300 mg de Amodiaquina, transferir a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con ácido clorhídrico 0,1 N y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 1 litro, completar a volumen con ácido clorhídrico 0,1 N y mezclar.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, con un espectrofotómetro, en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 342 nm, empleando ácido clorhídrico 0,1 N como blanco. Calcular la cantidad de $C_{20}H_{22}ClN_3O$ en la porción de Amodiaquina en ensayo.

AMONIACO, SOLUCIÓN CONCENTRADA

NH₃ PM: 17,0 7664-41-7

Definición - Solución Concentrada de Amoníaco es una solución de NH₃, debe contener no menos de 27,0 por ciento y no más de 31,0 por ciento peso en peso de NH₃. [NOTA: en exposición al aire libera amoníaco rápidamente.]

Caracteres generales - Líquido límpido, incoloro, muy cáustico. Miscible con agua y alcohol. Densidad relativa comprendida entre 0,910 y 0,892 a 20 °C.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto, a una temperatura no mayor de 25 °C.

Precaución: Solución Concentrada de Amoníaco es cáustico y sus vapores son irritantes, evitar su contacto de ojos y mucosas. Enfriar el envase antes de abrir y cubrir la tapa con un paño o material similar.

ENSAYOS

Identificación

Sostener una varilla de vidrio humedecida con ácido clorhídrico cerca de la superficie de Solución Concentrada de Amoníaco: se deben producir gases densos y blancos.

Límite de metales pesados <590>

Evaporar 1,7 ml de Solución Concentrada de Amoníaco en un baño de vapor hasta sequedad, agregar 1 ml de ácido clorhídrico 3 N y evaporar hasta sequedad. Disolver el residuo obtenido en 2 ml de ácido acético 1 N y diluir con agua a 25 ml. El límite es 0,0013 %.

Límite de residuo no volátil

Evaporar hasta sequedad 10 ml de Solución Concentrada de Amoníaco en una cápsula de porcelana o de platino, previamente pesada y secar a 105 °C durante 1 hora: el peso del residuo no debe ser mayor de 5 mg (0,05 %).

Sustancias fácilmente oxidables

A una mezcla de 4,0 ml de Solución Concentrada de Amoníaco y 6,0 ml de agua, agregar un ligero exceso de ácido sulfúrico 2 N y 0,10 ml de permanganato de potasio 0,1 N: la coloración rosada no debe desaparecer completamente durante 10 minutos.

VALORACIÓN

Transferir rápidamente una porción de Solución Concentrada de Amoníaco a un recipiente de vidrio,

de tal manera que se obtenga una columna de líquido de aproximadamente 20 cm, tapar y enfriar a una temperatura de 10 °C o menor. Pesarse exactamente un erlenmeyer de 125 ml con un tapón de vidrio que contenga 50 ml de ácido sulfúrico 1 N (SV). Colocar una pipeta graduada de 10 ml en el recipiente de Solución Concentrada de Amoníaco, dejar que el líquido suba por la pipeta sin succionar, retirar la pipeta, secar exteriormente y descartar los dos primeros ml de Solución Concentrada de Amoníaco. Sostener la pipeta apenas por encima de la superficie del ácido sulfúrico 1 N (SV) en el erlenmeyer y transferir 2 ml de Solución Concentrada de Amoníaco. Tapar, mezclar y pesar nuevamente para obtener el peso de la sustancia en ensayo. Titular el exceso de ácido con hidróxido de sodio 1 N (SV), empleando rojo de metilo (SR) como indicador (ver *Titulación residual en 780. Volumetría*). Cada ml de ácido sulfúrico 1 N equivale a 17,03 mg de NH₃.

AMONIO, CARBONATO DE

10361-29-2

Definición - Carbonato de Amonio es una mezcla de bicarbonato de amonio (NH_4HCO_3) y carbamato de amonio ($\text{NH}_2\text{COONH}_4$) en proporciones variables. Debe contener no menos de 30,0 por ciento y no más de 34,0 por ciento de NH_3 y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o masas translucidas o blancas con un fuerte olor a amoníaco. Sus soluciones son alcalinas frente al tornasol. Por exposición al aire, pierde amoníaco y dióxido de carbono, convirtiéndose finalmente en terrones friables esponjosos o en un polvo blanco de bicarbonato de amonio. Se descompone en agua caliente. Fácilmente soluble en agua.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto, a una temperatura no mayor de 30 °C.

ENSAYOS

Identificación

A - Calentar una porción de Carbonato de Amonio: se debe volatilizar sin carbonización y el vapor debe ser alcalino frente al papel de tornasol humedecido.

B - Una solución de Carbonato de Amonio 1 en 20 debe producir efervescencia con el agregado de ácidos.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Una porción de 2,0 g de Carbonato de Amonio no debe contener más cloruro que el correspondiente a 0,10 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,0035 %).

Sulfato - Una porción de 2,0 g de Carbonato de Amonio no debe contener más sulfato que el correspondiente a 0,10 ml de ácido sulfúrico 0,020 N (0,005 %).

Límite de metales pesados <590>

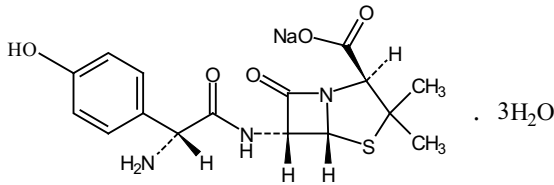
Reducir a polvo grueso y volatilizar 2 g de Carbonato de Amonio en un baño de vapor. Agregar 1 ml de ácido clorhídrico 3 N y evaporar hasta sequedad. Disolver el residuo obtenido en 2 ml de ácido acético 1 N y diluir con agua a 25 ml. El límite es 0,001 %.

VALORACIÓN

Transferir aproximadamente 2,0 g de Carbonato

de Amonio a un pesafiltro, previamente pesado y con 10 ml de agua y pesar. Transferir a un erlenmeyer, agregar 50 ml de ácido sulfúrico 1 N (SV), disolver, agregar rojo de metilo (SR) y titular el exceso de ácido con hidróxido de sodio 1 N (SV). Cada ml de ácido sulfúrico 1 N equivale a 17,03 mg de NH_3 .

AMOXICILINA



$C_{16}H_{19}N_3O_5S \cdot 3H_2O$ PM: 419,5 61336-70-7

Anhidra PM: 365,4 26787-78-0

Definición - Amoxicilina es el Trihidrato del ácido [2*S*-[2 α ,5 α ,6 β (*S**)]-6-[[amino(4-hidroxifenil)acetil]amino]-3,3-dimetil-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0] heptano-2-carboxílico. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco, prácticamente inodoro. Soluble en soluciones diluidas de ácidos minerales e hidróxidos alcalinos; poco soluble en agua y metanol; insoluble en benceno, cloroformo y tetracloruro de carbono.

Sustancia de referencia - Amoxicilina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto, a temperatura ambiente controlada.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +290° y +315°, calculado sobre la sustancia anhidra.

Solución muestra: Disolver 100 mg de Amoxicilina en agua libre de dióxido de carbono, sonicando si es necesario, y diluir a 50 ml con el mismo solvente.

Determinación del pH <250>

Entre 3,5 y 6,0, determinado sobre una solución de aproximadamente 2 mg por ml.

Cristalinidad

Colocar partículas de Amoxicilina en aceite mineral, sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas deben presentar birrefringencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 11,5 y 14,5 %.

Límite de dimetilanilina <570>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que la Amoxicilina es estéril, no debe contener más de 0,25 Unidades de Endotoxina por mg de Amoxicilina.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que la Amoxicilina es estéril, debe cumplir con los requisitos según se indica en *Método de transferencia directa*, excepto que se debe emplear *Medio Tioglicolato* que contenga una solución de Polisorbato 80 (1 en 200) con suficiente penicilinasas estéril para inactivar la amoxicilina en cada tubo y *Caldo Digerido de Caseína-Soja* que contenga una solución de Polisorbato 80 (1 en 200) con suficiente penicilinasas estéril para inactivar la amoxicilina en cada tubo; agitar por rotación una vez al día.

VALORACIÓN

[NOTA: emplear las soluciones dentro de las seis horas de preparadas.]

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 230 nm y una columna de 25 cm \times 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Diluyente - Disolver 13,6 g de fosfato monobásico de potasio en 2 litros de agua y ajustar a pH 5,0 \pm 0,1 con solución de hidróxido de potasio al 45 % p/p.

Fase móvil - *Diluyente* y acetonitrilo (96:4). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver cuantitativamente con *Diluyente* una cantidad exactamente pesada de Amoxicilina SR-FA, para obtener una solución de aproximadamente 1,2 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 240 mg de Amoxicilina, transferir a un matraz aforado de 200 ml, disolver y completar a volumen con *Diluyente*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de capacidad k' debe estar comprendido entre 1,1 y 2,8; la eficiencia de la columna no debe ser menor de 1.700 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,5;

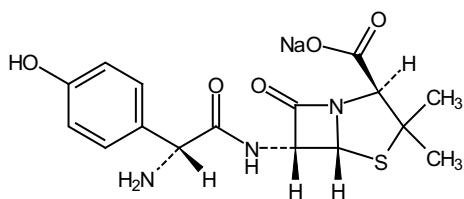
la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ en la porción de Amoxicilina en ensayo.

ROTULADO

Cuando la Amoxicilina esté destinada a la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral, indicar en el rótulo que es estéril y apirógena.

AMOXICILINA SÓDICA



$C_{16}H_{18}N_3NaO_5S$

PM: 387,4

Definición - Amoxicilina Sódica es la Sal sódica del ácido [2*S*-[2 α ,5 α ,6 β (*S**)]]-6-[[amino(4-hidroxifenil)acetil]amino]-3,3-dimetil-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]heptano-2-carboxílico.

Debe contener no menos de 89,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_{16}H_{18}N_3NaO_5S$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Muy higroscópico. Muy soluble en agua; moderadamente soluble en alcohol; muy poco soluble en acetona.

Sustancia de referencia - Amoxicilina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.* Disolver 250 mg de Amoxicilina Sódica en 5 ml de agua, agregar 0,5 ml de ácido acético al 12 % p/v, agitar por rotación y dejar en reposo durante 10 minutos en un baño de hielo. Filtrar, lavar el residuo con 2 ó 3 ml de una mezcla de acetona y agua (9:1) y secar a 60 °C durante 30 minutos.

B - Debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 8,0 y 10,0, determinado sobre una solución de aproximadamente 0,1 g por ml, en agua libre de dióxido de carbono.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +240° y +290°, calculada sobre la sustancia anhidra.

Solución muestra: Disolver 62,5 mg de Amoxicilina Sódica en una solución de hidrogenofolato de potasio al 0,4 % y diluir a 25 ml con el mismo solvente.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 3 %, determinado sobre 400 mg.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Solución A, Solución B, Preparación estándar A, Preparación estándar B, Preparación de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Fase móvil - Emplear mezclas variables de *Solución A* y *Solución B*. Programar el cromatógrafo del siguiente modo:

Tiempo (min)	Solución A (%v/v)	Solución B (%v/v)	Etapas
0-25	92→0	8→100	gradiente lineal
25-40	0	100	isocrático
40-55	92	8	reequilibración

Solución estándar A - Transferir 2,0 ml de *Preparación estándar A* a un matraz aforado de 20,0 ml y completar a volumen con *Solución A*. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 20 ml y completar a volumen con *Solución A*.

Solución estándar B - A 200 mg de Amoxicilina SR-FA agregar 1,0 ml de agua. Agitar y ajustar a pH 8,5 mediante el agregado gota a gota de solución de hidróxido de sodio al 8,5 %. Dejar reposar a temperatura ambiente durante 4 horas y diluir 0,5 ml de esta solución a 50,0 ml con *Solución A*.

Solución muestra - Disolver 30,0 mg de Amoxicilina Sódica en *Solución A* y diluir a 20,0 ml con la misma solución. [NOTA: preparar inmediatamente antes de su uso].

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 μ l) de la *Solución estándar A* y la *Solución muestra*, eluir isocráticamente hasta el pico de amoxicilina e inmediatamente luego de la elución de este pico comenzar el gradiente lineal según se indica en *Fase móvil*. [NOTA: si la composición de *Fase móvil* se ha ajustado para lograr la resolución requerida en *Aptitud del sistema*, esta composición ajustada se aplicará a tiempo cero]. Registrar las repuestas de todos los picos. Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 50 μ l de *Solución A* y emplear el mismo programa de elución para obtener un blanco. Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 50 μ l de *Solución estándar B*, registrar los cromatogramas y medir las repuestas de todos los picos: los tres picos principales eluidos luego del pico de amoxicilina corresponden a amoxicilina dicetopiperazina, dímero de amoxicilina y trímero de amoxicilina y sus tiempos de retención relativos al pico de amoxicilina deben ser aproximadamente 3,4; 4,1 y 4,5, respectivamente. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, el pico correspondiente al dímero de amoxicilina no debe

ser mayor de tres veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (3 %); a excepción del pico principal y el pico correspondiente al dímero de amoxicilina, la respuesta de ningún pico debe ser mayor a dos veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (2 %); y la suma de las respuestas de todos los picos, a excepción del pico principal, no debe ser mayor de nueve veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (9 %). Descartar cualquier pico con una respuesta menor a 0,1 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A*.

Límite de metales pesados <590>

Método VI. No más de 0,002 %. Preparar la *Solución estándar* empleando 2 ml de *Solución estándar de plomo* (10 ppm).

Límite de dimetilanilina <570>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que la Amoxicilina Sódica es estéril, debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que la Amoxicilina Sódica es estéril, no debe contener más de 0,25 Unidades de Endotoxina por mg de Amoxicilina Sódica.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución A - Solución de fosfato diácido de potasio 0,2 M al 25 % v/v, ajustada a pH 5,0 con hidróxido de sodio al 8,5 %, y acetonitrilo (99:1).

Solución B - Solución de fosfato diácido de potasio 0,2 M al 25 % v/v, ajustada a pH 5,0 con hidróxido de sodio al 8,5 %, y acetonitrilo (80:20).

Fase móvil - *Solución A* y *Solución B* (92:8). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar A - Pesar exactamente alrededor de 30 mg de Amoxicilina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en *Solución A* y completar a volumen con *Solución A*.

Preparación estándar B - Transferir 1,0 ml de *Preparación estándar A* a un matraz aforado de 20,0 ml y completar a volumen con *Solución A*. Transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz afo-

rado de 50 ml y completar a volumen con *Solución A*.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 30,0 mg de Amoxicilina Sódica, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en *Solución A* y completar a volumen con *Solución A*.

Solución de aptitud del sistema - Disolver 4,0 mg de *Cefadroxilo* en *Solución A* y diluir a 50 ml con *Solución A*. A 5,0 ml de esta solución agregar 5,0 ml de *Preparación estándar A* y diluir a 100 ml con *Solución A*.

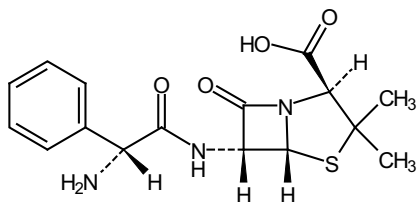
Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de amoxicilina y cefadroxilo debe ser mayor de 2,0; el factor de capacidad para el pico de amoxicilina debe ser entre 1,3 y 2,5. Cromatografiar la *Preparación estándar B* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: cromatografiar la *Preparación estándar A* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para el pico principal debe ser menor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 µl) de la *Preparación estándar A* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el porcentaje de $C_{16}H_{18}N_3NaO_5S$ en la porción de Amoxicilina Sódica en ensayo, multiplicando el porcentaje de amoxicilina por 1,060.

ROTULADO

Cuando la Amoxicilina Sódica esté destinada a la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral, indicar en el rótulo que debe cumplir con los ensayos para *Endotoxinas bacterianas* y *Esterilidad*.

AMPICILINA



$C_{16}H_{19}N_3O_4S$	PM: 349,4	69-53-4
Trihidrato	PM: 403,5	7177-48-2

Definición - Ampicilina es Ácido [2S-[2 α ,5 α ,6 β (S*)]]-6-[(aminofenilacetil)amino]-3,3-dimetil-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo [3.2.0]-heptano-2-carboxílico. Es anhidra o contiene tres moléculas de agua de hidratación. Debe contener no menos de 96,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco, prácticamente inodoro. Soluble en soluciones diluidas de ácidos minerales e hidróxidos alcalinos; poco soluble en agua y metanol; insoluble en benceno, cloroformo y tetracloruro de carbono.

Presenta polimorfismo.

Sustancias de referencia - Ampicilina SR-FA. Ampicilina Trihidrato SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. Cuando la muestra corresponde a la forma trihidrato, tanto ésta como la Ampicilina Trihidrato SR-FA no deben secarse.

B - Transferir 2 mg de Ampicilina a un tubo de vidrio. Humedecer con 0,05 ml de agua y agregar 2 ml de una solución preparada mezclando 2 ml de ácido sulfúrico con 100 ml de solución de formaldehído. Mezclar agitando por rotación. La solución debe ser prácticamente incolora. Colocar el tubo en un baño de agua durante 1 minuto: se debe desarrollar un color amarillo oscuro.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +280 ° y +305 °.

Solución muestra: Disolver 62,5 mg de Ampicilina en agua y diluir a 25 ml con el mismo solvente.

Determinación del pH <250>

Entre 3,5 y 6,0, determinado sobre una solución con una concentración de aproximadamente 10 mg por ml.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Cuando en el rótulo se indique que la Ampicilina es anhidra, no más de 2,0 %. Cuando en el rótulo se indique que la Ampicilina es trihidrato, debe contener entre 12,0 y 15,0 %.

Límite de dimetilanilina <570>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que la Ampicilina es estéril, no debe contener más de 0,15 Unidades de Endotoxina por mg de Ampicilina.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que la Ampicilina es estéril, debe cumplir con los requisitos según se indica en *Método de filtración por membrana*, excepto que deben disolverse 6 g en 800 ml de *Solución D* que contenga suficiente penicilinasas estéril para inactivar la ampicilina y agitar por rotación el recipiente hasta disolver completamente antes de filtrar.

VALORACIÓN

[NOTA: preparar las soluciones en el momento de su uso.]

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm con una columna de 15 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,3 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, acetonitrilo, fosfato monobásico de potasio 1 M y ácido acético 1 N (909:80:10:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Mezclar 10 ml de fosfato monobásico de potasio 1 M y 1 ml de ácido acético 1 N, diluir con agua a 1 litro y mezclar.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Ampicilina SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml. Agitar y sonicar, si fuera necesario, hasta disolver.

Preparación muestra - Transferir una cantidad exactamente pesada de Ampicilina, equivalente a 100 mg de ampicilina anhidra, a un matraz aforado

de 100 ml. Agregar aproximadamente 75 ml de *Diluyente*, agitar y sonicar, si fuera necesario, hasta disolver completamente. Completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Solución de resolución - Disolver *Cafeína* en la *Preparación estándar* para obtener una solución de aproximadamente 0,12 mg por ml.

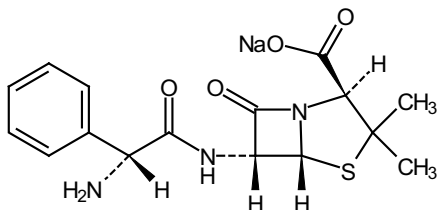
Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de cafeína y ampicilina no debe ser menor de 2,0; los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,5 para ampicilina y 1,0 para cafeína. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de capacidad *k'* no debe ser mayor de 2,5; el factor de asimetría no debe ser mayor de 1,4; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ en la porción de Ampicilina en ensayo.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si la Ampicilina es anhidra o trihidrato. La cantidad de Ampicilina indicada en el rótulo de cualquier preparación que la contenga, se debe expresar como Ampicilina anhidra ($C_{16}H_{19}N_3O_4S$). Cuando la Ampicilina esté destinada a la preparación de formas farmacéuticas inyectables, indicar en el rótulo que es estéril.

AMPICILINA SÓDICA



$C_{16}H_{18}N_3NaO_4S$ PM: 371,4 69-52-3

Definición - Ampicilina Sódica es la Sal mono-sódica del ácido [2S-[2 α ,5 α ,6 β (S*)]]-6-[(aminofenilacetil)amino]-3,3-dimetil-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]heptano-2-carboxílico. Debe contener no menos de 91,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de ampicilina ($C_{16}H_{19}N_3O_4S$), calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Inodoro e higroscópico. Muy soluble en agua, en soluciones de glucosa y en solución isotónica de cloruro de sodio.

Presenta polimorfismo.

Sustancias de referencia - Ampicilina SR-FA.
Ampicilina Sódica SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*.

B - Debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +280 ° y +305 °.

Solución muestra: Disolver 62,5 mg de Ampicilina en agua y diluir a 25 ml con el mismo solvente.

Determinación del pH <250>

Entre 8,0 y 10,0, determinado sobre una solución de aproximadamente 10,0 mg por ml.

Cristalinidad

Colocar partículas de Ampicilina Sódica en aceite mineral, sobre un portaobjetos. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas deben presentar birrefringencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 2,0 %.

Límite de dimetilanilina <570>

Debe cumplir con los requisitos del ensayo. Preparar la *Solución del estándar interno*, la *Solución estándar* y la *Solución muestra* del siguiente modo:

Solución del estándar interno - Disolver 75 mg de *N,N*-dietilanilina en 25 ml de ácido clorhídrico 1 N y diluir con agua para obtener una solución de aproximadamente 30 μ g por ml.

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 50,0 mg de *N,N*-dimetilanilina, transferir a un matraz aforado de 50 ml, agregar 25 ml de ácido clorhídrico 1 N, agitar por rotación para disolver, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 2,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 1,0 ml de esta solución a un tubo de centrifuga, agregar 1,0 ml de hidróxido de sodio 1,25 N, 1,0 ml de *Solución del estándar interno* y 1,0 ml de ciclohexano, agitar vigorosamente durante 1 minuto y centrifugar. Emplear el líquido sobrenadante transparente.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Ampicilina Sódica, transferir a un tubo de centrifuga, agregar 2 ml de hidróxido de sodio 1,25 N, agitar por rotación hasta disolver, agregar 1,0 ml de *Solución del estándar interno* y 1,0 ml de ciclohexano, agitar vigorosamente durante 1 minuto y centrifugar. Emplear el líquido sobrenadante transparente.

Límite de cloruro de metileno

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 1,5 m \times 4 mm con fase estacionaria constituida por tierra de diatomeas para cromatografía de gases impregnada con un 10 % p/p de polietilenglicol 1.000. Mantener la columna, el inyector y el detector aproximadamente a 60, 100 y 150 °C, respectivamente. Emplear nitrógeno como gas transportador con un caudal de aproximadamente 40 ml por minuto.

Solución del estándar interno - Disolver 1,0 ml de cloruro de etileno en agua y diluir a 500 ml con el mismo solvente.

Solución estándar - Disolver 1,0 ml de cloruro de metileno en agua y diluir a 500 ml con el mismo solvente. A 1 ml de esta solución, agregar 1,0 ml de *Solución del estándar interno* y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Ampicilina Sódica, disolver en agua,

agregar 1,0 ml de *Solución del estándar interno* y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 1 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cloruro de metileno considerando que su densidad a 20 °C es 1,325 g por ml. El límite es 0,2 % p/p.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que Ampicilina Sódica es estéril, no debe contener más de 0,15 Unidades de Endotoxinas por mg de Ampicilina.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que Ampicilina Sódica es estéril, debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Diluyente, Solución estándar, Solución de resolución y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Ampicilina*.

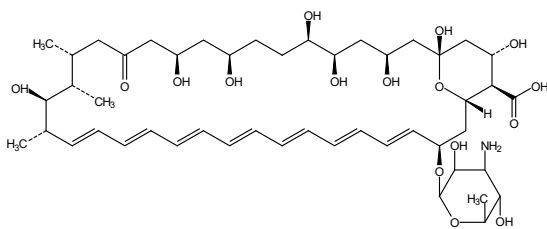
Preparación muestra - [NOTA: la Ampicilina Sódica es higroscópica. Reducir al mínimo su exposición a la atmósfera y pesar rápidamente]. Transferir una cantidad exactamente pesada de Ampicilina Sódica, equivalente a 100 mg de ampicilina anhidra, a un matraz aforado de 100 ml, disolver en *Diluyente*, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Emplear esta solución inmediatamente después de preparada.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento para Valoración de Ampicilina*. Calcular la cantidad de ampicilina (C₁₆H₁₉N₃O₄S) en la porción de Ampicilina Sódica en ensayo.

ROTULADO

Cuando la Ampicilina Sódica esté destinada para la preparación de formas farmacéuticas inyectables, indicar en el rótulo que es estéril.

ANFOTERICINA B



C₄₇H₇₃NO₁₇

PM: 924,1

1397-89-3

Sinonimia - Anfotericina B

Definición - Anfotericina B es el Ácido [1*R*-(1*R**,3*S**,5*R**,6*R**,9*R**,11*R**,15*S**,16*R**,17*R**,18*S**,19*E*,21*E*,23*E*,25*E*,27*E*,29*E*,31*E*,33*R**,35*S**,36*R**,37*S**)]-33-[(3-amino-3,6-dideoxi-β-*D*-manopiranosil)oxi]-1,3,5,6,9,11,17,37-octahidroxi-15,16,18-trimetil-13-oxo-14,39-dioxabicyclo[33.3.1] nonatriaconta-19,21,23,25,27,29,31-heptaeno-36-carboxílico. Debe tener una potencia de no menos de 750 µg de C₄₇H₇₃NO₁₇ por mg, calculada sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo amarillo a anaranjado; inodoro o prácticamente inodoro. Soluble en dimetilformamida, dimetilsulfóxido; poco soluble en metanol; insoluble en agua, alcohol absoluto, éter, tolueno y propilenglicol.

Sustancias de referencia - Anfotericina B SR-FA. Nistatina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto, en un sitio frío.

ENSAYOS

Identificación

Absorción ultravioleta <470>

Intervalo espectral 1: 240 a 320 nm.

Solución 1: Preparar según se indica para *Solución muestra* en *Límite de anfotericina A*.

El espectro de absorción ultravioleta de la *Solución 1* debe presentar máximos a las mismas longitudes de onda que el de la *Solución estándar de Anfotericina B* empleada en *Límite de anfotericina A*, excepto una banda extra que puede aparecer aproximadamente a 304 nm en el espectro de esta solución.

Intervalo espectral 2: 320 a 400 nm.

Solución 2: Preparar según se indica para *Solución muestra* en *Límite de anfotericina A* y diluir con 9 volúmenes de metanol.

El espectro de absorción ultravioleta de la *Solución 2* debe presentar máximos a las mismas longi-

tudes de onda que el de la *Solución estándar de Anfotericina B* empleada en *Límite de anfotericina A*.

Pérdida por secado <680>

Pesar exactamente alrededor 100 mg de Anfotericina B, secar al vacío en un pesafiltro provisto de una tapa con perforación capilar, a una presión no mayor de 5 mm Hg, a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 5,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,5 %; el residuo carbonizado se debe humedecer con 2 ml de ácido nítrico y 5 gotas de ácido sulfúrico. [NOTA: la Anfotericina B destinada a la preparación de cremas dermatológicas, lociones, ungüentos, suspensiones orales y cápsulas, debe proporcionar un residuo no mayor de 3,0 %].

Límite de anfotericina A

Solución estándar de nistatina - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Nistatina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 200 ml. Disolver en 40,0 ml de dimetilsulfóxido, completar a volumen con metanol y mezclar. Transferir 4,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

Solución estándar de Anfotericina B - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Anfotericina B SR-FA y transferir a un matraz aforado de 50 ml. Disolver en 10,0 ml de dimetilsulfóxido, completar a volumen con metanol y mezclar. Transferir 4,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con metanol y mezclar. [NOTA: preparar esta solución en el día de su uso].

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Anfotericina B y transferir a un matraz aforado de 50 ml. Disolver en 10,0 ml de dimetilsulfóxido, completar a volumen con metanol y mezclar. Transferir 4,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

Procedimiento - Determinar concomitantemente las absorbancias de la *Solución estándar de nistatina*, la *Solución estándar de Anfotericina B* y la *Solución muestra* en celdas de 1 cm, a 304 y 282 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando una solución 1 en 62,5 de dimetilsulfóxido en metanol como blanco. Calcular el porcentaje de anfotericina A en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$\frac{25 P_N [(A_{B282} \times A_{M304}) - (A_{B304} \times A_{M282})]}{[(A_{B282} \times A_{N304}) - (A_{B304} \times A_{N282})] P_M}$$

en la cual P_N es el peso en mg de Nistatina SR-FA empleada para preparar la *Solución estándar de nistatina*, A_{B282} y A_{B304} son las absorbancias de la

Solución estándar de Anfotericina B a 282 y 304 nm, respectivamente, A_{N282} y A_{N304} son las absorbancias de la *Solución estándar de nistatina* a 282 y 304 nm, respectivamente, A_{M282} y A_{M304} son las absorbancias de la *Solución muestra* a 282 y 304 nm, respectivamente y P_M es el peso en mg de Anfotericina B empleado para preparar la *Solución muestra*. No debe contener más de 5 %, calculado sobre la sustancia seca. [NOTA: cuando en el rótulo se indique que Anfotericina B está destinada a la preparación de cremas dermatológicas, lociones, ungüentos, suspensiones orales o cápsulas, no debe contener más de 15 % de anfotericina A, calculado sobre la sustancia seca].

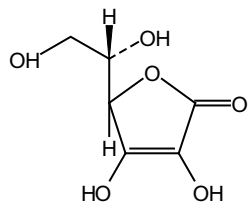
VALORACIÓN

Proceder según se indica para *Anfotericina B* en <770>. *Valoración microbiológica de antibióticos*.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si Anfotericina B está destinada para las preparaciones dermatológicas u orales o preparaciones parenterales.

ASCÓRBICO, ÁCIDO



$C_6H_8O_6$

PM: 176,1

50-81-7

Sinonimia: Vitamina C.

Definición - Ácido Ascórbico es Ácido *L*-ascórbico. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_6H_8O_6$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco o cristales incoloros, que se colorean por exposición al aire y a la humedad. En solución se oxida rápidamente. Fácilmente soluble en agua; moderadamente soluble en alcohol; insoluble en éter y cloroformo. Funde aproximadamente a 190 °C, con descomposición.

Sustancia de referencia - Ácido Ascórbico SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Una solución de Ácido Ascórbico 1 en 50 reduce el tartrato cúprico alcalino (SR) lentamente a temperatura ambiente y rápidamente con calentamiento.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +20,5° y +21,5°
[NOTA: la medición debe realizarse de inmediato luego de preparada la solución.]

Solución muestra: 100 mg por ml, en agua.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límites de metales pesados <590>

Disolver 1,0 g de Ácido Ascórbico en 25 ml de agua: no más de 0,002 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

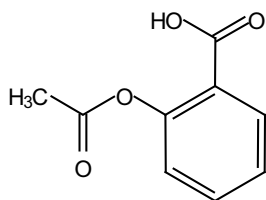
Método II.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 400 mg de Ácido

Ascórbico y disolver en una mezcla de 100 ml de agua y 25 ml de ácido sulfúrico 2 N. Agregar 3 ml de almidón (SR) y titular inmediatamente con iodo 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de iodo 0,1 N equivale a 8,81 mg de $C_6H_8O_6$.

ASPIRINA



$C_9H_8O_4$

PM: 180,2

50-78-2

Sinonimia - Ácido Acetil Salicílico.

Definición - Aspirina es Ácido 2-(acetiloxi)benzoico. Debe contener no menos de 99,5 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_9H_8O_4$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales blancos, comúnmente tabulares o agujas, o polvo cristalino blanco. Inodoro o de olor suave. Estable al aire seco, en aire húmedo se hidroliza gradualmente en ácido salicílico y acético. Fácilmente soluble en alcohol; soluble en cloroformo y éter; moderadamente soluble en éter absoluto; poco soluble en agua.

Sustancia de referencia - Aspirina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Calentar una porción de Aspirina con agua durante varios minutos, enfriar y agregar 1 ó 2 gotas de cloruro férrico (SR): se debe producir color rojo-violáceo.

Pérdida por secado <680>

Secar sobre gel de sílice durante 5 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Ensayo de sustancias fácilmente carbonizables <350>

Disolver 500 mg de Aspirina en 5 ml de ácido sulfúrico (SR): el color de la solución no debe ser más intenso que el de la *Solución de comparación Q*.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,05 %.

Sustancias insolubles en carbonato de sodio

Una solución de 500 mg de Aspirina en 10 ml de carbonato de sodio (SR) caliente debe ser transparente.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Calentar a ebullición 1,5 g de Aspirina con 75 ml de agua durante 5 minutos. Enfriar, agregar agua suficiente para restaurar el volumen original y filtrar. Una porción de 25 ml del filtrado no debe contener más cloruro que el que corresponde a 0,10 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,014 %).

Límite de metales pesados <590>

Disolver 2,0 g de Aspirina en 25 ml de acetona y agregar 1 ml de agua. Agregar 1,2 ml de tioacetamida-glicerina básica (SR) y 2 ml de *Solución reguladora de acetato pH 3,5* y dejar en reposo durante 5 minutos: el color producido no debe ser más oscuro que el de un control preparado con 25 ml de acetona y 2 ml de *Solución estándar de plomo (10 ppm)* tratado de la misma manera (0,001 %).

Límite de Sulfato

Disolver 6,0 g de Aspirina en 37 ml de acetona y agregar 3 ml de agua. Titular potenciométricamente con perclorato de plomo 0,02 M, preparado mediante la disolución de 9,20 g de perclorato de plomo en agua hasta obtener 1 litro, empleando un medidor de pH capaz de tener una reproducibilidad mínima de $\pm 0,1$ mV (ver 250. *Determinación del pH*). Emplear un sistema de electrodos formado por un electrodo específico para plomo y un electrodo de referencia de plata-cloruro de plata con manga de vidrio que contenga una cantidad suficiente de una solución de perclorato de tetraetilamonio en ácido acético glacial (1 en 44) (ver 780. *Volumetría*). No deben consumirse más de 1,25 ml de perclorato de plomo 0,02 M (0,04 %) [NOTA: luego de usar, enjuagar con agua el electrodo específico para plomo, vaciar el electrodo de referencia, enjuagar con agua, luego con metanol y dejar secar.]

Límite de ácido salicílico libre

Preparar 25 ml de una solución al 10 % de Aspirina en alcohol. Tomar dos tubos de Nessler, y a cada uno agregar 48 ml de agua y 1 ml de una solución diluida de sulfato férrico amónico recientemente preparada mediante el agregado de 1 ml de ácido clorhídrico 1 N a 2 ml de sulfato férrico amónico (SR) y diluida con agua a 100 ml. Transferir a un tubo 1 ml de una solución estándar de *Ácido Salicílico* en agua de aproximadamente 0,10 mg de *Ácido Salicílico* por ml. Transferir al segundo tubo 1 ml de la solución de Aspirina al 10 %. Mezclar el contenido de cada tubo: luego de 30 segundos el color en el segundo tubo no debe ser más intenso que el que presenta el primer tubo que contiene *Ácido Salicílico* (0,1 %).

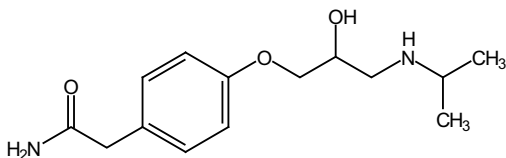
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 1,5 g de Aspirina, transferir a un erlenmeyer, agregar 50,0 ml de hidróxido de sodio 0,5 N (SV) y calentar a ebullición suavemente la mezcla durante 10 minutos. Agregar fenolftaleína (SR) y titular el hidróxido de sodio en exceso con ácido sulfúrico 0,5 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver *Titulaciones residuales* en 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 0,5 N equivale a 45,04 mg de $C_9H_8O_4$.

ATENOLOL



$C_{14}H_{22}N_2O_3$ PM: 266,3 29122-68-7

Definición - Atenolol es 2-[p-[2-Hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi]fenil]acetamida. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{14}H_{22}N_2O_3$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Soluble en etanol; moderadamente soluble en agua; poco soluble en cloruro de metileno; prácticamente insoluble en éter.

Sustancia de referencia - Atenolol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: metanol.

Concentración: 50 µg por ml.

Determinación del punto de fusión <260>

Método I. Entre 152,0 y 156,5 °C.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C hasta peso constante: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Una porción de 1,0 g de Atenolol disuelta en 100 ml de ácido nítrico 0,15 N y tratada con 1 ml de nitrato de plata (SR) no debe presentar más turbidez que 1,4 ml de ácido clorhídrico 0,020 N en 100 ml de ácido nítrico 0,15 N (0,1 %).

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 226 nm y una columna de 30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El

caudal debe ser aproximadamente 0,6 ml por minuto.

Fase Móvil - Disolver 1,1 g de 1-heptanosulfonato de sodio y 0,71 g de fosfato dibásico de sodio anhidro en 700 ml de agua. Agregar 2 ml de dibutilamina y ajustar a pH 3,0 con ácido fosfórico 0,8 M. Agregar 300 ml de metanol y mezclar. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Transferir 10 mg de Atenolol a un matraz aforado de 100 ml, disolver, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución muestra diluida - Transferir 0,50 ml de la *Solución muestra* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

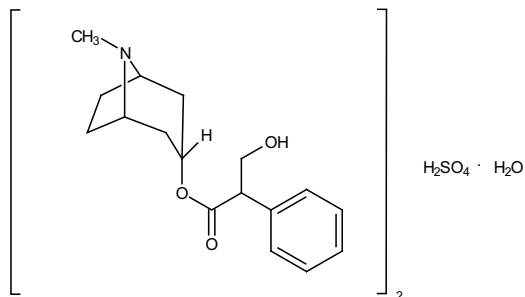
Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución muestra diluida* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 5.000 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 µl) de la *Solución muestra* y la *Solución muestra diluida*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. [NOTA: cromatografiar la *Solución muestra* durante 6 veces el tiempo de retención del pico de atenolol]. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Atenolol en ensayo. No debe contener más de 0,25 % de cualquier impureza individual y la suma de todas las impurezas no debe ser mayor de 0,5 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Atenolol, disolver en 80 ml de ácido acético glacial y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 26,63 mg de $C_{14}H_{22}N_2O_3$.

ATROPINA, SULFATO DE



$(\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ PM: 694,9 5908-99-6

Anhidro PM: 676,8 55-48-1

Definición - Sulfato de Atropina es Sulfato de $1\alpha\text{H}$, $5\alpha\text{H}$ -tropan- 3α -ol (\pm)-tropato (éster), monohidrato. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $(\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o cristales incoloros. Inodoro, eflorescente al aire seco. Sensible a la luz. Muy soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol y glicerina; insoluble en éter.

Sustancia de referencia - Sulfato de Atropina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Una solución de Sulfato de Atropina 1 en 20 debe responder a los ensayos para *Sulfato* <410>.

Determinación del punto de fusión <260>

Método I. No debe ser menor a 187°C , determinado luego de secar a 120°C durante 4 horas. [NOTA: el Sulfato de Atropina anhidro es higroscópico, realizar la determinación inmediatamente luego de secar].

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación angular: la rotación observada, en grados, multiplicada por 200 y dividida por la longitud en mm del tubo empleado, se debe encontrar entre $-0,60^\circ$ y $+0,05^\circ$ (límite de hiosciamina).

Solución muestra: 1,0 g en 20 ml de agua.

Acidez

Disolver 1,0 g de Sulfato de Atropina en 20 ml de agua, agregar 1 gota de rojo de metilo (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,020 N: no debe consumirse más de 0,30 ml para cambiar al amarillo.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 4,0 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

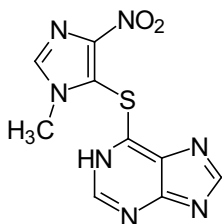
Otros alcaloides

Disolver 150 mg de Sulfato de Atropina en 10 ml de agua. A 5 ml de esta solución, agregar unas pocas gotas de cloruro platínico (SR): no se debe formar precipitado. A los 5 ml restantes, agregar 2 ml de hidróxido de amonio 6 N y agitar vigorosamente: puede desarrollar una leve opalescencia pero no se debe producir turbidez.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Sulfato de Atropina, disolver en 50 ml de ácido acético glacial y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente (ver 780. *Volumetría*). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 67,68 mg de $(\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$.

AZATIOPRINA



C₉H₇N₇O₂S

PM: 277,3

446-86-6

Definición - Azatioprina es 6-[(1-Metil-4-nitro-1H-imidazol-5-il)tio]-1H-purina. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de C₉H₇N₇O₂S, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo amarillo pálido, inodoro. Soluble en soluciones diluidas de hidróxidos alcalinos; moderadamente soluble en ácidos minerales diluidos; muy poco soluble en cloroformo y alcohol; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Azatioprina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Límite de mercaptopurina*. El valor de *R_f* de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución estándar A*.

Acidez o alcalinidad

Agitar 2,0 g de Azatioprina con 100 ml de agua durante 15 minutos y filtrar: 20,0 ml del filtrado deben consumir para su neutralización no más de 0,10 ml de ácido clorhídrico 0,020 N o no más de 0,10 ml de hidróxido de sodio 0,020 N, empleando rojo de metilo (SR) como indicador.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 105 °C durante 5 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de mercaptopurina

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en placa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con una capa de

celulosa microcristalina para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Alcohol butílico, previamente saturado con hidróxido de amonio 6 N.

Solución estándar A - Preparar una solución de Azatioprina SR-FA en hidróxido de amonio 6 N de aproximadamente 20 mg por ml.

Solución estándar B - Preparar una solución de mercaptopurina en hidróxido de amonio 6 N de aproximadamente 200 µg por ml.

Solución muestra - Preparar una solución de Azatioprina en hidróxido de amonio 6 N de aproximadamente 20 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de las *Soluciones estándar A y B* y 5 µl de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y secar al aire. Examinar bajo luz ultravioleta a 254 y 366 nm: ninguna mancha secundaria en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar B* (1,0 %).

Impurezas orgánicas volátiles <520>

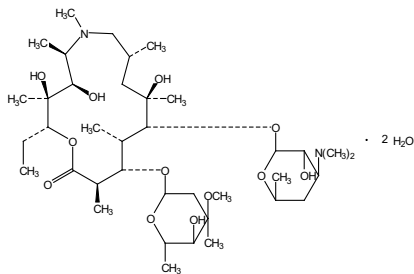
Método II.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Azatioprina, disolver en 25 ml de dimetilformamida y titular con hidróxido de tetrabutilamonio 0,1 N (SV) determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de tetrabutilamonio 0,1 N equivale a 27,73 mg de C₉H₇N₇O₂S.

AZITROMICINA



$C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot 2H_2O$ PM: 785,0 11772-70-0

Anhidro PM: 749,0 83905-01-5

Definición - Azitromicina es [2*R*-(2*R**, 3*S**, 4*R**, 5*R**, 8*R**, 10*R**, 11*R**, 12*S**, 13*S**, 14*R**)]-13-[(2,6-Dideoxi-3-*C*-metil-3-*O*-metil- α -*L*-ribohexopiranosil)oxi]-2-etil-3,4,10-trihidroxi-3,5,6,8,10,12,14-heptametil-11-[[3,4,6-trideoxi-3-(dimetilamino)- β -*D*-xilo-hexopiranosil]oxi]-1-oxa -6-azaclopentadecan-15-ona. Debe contener el equivalente a no menos de 94,5 por ciento y no más de 103 por ciento de $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco.

Sustancia de referencia - Azitromicina Dihidrato SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Preparación estándar*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -45° y -49° , determinada a 20°C .

Solución muestra: 20 mg por ml, en alcohol absoluto.

Cristalinidad

Colocar partículas de Azitromicina en aceite mineral, sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas deben presentar birrefrin-

gencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio

Determinación del pH <250>

Entre 9,0 y 11,0.

Solución muestra: preparar una solución de Azitromicina en metanol de aproximadamente 4 mg por ml. Diluir un volumen de esta solución con un volumen igual de agua para obtener una solución de aproximadamente 2 mg de Azitromicina por ml.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 4,0 y 5,0 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,3 %; humedecer el residuo carbonizado con 2 ml de ácido nítrico y 5 gotas de ácido sulfúrico.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,0025 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 210 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por grupos nitrilo químicamente unidos a partículas de sílice porosas de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 0,5 ml por minuto.

Fase móvil - Pesar 2,6 g de fosfato monobásico de potasio y disolver en 300 ml de agua. Ajustar a pH 7,5 con hidróxido de sodio o ácido fosfórico. Agregar con agitación constante 600 ml de metanol y por último 100 ml de acetonitrilo [NOTA: es importante respetar el orden de agregado de los componentes]. Mezclar. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 30 mg de Azitromicina Dihidrato SR-FA y transferir a un matraz aforado de 50 ml. Disolver en *Fase móvil*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

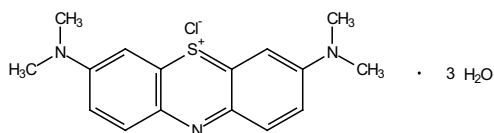
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 30 mg de Azitromicina y transferir a un matraz aforado de 50 ml. Disolver en *Fase móvil*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el tiempo de retención para el pico de azitromicina debe ser aproximadamente 12 minu-

tos; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$ en la porción de Azitromicina en ensayo.

AZUL DE METILENO



C₁₆H₁₈ClN₃S · 3H₂O PM: 373,9 7220-79-3

Anhidro PM: 319,9 61-73-4

Sinonimias - Cloruro de Metiltioninio. Azul básico 9 trihidrato C.I.

Definición - Azul de Metileno es Cloruro de 3,7-bis(dimetilamino)fenotiazin-5-ium. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de C₁₆H₁₈ClN₃S, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales o polvo cristalino de color verde oscuro, con brillo bronceado. Estable al aire. Soluble en agua y cloroformo; moderadamente soluble en alcohol. Sus soluciones en agua o en alcohol son de color azul profundo.

Sustancia de referencia - Azul de Metileno SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Disolver 10 mg de Azul de Metileno en 100 ml de agua. Calentar 10 ml de esta solución con 1 ml de ácido acético y 0,1 g de polvo de cinc; la solución debe decolorarse. Filtrar y exponer al aire: la solución debe colorearse nuevamente.

Pérdida por secado <680>

Secar a 75 °C, a una presión no mayor de 5 mm Hg durante 4 horas: debe perder entre 8,0 y 18,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 1,2 %.

Límite de arsénico <540>

Método I. Preparar la *Solución muestra* mezclando 0,375 g con 10 ml de agua en el matraz generador de arsina. Agregar 15 ml de ácido nítrico y 5 ml de ácido perclórico, mezclar y calentar con cuidado hasta la producción de abundantes vapores de ácido perclórico. Enfriar, lavar las paredes del matraz con agua y nuevamente calentar hasta la

producción de abundantes vapores. Enfriar nuevamente, lavar las paredes del matraz y calentar hasta la producción de vapores. Enfriar, diluir con agua a 52 ml y agregar 3 ml de ácido clorhídrico: la solución resultante debe cumplir con el ensayo, excepto que debe omitirse el agregado de 20 ml de ácido sulfúrico 7 N especificado en *Procedimiento*. El límite es 8 ppm.

Cobre y cinc

Calcinar 1,0 g de Azul de Metileno a la menor temperatura posible en un crisol de porcelana hasta que todo el carbono se oxide. Enfriar el residuo, agregar 15 ml de ácido nítrico 2 N y calentar a ebullición durante 5 minutos. Enfriar, filtrar la solución enfriada y lavar el residuo con 10 ml de agua. Al filtrado y lavado combinados agregar un exceso de hidróxido de amonio 6 N, filtrar y transferir a un matraz aforado de 50 ml. Lavar el precipitado con porciones pequeñas de agua, agregar los lavados al filtrado, completar a volumen con agua y mezclar. A 25 ml de esta solución, agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): no se debe producir turbidez dentro de los 5 minutos (ausencia de cinc). Cualquier color oscuro producido no debe ser mayor que el de un control preparado calentando a ebullición una cantidad de sulfato cúprico, equivalente a 200 µg de cobre, con 15 ml de ácido nítrico 2 N durante 5 minutos y tratando esta solución según se indicó anteriormente, comenzando donde dice: "*Enfriar, filtrar la solución enfriada...*" (0,02 % de cobre).

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice octadecilsilanzado para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Emplear la fase superior de una mezcla de agua, *n*-butanol y ácido acético glacial (10:8:2).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Azul de Metileno SR-FA en metanol para obtener una solución de aproximadamente 100 µg por ml.

Solución estándar diluida - Diluir una porción de *Solución estándar* cuantitativamente con metanol para obtener una solución de aproximadamente 10 µg por ml.

Solución muestra - Disolver una cantidad exactamente pesada de Azul de Metileno en metanol para obtener una solución de aproximadamente 1,0 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de la *Solución muestra*, 5 µl de *Solución estándar* y 5 µl de *Solución estándar diluida*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogra-

mas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, dejar que el solvente se evapore y examinar la placa: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar al obtenido con la *Solución estándar*, y si estuviesen presentes otras manchas en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, una de ellas no debe ser mayor en tamaño o intensidad a la mancha principal obtenida a partir de la *Solución estándar* (10,0 %) y no debe haber más de dos manchas adicionales, ninguna de las cuales debe ser mayor en tamaño o intensidad a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar diluida* (1,0 %).

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Azul de Metileno, transferir a un matraz aforado de 250 ml, disolver con alcohol diluido, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con alcohol diluido y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con alcohol diluido y mezclar. Esta solución contiene aproximadamente 2 µg por ml.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Azul de Metileno SR-FA en alcohol diluido y proceder según se indica para *Preparación muestra* para obtener una solución de aproximadamente 2 µg por ml.

Procedimiento - Determinar concomitantemente las absorbancias de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 663 nm, con un espectrofotómetro, empleando alcohol diluido como blanco. Calcular la cantidad de $C_{16}H_{18}ClN_3S$ en la porción de Azul de Metileno en ensayo.

BACITRACINA

1405-87-4

Definición - Bacitracina es un polipéptido producido por el crecimiento de un organismo del grupo *licheniformis* de *Bacillus subtilis* (Bacillaceae). Debe tener una potencia de no menos de 40 Unidades de Bacitracina por mg.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco, higroscópico. En solución, a temperatura ambiente, se degrada rápidamente. Se inactiva en presencia de sales de metales pesados. Fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol, metanol y ácido acético glacial; sus soluciones en solventes orgánicos presentan usualmente residuos insolubles; insoluble en acetona, cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Bacitracina Cinc SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto, en un sitio fresco.

ENSAYOS

Identificación

Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Alcohol butílico, ácido acético glacial, agua, piridina y alcohol (60:15:10:6:5).

Solución estándar - Preparar una solución de Bacitracina Cinc SR-FA en solución de edetato disódico (1 en 100) de aproximadamente 6,0 mg por ml.

Solución muestra - Preparar una solución de Bacitracina en solución de edetato disódico (1 en 100) de aproximadamente 6,0 mg por ml.

Revelador - Emplear una solución 1 en 100 de ninhidrina en una mezcla de alcohol butílico y piridina (99:1).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 1 µl de la *Solución muestra* y 1 µl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar evaporar. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar aproximadamente a 110 °C durante 5 minutos: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución*

muestra se debe corresponder con el obtenido con la *Solución estándar*.

Determinación del pH <250>

Entre 5,5 y 7,5, determinado sobre una solución de aproximadamente 10.000 Unidades de Bacitracina por ml.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío aproximadamente 100 mg a una presión no mayor de 5 mm Hg, a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 5,0 % de su peso.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que Bacitracina es estéril, debe cumplir con los requisitos según se indica en *Método de filtración por membrana*.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que Bacitracina está destinada a la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral, no debe contener más de 0,01 mg de Endotoxina por mg de Bacitracina.

VALORACIÓN

Proceder según se indica para Bacitracina en <770>. *Valoración microbiológica de antibióticos*.

ROTULADO

Indicar en el rótulo el número de Unidades de Bacitracina por miligramo y que no se puede asegurar la potencia más allá de los 60 días después de abierto el envase. Cuando Bacitracina esté destinada a la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral indicar en el rótulo que es estéril.

BACITRACINA CINC

Bacitracina cinc, complejo. 1405-89-6

Definición - La Bacitracina cinc es la sal de cinc de un tipo de bacitracina o una mezcla de dos o más sales. Tiene una potencia de no menos de 40 Unidades de Bacitracina por mg. Contiene no menos de 2,0 por ciento y no más de 10,0 por ciento de cinc (Zn), calculado sobre la sustancia seca y cumple con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o gris amarillento claro, higroscópico. Es inodoro o posee un leve olor. Moderadamente soluble en agua.

Sustancia de referencia - Bacitracina Cinc SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto y en un sitio fresco.

ENSAYOS

Identificación

Debe responder al ensayo de *Identificación en Bacitracina*.

Determinación del pH <250>

Entre 6,0 y 7,5, determinado sobre una solución saturada de aproximadamente 100 mg por ml.

Contenido de cinc

[NOTA: las *Soluciones estándar* y la *Solución muestra* pueden diluirse cuantitativamente con ácido clorhídrico 0,001 N, si fuera necesario, para obtener soluciones de concentraciones apropiadas para el intervalo de trabajo del aparato.]

Soluciones estándar - Transferir 3,11 g de óxido de cinc, exactamente pesados, a un matraz aforado de 250 ml, agregar 80 ml de ácido clorhídrico 1 N, calentar para disolver, enfriar, completar a volumen con agua y mezclar. Esta solución contiene 10 mg de cinc por ml. Diluir esta solución con ácido clorhídrico 0,001 N para obtener *Soluciones estándar* que contengan 0,5; 1,5 y 2,5 µg de cinc por ml, respectivamente.

Solución muestra - Transferir aproximadamente 200 mg de Bacitracina Cinc, exactamente pesados, a un matraz aforado de 100 ml. Disolver en ácido clorhídrico 0,01 N, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Transferir 2 ml de esta solución a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con ácido clorhídrico 0,001 N y mezclar.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de las *Soluciones estándar* y la *Solución muestra* en la línea de resonancia del cinc a 213,8 nm, con un espectrofotómetro de absorción atómica (ver 440.

Espectrofotometría de absorción y emisión atómica), equipado con una lámpara de cinc de cátodo hueco y una llama de aire-acetileno, empleando ácido clorhídrico 0,001 N como blanco. Graficar las absorbancias de las *Soluciones estándar* en función de la concentración en µg por ml de cinc y trazar la línea recta que mejor se ajuste a los puntos trazados. A partir del gráfico obtenido, determinar la concentración en µg por ml de cinc en la *Solución muestra*. Calcular el contenido de cinc en porcentaje en la porción de Bacitracina Cinc en ensayo.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío aproximadamente 100 mg a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 5,0 % de su peso.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que Bacitracina es estéril, debe cumplir con los requisitos según se indica en *Método de filtración por membrana*, excepto que se debe emplear *Fluido A* al que se le ha agregado 20 g de edetato disódico por cada litro..

VALORACIÓN

Proceder según se indica para Bacitracina en <770>. *Valoración microbiológica de antibióticos*.

ROTULADO

Indicar en el rótulo que Bacitracina cinc no debe emplearse en la fabricación de formas farmacéuticas de administración parenteral. Declarar en el rótulo el número de Unidades de Bacitracina por miligramo y que no se puede asegurar la potencia más allá de los 60 días después de abierto el envase. Cuando corresponda indicar en el rótulo que es estéril.

BARIO, SULFATO DE

BaSO₄ PM: 233,4 7727-43-7

Definición - Sulfato de Bario debe contener no menos de 97,5 por ciento y no más de 100,5 por ciento de BaSO₄ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo fino blanco libre de partículas de aspecto arenoso. Prácticamente insoluble en agua, en solventes orgánicos y en soluciones de ácidos y álcalis.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Mezclar 0,5 g de Sulfato de Bario con 2 g de carbonato de sodio anhidro y 2 g de carbonato de potasio anhidro, calentar la mezcla en un crisol hasta completar la fusión, tratar la masa fundida resultante con agua caliente y filtrar: el filtrado, acidificado con ácido clorhídrico, debe responder a los ensayos para *Sulfato* <410>.

B - Lavar una porción del residuo obtenido en *Identificación A* y disolverla en ácido acético 6 N: la solución debe responder a los ensayos para *Bario* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 3,5 y 10,0, determinado sobre una suspensión acuosa al 10 % p/p.

Límite de sulfuro

Transferir 10 g de Sulfato de Bario a un erlenmeyer de 500 ml y agregar 100 ml de ácido clorhídrico 0,3 N. Cubrir la boca del erlenmeyer con un círculo de papel de filtro humedecido con 0,15 ml de acetato de plomo (SR) en el área colocada sobre la boca del erlenmeyer y atar el papel alrededor del cuello del erlenmeyer. Calentar la mezcla a ebullición suave durante 10 minutos, evitando salpicar el papel. Cualquier oscurecimiento del papel no debe ser mayor que el producido por un control, tratado en forma similar, que consiste en 100 ml de ácido clorhídrico 0,3 N con 5 µg de sulfuro: no más de 0,5 µg por g.

Límite de sustancias solubles en ácido

Enfriar la mezcla obtenida en el ensayo para *Límite de sulfuro*, agregar agua para restaurar el volumen original y filtrarla a través de papel lavado previamente con una mezcla de 10 ml de ácido clorhídrico 3 N y 90 ml de agua, volviendo a filtrar las primeras porciones, si fuera necesario, hasta

obtener un filtrado transparente. Evaporar hasta sequedad 50 ml del filtrado en un baño de vapor y agregar 2 gotas de ácido clorhídrico y 10 ml de agua caliente. Filtrar nuevamente a través de papel lavado con ácido, preparado según se indicó anteriormente, lavar el filtro con 10 ml de agua caliente. Evaporar hasta sequedad el filtrado y los lavados combinados en un cristizador dentro de un baño de vapor. El residuo, secado a 105 °C durante 1 hora: no debe pesar más de 15 mg y no debe contener más de 0,3 % de sustancias solubles en ácido.

Límite de sales de bario solubles

Tratar al residuo obtenido en el ensayo para *Límite de sustancias solubles en ácido* con 10 ml de agua, filtrar la solución a través de un filtro previamente lavado con 100 ml de ácido clorhídrico 0,3 N y agregar 0,5 ml de ácido sulfúrico 2 N. Cualquier turbidez observada dentro de los 30 minutos no debe ser mayor que la producida por un control, tratado en forma similar, que consiste en 10 ml de agua con 0,5 ml ácido sulfúrico 2 N y 50 µg de bario: no debe contener más de 0,001 % de sales de bario solubles.

Límite de metales pesados <590>

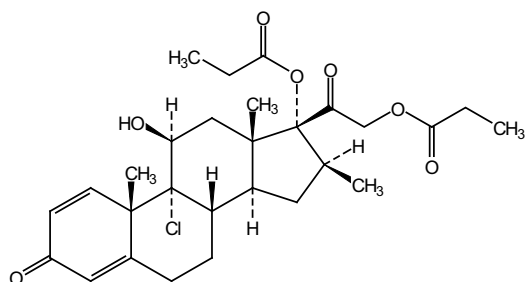
Método I. Calentar a ebullición 4,0 g de Sulfato de Bario con una mezcla de 2 ml de ácido acético glacial y 48 ml de agua durante 10 minutos. Diluir a 50 ml con agua, filtrar y emplear 25 ml del filtrado: no más de 0,001 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente no menos de 0,58 g y no más de 0,62 g de Sulfato de Bario en un crisol de platino previamente pesado. Agregar 10 g de carbonato de sodio anhidro y mezclar por rotación. Fundir la mezcla sobre un mechero y calentar durante un período adicional de 30 minutos. Enfriar, colocar el crisol en un vaso de precipitados de 400 ml, agregar 250 ml de agua, agitar con una varilla de vidrio y calentar para quitar el material fundido del crisol. Retirar el crisol y lavar con agua, recolectando los lavados en el vaso de precipitados. Enjuagar el interior del crisol con 2 ml de ácido acético 6 N y luego con agua, recolectando nuevamente los lavados. Continuar calentando y agitando hasta que el producto fundido se desintegre. Enfriar el vaso de precipitados en un baño de hielo hasta que el sólido sedimente. Decantar el líquido a través de un papel de filtro, teniendo cuidado de transferir la menor cantidad posible de sólido al papel. Lavar dos veces del siguiente modo: lavar el interior del vaso de precipitados con aproximadamente 10 ml de solución de carbonato de sodio frío 1 en 50, agitar por rotación, dejar que el precipitado sedimente y de-

cantar el líquido sobrenadante a través del mismo papel de filtro según se indicó previamente, transfiriendo la menor cantidad posible de sólido. Colocar el vaso de precipitados que contiene la mayor parte de carbonato de bario bajo el embudo, lavar el papel de filtro con cinco porciones de 1 ml de ácido clorhídrico 3 N y luego con agua. [NOTA: la solución puede ser ligeramente turbia]. Agregar 100 ml de agua, 5,0 ml de ácido clorhídrico, 10,0 ml de solución de acetato de amonio 2 en 5, 25 ml de solución de dicromato de potasio 1 en 10 y 10,0 g de urea. Cubrir el vaso de precipitados con un vidrio de reloj y digerir entre 80 y 85 °C durante no menos de 16 horas. Filtrar en caliente a través de un crisol, previamente pesado, de vidrio sinterizado de porosidad fina, transfiriendo el precipitado con la ayuda de una varilla con punta de goma. Lavar el sólido con una solución de dicromato de potasio 1 en 200 y finalmente con aproximadamente 20 ml de agua. Secar a 105 °C durante 2 horas, enfriar y pesar: el peso del cromato de bario obtenido, multiplicado por 0,9213, representa el peso de BaSO₄.

BECLOMETASONA, DIPROPIONATO DE



$C_{28}H_{37}ClO$ PM: 521,0 5534-09-8

Monohidrato PM: 539,1

Definición - Dipropionato de Beclometasona es 17,21-Dipropionato de (11 β ,16 β)-9-cloro-11, 17, 21-trihidroxi-16-metilpregna-1,4-dien-3,20-diona, anhídrido o con una molécula de agua de hidratación. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_{28}H_{37}ClO$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o blanco crema. Inodoro. Muy soluble en cloroformo; fácilmente soluble en acetona y alcohol; muy poco soluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Dipropionato de Beclometasona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*.

B - A 2 ml de ácido sulfúrico agregar aproximadamente 2 mg de Dipropionato de Beclometasona y agitar hasta disolución. Luego de 5 minutos, se debe desarrollar un intenso color pardo-rojizo. Agregar 10 ml de agua y mezclar. El color se debe atenuar hasta ser transparente.

C - Tratar 25 mg de Dipropionato de Beclometasona según se indica en 60. *Combustión en erlenmeyer con oxígeno*. Emplear una mezcla de 1 ml de hidróxido de sodio 1 N con 20 ml de agua para absorber los productos de la combustión. La solución resultante debe responder al ensayo para *Cloruro* <410>.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre + 88° y + 94°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en dioxano.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: la forma anhidra no debe perder más de 0,5 % de su peso; la forma monohidratada debe perder entre 2,8 y 3,8 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm \times 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro.

Fase móvil - Acetonitrilo y agua (3:2). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

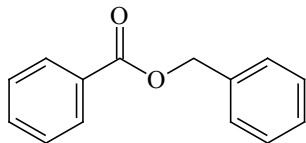
Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Dipropionato de Beclometasona SR-FA en metanol para obtener una solución de aproximadamente 0,7 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 70 mg de Dipropionato de Beclometasona, transferir a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para cinco inyecciones repetidas no debe ser mayor de 3,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{28}H_{37}ClO$ en la porción de Dipropionato de Beclometasona en ensayo.

BENCILO, BENZOATO DE



$C_{14}H_{12}O_2$

PM: 212,2

120-51-4

Definición - Benzoato de Bencilo es el Éster bencílico del ácido benzoico. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_{14}H_{12}O_2$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido oleoso, incoloro, transparente. Prácticamente insoluble en agua y glicerina. Miscible con alcohol, cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Benzoato de Bencilo SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto y totalmente llenos.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En película fina.*

B - A 2,0 g de Benzoato de Bencilo agregar 25 ml de hidróxido de potasio alcohólico (SR) y calentar a reflujo durante 2 horas. Calentar en un baño de agua hasta eliminar el alcohol, agregar 50 ml de agua y destilar. Recolectar aproximadamente 25 ml del destilado y emplearlo para el ensayo de *Identificación C*. Acidificar el residuo de la destilación con ácido clorhídrico diluido. Se debe formar un precipitado blanco de ácido benzoico. Lavar el precipitado con agua y secar al vacío. El punto de fusión del precipitado debe estar comprendido entre 121 y 124 °C.

C - Al destilado obtenido en el ensayo de *Identificación B*, agregar 2,5 g de permanganato de potasio y 5 ml de una solución de hidróxido de sodio al 10 %. Calentar a reflujo durante 15 minutos, enfriar y filtrar. Acidificar el filtrado con ácido clorhídrico diluido. Se debe formar un precipitado blanco de ácido benzoico. Lavar el precipitado con agua y secar al vacío. El punto de fusión del precipitado debe estar comprendido entre 121 y 124 °C.

Determinación de la densidad relativa <160>

Entre 1,116 y 1,120.

Determinación de la temperatura de solidificación <180>

No debe ser inferior a 18,0 °C. Puede inducirse la solidificación cuando se haya alcanzado la temperatu-

ra de solidificación, mediante el agregado de Benzoato de Bencilo previamente congelado.

Determinación del índice de refracción <230>

Entre 1,568 y 1,570, a 20 °C.

Aldehído

Transferir 10,0 g de Benzoato de Bencilo a un erlenmeyer de 125 ml que contenga 50 ml de alcohol y 5 ml de solución de clorhidrato de hidroxilamina (3,5 en 100), mezclar y dejar reposar durante 10 minutos. Agregar 1 ml de azul de bromofenol (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) hasta punto final verde claro. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). El volumen neto de hidróxido de sodio 0,1 N consumido no debe ser mayor de 0,50 ml (0,05 % como benzaldehído).

Acidez

Agregar 2 gotas de fenolftaleína (SR) a 25 ml de alcohol y agregar hidróxido de sodio 0,020 N hasta que se produzca un color rosado. Agregar 5,0 g de Benzoato de Bencilo, mezclar y titular con hidróxido de sodio 0,020 N: no deben consumirse más de 1,5 ml de hidróxido de sodio 0,020 N para restablecer el color rosado.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

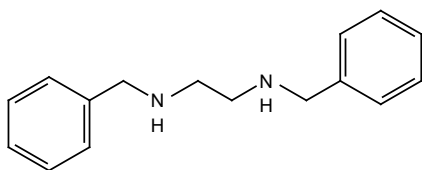
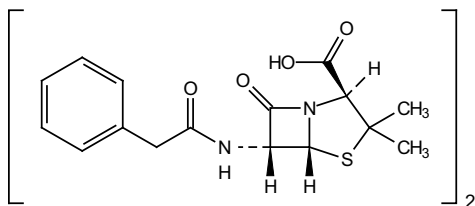
Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 2 g de Benzoato de Bencilo, transferir a un erlenmeyer acoplado a un refrigerante, agregar 50,0 ml de hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N (SV) y calentar a ebullición suavemente durante 1 hora. Enfriar, agregar fenolftaleína (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,5 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver *Titulaciones residuales* en 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N equivale a 106,1 mg de $C_{14}H_{12}O_2$.

BENCILPENICILINA BENZATINA



$C_{48}H_{56}N_6O_8S_2$ PM: 909 1538-09-6

Sinonimia - Penicilina G Benzatínica.

Definición - Bencilpenicilina Benzatina es Ácido [2*S*-(2 α ,5 α ,6 β)]-3,3-dimetil-7-oxo-6-[(fenilacetil)amino]-4-tia-1-azabicyclo [3.2.0] heptano-2-carboxílico, compuesto con *N,N'*-bis(fenilmetil)-1,2-etanodiamina (2:1). Debe contener no menos de 96,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{48}H_{56}N_6O_8S_2$ y no menos de 24,0 por ciento y no más de 27,0 por ciento de $C_{16}H_{20}ON_2$ (Benzatina), calculados ambos porcentajes sobre la sustancia anhidra. Bencilpenicilina Benzatina puede contener una cantidad variable de agua y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco. Fácilmente soluble en dimetilformamida y formamida poco soluble en alcohol; muy poco soluble en agua.

Sustancia de referencia - Bencilpenicilina Benzatina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre hermético.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice silanizado para cromatografía en capa delgada.

Fase móvil - Solución de acetato de amonio al 15,4 % ajustando a pH 7,0 con amoníaco y acetona (70:30).

Solución muestra - Disolver 25 mg de Bencilpenicilina Benzatina en 5 ml de metanol.

Solución estándar - Disolver 25 mg de Bencilpenicilina Benzatina SR-FA en 5 ml de metanol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 1 μ l de la *Solución muestra* y 1 μ l de la *Solución estándar*, dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Dejar secar al aire y exponerla a vapores de yodo hasta que aparezcan las manchas: en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, las dos manchas principales deben ser similares en valor de R_f , tamaño e intensidad a las dos manchas principales obtenidas con la *Solución estándar*. El ensayo sólo es válido si el cromatograma obtenido con la *Solución estándar* presenta dos manchas completamente separadas.

Determinación del punto de fusión <260>

Agregar a 100 mg de Bencilpenicilina Benzatina 2 ml de hidróxido de sodio 1 N y agitar durante 2 minutos. Agitar la mezcla con dos porciones de 3 ml de éter, combinar las fases etéreas y evaporar hasta sequedad. Disolver el residuo en 1 ml de alcohol 50 %. Agregar 5 ml de ácido pícrico (SR1), calentar a 90 °C durante 5 minutos y dejar enfriar lentamente. Separar los cristales y recristalizar en una solución de ácido pícrico al 1 % en alcohol 25 %: el punto de fusión debe ser aproximadamente de 214 °C.

Acidez o alcalinidad

Agregar 0,5 g de Bencilpenicilina Benzatina a 100 ml de agua libre de dióxido de carbono, agitar durante 5 minutos y filtrar a través de un filtro de vidrio sinterizado. A 20 ml del filtrado agregar 0,1 ml de azul de bromotimol (SR1): la solución debe ser verde o amarilla. No deben consumirse más de 0,2 ml de hidróxido de sodio 0,02 N para que la solución vire a azul.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 5,0 y 8,0 %, determinado sobre 300 mg.

Sustancias relacionadas

[NOTA: preparar las soluciones inmediatamente antes de su uso. Someterlas a ultrasonido durante aproximadamente 2 minutos para disolver las muestras. Evitar el sobrecalentamiento durante la preparación de la muestra].

Sistema cromatográfico y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*, excepto que el cromatógrafo se debe programar del siguiente modo:

Tiempo (minutos)	Fase móvil A (%)	Fase móvil B (%)
0 - 10	75	25
10 - 20	75 → 0	25 → 100
20 - 55	0	100
55 - 70	75	25

Fase móvil A - Agua, metanol y solución de fosfato monobásico de potasio al 3,4 % ajustada a pH 3,5 con ácido fosfórico (60:30:10). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Fase móvil B - Metanol, agua y solución de fosfato monobásico de potasio al 3,4 % ajustada a pH 3,5 con ácido fosfórico (60:30:10). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* preparada según se indica en *Valoración*.

Solución estándar A - Emplear la *Preparación estándar* preparada según se indica en *Valoración*.

Solución estándar B - Diluir 1,0 ml de la *Solución estándar A* a 100 ml con *Fase móvil A*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar B*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. La respuesta del pico correspondiente a ácido bencilpenicilina benzatina obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor dos veces la suma de las respuestas de los picos principales obtenidos con la *Solución estándar B* (2,0 %); y cualquier otra impureza obtenida a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la suma de las respuestas de los dos picos principales obtenidos con la *Solución estándar B* (1,0 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor a 0,05 veces la suma de las respuestas de los dos picos principales obtenidos con la *Solución estándar B* (0,05 %).

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que Bencilpenicilina Benzatina es estéril no debe contener más de 0,01 Unidades de Endotoxina cada 100 Unidades de Bencilpenicilina.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que Bencilpenicilina Benzatina es estéril, debe cumplir con los requisitos según se indica en *Método de transferencia directa*, excepto que se debe emplear *Caldo de tioglicolato* y *Caldo digerido de caseína-soja* que contenga solución de polisorbato 80 (1 en 200) y una cantidad suficiente de penicilinas estéril para inactivar la Bencilpenicilina de cada tubo y agitar los tubos una vez por día.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 220 nm y una columna de 25 cm × 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm, totalmente recubierto. Mantener la columna a 40 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, metanol y solución de fosfato monobásico de potasio al 6,8 % ajustada a pH 3,5 con ácido fosfórico (55:35:10). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Diluyente - Preparar una solución que contenga 6,8 g de fosfato monobásico de potasio por litro y 1,02 g de fosfato dibásico de potasio por litro.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 70 mg de Bencilpenicilina Benzatina, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en 25 ml de metanol y completar a volumen con *Diluyente*.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 70 mg de Bencilpenicilina Benzatina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en 25 ml de metanol y completar a volumen con *Diluyente*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar A* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el tiempo de retención relativo para bencilpenicilina benzatina debe estar comprendido entre 0,3 y 0,4 y para ácido bencilpenicilina benzatina debe ser aproximadamente 2,4.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales.

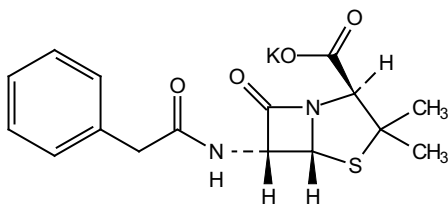
Calcular el contenido en porcentaje de C₁₆H₂₀ON₂ (benzatina) en la porción de Bencilpenicilina Benzatina en ensayo.

Calcular el contenido en porcentaje de C₄₈H₅₆N₆O₈S₂ en la porción de Bencilpenicilina Benzatina en ensayo, multiplicando el contenido en porcentaje de bencilpenicilina por 1,36.

ROTULADO

Cuando la Bencilpenicilina Benzatina esté destinada a la preparación de formas farmacéuticas inyectables, indicar en el rótulo que es estéril y libre de endotoxinas bacterianas.

BENCILPENICILINA POTÁSICA



$C_{16}H_{17}KN_2O_4S$ PM: 372,5 113-98-4

Sinonimia - Penicilina G Potásica.

Definición - Bencilpenicilina Potásica es la Sal monopotásica del ácido [2*S*-(2 α ,5 α ,6 β)]-3,3-dimetil-7-oxo-6-[(fenilacetil)amino]-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0] heptano-2-carboxílico. Es producida por el crecimiento de ciertas cepas de *Penicillium notatum* u organismos relacionados, u obtenidas por otros medios. Debe contener no menos de 96,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{16}H_{17}KN_2O_4S$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Muy soluble en agua; prácticamente insoluble en aceites grasos y parafina líquida.

Sustancias de referencia - Bencilpenicilina Potásica SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre hermético.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Debe responder al ensayo a la llama para Potasio <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 5,5 y 7,5, determinado sobre una solución de aproximadamente 100 mg por ml en agua libre de dióxido de carbono.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +270° y +300°, determinado sobre la sustancia seca.

Solución muestra: Disolver 500 mg de Bencilpenicilina Potásica en agua libre de dióxido de carbono y diluir a 25 ml con el mismo solvente.

Absorbancia de la solución

Disolver 94 mg de Bencilpenicilina Potásica en agua y diluir a 50 ml con el mismo solvente. Medir la absorbancia de la solución a 325, 280 nm y en el

máximo de absorción 264 nm, diluir la solución si es necesario para esta última medida. Las absorbancias a 325 y 280 nm no deben ser mayores a 0,10 y la absorbancia a 264 nm debe estar comprendida entre 0,80 y 0,88, calculada sobre la sustancia no diluida (1,88 mg por ml). Verificar la resolución del equipo (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*): la relación de absorbancias debe ser mayor a 1,7.

Pérdida por secado <680>

Secar entre 100 y 105 °C: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que la Bencilpenicilina Potásica es estéril no debe contener más de 0,01 Unidades de Endotoxina por cada 100 Unidades de Bencilpenicilina.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que la Bencilpenicilina Potásica es estéril, debe cumplir con los requisitos cuando se ensaya según se indica en *Método de filtración por membrana*.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 220 nm y una columna de 10 cm x 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μ m. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Solución de fosfato monobásico de potasio 0,01 M y metanol (60:40). Filtrar y degasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de resolución - Preparar una solución de Bencilpenicilina potásica SR-FA y 2-fenilacetamida en agua que contenga aproximadamente 0,1 mg de cada sustancia por ml.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 5 mg de Bencilpenicilina Potásica SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver y completar a volumen con agua.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Bencilpenicilina Potásica, transferir a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con agua.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución, *R*, entre los picos de 2-fenilacetamida y bencilpenicilina potásica no debe ser menor de 2,0 y los tiempos de retención relativos son aproximadamente 0,8 para 2-fenilacetamida

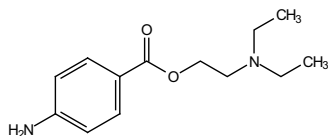
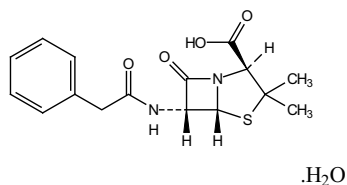
y 1,0 para bencilpenicilina potásica. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 1.000 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0 y la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser más de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el contenido en porcentaje de $C_{16}H_{17}KN_2O_4S$ en la porción de Bencilpenicilina potásica en ensayo.

ROTULADO

Cuando la Bencilpenicilina Potásica esté destinada a la preparación de formas farmacéuticas inyectables, indicar en el rótulo que es estéril.

BENCILPENICILINA PROCAÍNA



$C_{29}H_{38}N_4O_6S \cdot H_2O$ PM: 588,7 6130-64-9

Sinonimia - Penicilina G Procaína.

Definición - Benzilpenicilina Procaína es Ácido [2*S*-(2 α ,5 α ,6 β)]-3,3-dimetil-7-oxo-6-[(fenilacetil)amino]-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0] heptano-2-carboxílico, compuesto con 2-(dietilamino) etil-4-aminobenzoato (1:1), monohidrato. Debe contener no menos de 96,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{29}H_{38}N_4O_6S$ y no menos de 39,0 por ciento y no más de 42,0 por ciento de $C_{13}H_{20}O_2N_2$ (Procaína), calculados ambos porcentajes sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco. Moderadamente soluble en alcohol; poco soluble en agua.

Sustancia de referencia - Benzilpenicilina Procaína SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre hermético.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria y Fase móvil - Proceder según se indica en *Identificación B* en *Bencilpenicilina Benzatina*.

Solución muestra - Disolver 25 mg de Benzilpenicilina Procaína en 5 ml de acetona.

Solución estándar - Disolver 25 mg de Benzilpenicilina Procaína SR-FA en 5 ml de acetona.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 1 μ l de la *Solución muestra* y 1 μ l de *Solución estándar* y proceder según se indica en *Identificación B* en *Bencilpenicilina Benzatina*.

Determinación del pH <250>

Entre 5,0 y 7,5, determinado sobre una solución de 50 mg de Benzilpenicilina Procaína en 15 ml de agua libre de dióxido de carbono.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +165° y +180°, determinado sobre la sustancia anhidra.

Solución muestra: Disolver 250 mg de Benzilpenicilina Procaína en una mezcla de acetona y agua (3:2) y diluir a 25 ml con la misma mezcla de solventes.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico y Fase móvil - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra A* preparada según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Emplear la *Preparación estándar C* preparada según se indica en *Valoración*.

Aptitud del sistema - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: ajustar los parámetros operativos de modo tal que el pico correspondiente a benzilpenicilina sea al menos el 50 % de la escala completa del registrador.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas durante al menos 1,5 veces el tiempo de retención de benzilpenicilina y medir las respuestas de todos los picos. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* la respuesta del pico correspondiente a ácido 4-aminobenzoico no debe ser mayor que la respuesta del pico correspondiente obtenido con la *Solución estándar* (0,024 %); a excepción de los dos picos principales y el pico correspondiente a ácido 4-aminobenzoico, la respuesta de ningún pico debe ser mayor que la respuesta del pico correspondiente a la benzilpenicilina en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar* (1,0 %).

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 2,8 y 4,2 %, determinado sobre 500 mg.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que Benzilpenicilina Procaína es estéril no debe contener más de 0,01 Unidades de Endotoxina cada 100 Unidades de Benzilpenicilina.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que Benzilpenicilina Procaína es estéril, debe cumplir con los requisitos según se indica en *Método de filtración por membrana*, excepto que se debe emplear *Solu-*

ción A a la cual se ha agregado suficiente cantidad de penicilinas estéril para desactivar la bencilpenicilina y agitar por rotación para completar la disolución antes del filtrado.

VALORACIÓN

[NOTA: Preparar las soluciones inmediatamente antes de su uso].

Sistema cromatográfico - Proceder según se indica en *Valoración para Bencilpenicilina Potásica*, excepto que el caudal debe ser aproximadamente 1,75 ml por minuto.

Fase móvil - Solución de fosfato monobásico de potasio al 1,4 % e hidróxido de tetrabutilamonio al 0,65 %, ajustada a pH 7,0 con hidróxido de potasio 1 N, acetonitrilo y agua (50:25:25). Si fuera necesario, ajustar la mezcla a pH 7,2 con ácido fosfórico diluido. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Preparación muestra A - Pesar exactamente alrededor de 70 mg de Bencilpenicilina Procaína, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver y completar a volumen con *Fase móvil*.

Preparación muestra B - Pesar exactamente alrededor de 70 mg de Bencilpenicilina Procaína, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a volumen con *Fase móvil*.

Preparación estándar A - Pesar exactamente alrededor de 70 mg de Bencilpenicilina Procaína SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a volumen con *Fase móvil*.

Preparación estándar B - Pesar exactamente alrededor de 4 mg de ácido 4-aminobenzoico, transferir a un matraz aforado de 25 ml, disolver y completar a volumen con *Preparación estándar A*.

Preparación estándar C - Pesar exactamente alrededor de 16,8 mg de ácido 4-aminobenzoico, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver y completar a volumen con agua. Diluir 1,0 ml de esta solución a 10 ml con agua. A 1,0 ml de esta solución, agregar 1,0 ml de la *Preparación muestra A* y diluir hasta 100 ml con *Fase móvil*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*)- Cromatografiar la *Preparación estándar B* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: ajustar los parámetros operativos de modo tal que el pico correspondiente al ácido 4-aminobenzoico sea al menos el 50 % de la escala completa del registrador; las sustancias deben eluir en el siguiente orden: ácido 4-aminobenzoico, procaína y bencilpenicilina; el ensayo sólo es válido si la resolución *R* entre el primer y el segundo pico es mayor de 2,0. Cromatografiar la *Preparación estándar A* y registrar las respuesta de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación

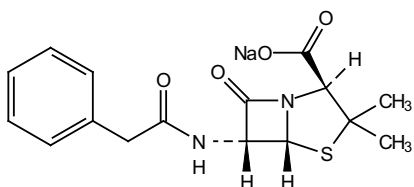
estándar relativa para las respuestas de los dos picos debe ser menor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar A* y la *Preparación muestra B*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el contenido en porcentaje de $C_{13}H_{20}O_2N_2$ (Procaína) y $C_{29}H_{38}N_4O_6S$ en la porción de Bencilpenicilina Procaína en ensayo.

ROTULADO

Cuando la Bencilpenicilina Procaína esté destinada a la preparación de formas farmacéuticas inyectables, indicar en el rótulo que es estéril y libre de endotoxinas bacterianas.

BENCILPENICILINA SÓDICA



$C_{16}H_{17}N_2NaO_4S$ PM: 356,4 69-57-8

Sinonimia - Penicilina G Sódica.

Definición - Bencilpenicilina Sódica es la Sal monosódica del ácido [2*S*-(2 α ,5 α ,6 β)]-3,3-dimetil-7-oxo-6-[(fenilacetil)amino]-4-tia-1-azabicyclo [3.2.0]heptano-2-carboxílico. Es producida por el crecimiento de ciertas cepas de *Penicillium notatum* u organismos relacionados, u obtenidas por otros medios. Debe contener no menos de 96,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{16}H_{17}NaN_2O_4S$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Muy soluble en agua; prácticamente insoluble en aceites grasos y parafina líquida.

Sustancias de referencia - Bencilpenicilina Potásica SR-FA. Bencilpenicilina Sódica SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre hermético.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 5,5 y 7,5, determinado sobre una solución de aproximadamente 100 mg por ml en agua libre de dióxido de carbono.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +285° y +310°, determinado sobre la sustancia seca.

Solución muestra: Disolver 500 mg de Bencilpenicilina Sódica en agua libre de dióxido de carbono y diluir a 25 ml con el mismo solvente.

Absorbancia de la solución

Disolver 90 mg de Bencilpenicilina Sódica y proceder según se indica en *Absorbancia de la solución* para *Bencilpenicilina Potásica*.

Pérdida por secado <680>

Secar en una estufa entre 100 y 105 °C: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que la Bencilpenicilina Sódica es estéril no debe contener más de 0,01 Unidades de Endotoxina por cada 100 Unidades de Bencilpenicilina.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que la Bencilpenicilina Sódica es estéril, debe cumplir con los requisitos cuando se ensaya según se indica en *Método de filtración por membrana*.

VALORACIÓN

[NOTA: preparar las soluciones inmediatamente antes de usar].

Sistema cromatográfico, Fase móvil Solución de resolución Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Bencilpenicilina Potásica*.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 5 mg de Bencilpenicilina Sódica, transferir a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con agua.

Procedimiento - Proceder según se indica en la *Valoración de Bencilpenicilina Potásica* Calcular el contenido en porcentaje de $C_{16}H_{17}N_2NaO_4S$ en la porción de Bencilpenicilina Sódica en ensayo.

ROTULADO

Cuando la Bencilpenicilina Sódica esté destinada a la preparación de formas farmacéuticas inyectables, indicar en el rótulo que es estéril.

BENZALCONIO, CLORURO DE

8001-54-5

Definición - Cloruro de Benzalconio es una mezcla de cloruros de alquilbencildimetilamonio y sus sustituyentes alquilo presentan una longitud de cadena comprendida entre C₈ y C₁₈. Cloruro de Benzalconio debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más del equivalente a 104,0 por ciento de cloruros de alquilbencildimetilamonio, calculados como C₂₂H₄₀ClN, con un peso molecular de 354,0, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o blanco amarillento, o fragmentos gelatinosos blanco amarillentos. Higroscópico, jabonoso al tacto. Forma una masa fundida límpida al calentar. En disolución acuosa produce abundante espuma al agitar. Muy soluble en agua y alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Disolver 80 mg de Cloruro de Benzalconio en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Examinar entre 220 y 350 nm (*ver 470. Espectrofotometría ultravioleta y visible*). La solución debe presentar tres máximos de absorción a 257, 263 y 269 nm y un hombro a 250 nm.

B - Disolver 1 g de Cloruro de Benzalconio en agua libre de dióxido de carbono y diluir a 100 ml con el mismo solvente. A 2 ml de la solución obtenida, agregar 0,1 ml de ácido acético glacial y 1 ml de una solución de tetrafenilborato de sodio al 1 % (filtrada si es necesario), gota a gota: se debe desarrollar un precipitado blanco. Filtrar y disolver el precipitado obtenido en una mezcla de alcohol y acetona (5:1), calentando a una temperatura no mayor de 70 °C. Agregar agua, gota a gota, hasta que la solución desarrolle una ligera opalescencia. Calentar hasta que la solución se torne límpida y dejar enfriar: deben precipitar cristales blancos. Filtrar, lavar con tres porciones de 10 ml de agua y secar al vacío sobre pentóxido de fósforo o gel de sílice anhidro a una temperatura no mayor de 50 °C. Los cristales deben fundir entre 127 y 133 °C (*ver 260. Determinación del punto de fusión*).

C - A 5 ml de hidróxido de sodio al 8,5 %, agregar 0,1 ml de azul de bromofenol (SR2) y 5 ml de cloroformo y agitar: la fase clorofórmica incolora debe desarrollar color azul al agregar 0,1 ml de una

solución de Cloruro de Benzalconio al 1 %.

D - Disolver 1 g de Cloruro de Benzalconio en agua libre de dióxido de carbono y diluir a 100 ml con el mismo solvente. A 2 ml de la solución obtenida, agregar 1 ml de ácido nítrico diluido. Se debe formar un precipitado blanco que se disuelve al agregar 5 ml de alcohol. La solución obtenida debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Acidez o alcalinidad

Disolver 1 g de Cloruro de Benzalconio en agua libre de dióxido de carbono y diluir a 100 ml con el mismo solvente. A 50 ml de esta solución, agregar 0,1 ml de púrpura de bromocresol (SR). No se deben consumir más de 0,1 ml de ácido clorhídrico 0,1 N o hidróxido de sodio 0,1 N para virar el color del indicador.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 10 %, determinado sobre 300 mg de Cloruro de Benzalconio.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Aminas y sales de aminas

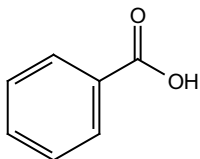
Disolver 5,0 g de Cloruro de Benzalconio en 20 ml de una mezcla de metanol y ácido clorhídrico 1 N (97:3) y agregar 100 ml de alcohol isopropílico. Pasar lentamente una corriente de nitrógeno a través de la solución, realizar una titulación potenciométrica empleando un electrodo de vidrio y un electrodo de plata – cloruro de plata y registrar la curva de titulación mientras se agrega lentamente 12 ml de hidróxido de tetrabutilamonio 0,1 N. Si la curva presenta dos puntos de inflexión, el volumen de hidróxido de tetrabutilamonio 0,1 N agregado entre los dos puntos no debe ser mayor de 5 ml. Si la curva no presenta puntos de inflexión la porción de Cloruro de Benzalconio en ensayo no cumple con los requisitos. Si la curva muestra un punto de inflexión repetir el ensayo agregando 3 ml de una solución de dimetildecilamina al 2,5 % en alcohol isopropílico antes de titular. Si, luego de la adición de 12 ml de hidróxido de tetrabutilamonio 0,1 N, la curva presenta sólo un punto de inflexión, la porción de Cloruro de Benzalconio en ensayo no cumple con los requisitos.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 2 g de Cloruro de Benzalconio, transferir a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua. Transferir 25 ml de esta solución a una ampolla de decantación, agregar 25 ml de cloroformo, 10 ml de hidróxido de sodio 0,1 N y 10 ml de una solución recientemente preparada de yoduro de potasio al 5 %. Agitar, dejar

separar las fases y descartar la fase clorofórmica. Lavar la fase acuosa con tres porciones de 10 ml de cloroformo y descartar los lavados. Agregar 40 ml de ácido clorhídrico, dejar enfriar y titular con iodato de potasio 0,05 M hasta que el color marrón oscuro desaparezca. Agregar 2 ml de cloroformo y continuar la titulación, agitando enérgicamente hasta que la capa clorofórmica no cambie de color. Realizar una determinación con un blanco, empleando una mezcla de 10 ml de una solución recientemente preparada de ioduro de potasio al 5 %, 20 ml de agua y 40 ml de ácido clorhídrico. Cada ml de iodato de potasio 0,05 M equivale a 35,4 mg de $C_{22}H_{40}ClN$.

BENZOICO, ÁCIDO



$C_7H_6O_2$

PM: 122,1

65-85-0

Definición - Ácido Benzoico es Ácido benzenocarboxílico. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_7H_6O_2$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales blancos, escamas o agujas. Fácilmente soluble en alcohol, cloroformo y éter; soluble en agua a ebullición; poco soluble en agua.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Preparar una solución saturada de Ácido Benzoico en agua y filtrarla dos veces. A una porción del filtrado, agregar cloruro férrico (SR): se debe formar un precipitado color rosa. A otra porción de 10 ml del filtrado, agregar 1 ml de ácido sulfúrico 7 N y enfriar: aproximadamente a los 10 minutos se debe formar un precipitado blanco soluble en éter.

B - Determinación del punto de fusión <260>
Entre 121 y 123 °C.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,7 %. Emplear como solvente una solución de metanol en piridina 1 en 2.

Ensayo de sustancias fácilmente carbonizables <350>

Disolver 500 mg de Ácido Benzoico en 5 ml de ácido sulfúrico (SR): la solución no debe presentar una coloración más intensa que la *Solución de comparación Q*.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,05 %.

Límite de metales pesados <590>

Disolver 2,0 g de Ácido Benzoico en 25 ml de acetona y agregar 2 ml de agua. Agregar 1,2 ml de tioacetamida-glicerina básica (SR) y 2 ml de *Solu-*

ción reguladora de acetato pH 3,5. Dejar reposar durante 5 minutos: el color obtenido no debe ser más oscuro que el de un control preparado con 25 ml de acetona y 2,0 ml de *Solución estándar de plomo (10 ppm)* tratado del mismo modo. No más de 0,001 %.

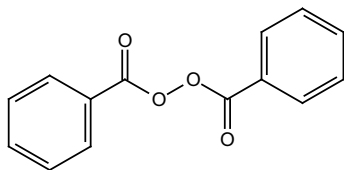
Sustancias fácilmente oxidables

Agregar 1,5 ml de ácido sulfúrico a 100 ml de agua, calentar a ebullición y agregar permanganato de potasio 0,1 N, gota a gota, hasta que el color rosado persista durante 30 segundos. Disolver 1,0 g de Ácido Benzoico en la solución caliente y titular con permanganato de potasio 0,1 N (SV) hasta que el color rosado persista durante 15 segundos: no deben consumirse más de 0,50 ml de permanganato de potasio 0,1 N.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Ácido Benzoico, disolver en 20 ml de alcohol, agregar 0,1 ml de rojo fenol (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) hasta color rojo violáceo. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 12,21 mg de $C_7H_6O_2$.

BENZOÍLO HIDRATADO, PERÓXIDO DE



C₁₄H₁₀O₄

PM: 242,2

94-36-0

Definición - Peróxido de Benzoílo Hidratado es Peróxido de Dibenzoílo. Debe contener no menos de 70,0 por ciento y no más de 77,0 por ciento de C₁₄H₁₀O₄. Debe contener como mínimo aproximadamente 20,0 por ciento de agua y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco amorfo o granuloso. Soluble en acetona y cloruro de metileno con separación de la fase acuosa; poco soluble en alcohol; prácticamente insoluble en agua. Pierde rápidamente agua si se expone al aire con riesgo de explosión.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos, tratados para reducir el riesgo de descargas electrostáticas y provisto de un dispositivo que permita eliminar el exceso de presión interna, a una temperatura de 2 a 8 °C

[NOTA: no transferir Peróxido de Benzoílo Hidratado a envases metálicos o de vidrio que posean tapones colocados a presión. No retornar el material no empleado a su envase original, sino destruirlo tratándolo con solución de hidróxido de sodio 1 en 10 hasta que, con el agregado de un cristal de yoduro de potasio, no se produzca yodo libre.]

ENSAYOS

Precaución - El Peróxido de Benzoílo Hidratado puede estallar a temperaturas mayores de 60 °C o causar incendios en presencia de sustancias reductoras. Homogeneizar cuidadosamente la muestra antes de realizar los ensayos.

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. Proceder según se indica en *Identificación por medio de espectros de referencia*.

B - Absorción ultravioleta <470>

Solución A - Pesar exactamente alrededor de 80,0 mg de Peróxido de Benzoílo Hidratado, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a volumen con alcohol. Transferir

10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100,0 ml y completar a volumen con alcohol.

Solución B - Transferir 10,0 ml de la *Solución A* a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con alcohol.

Procedimiento - Examinar la *Solución A* entre 250 y 300 nm: debe presentar un máximo de absorbancia a 274 nm y un hombro a 282 nm aproximadamente. Examinar la *Solución B* entre 220 y 250 nm: debe presentar un máximo de absorbancia a 235 nm. La relación entre la absorbancia en el máximo a 235 nm de la *Solución B* y la absorbancia en el máximo a 274 nm de la *Solución A* debe estar comprendida entre 1,17 y 1,21.

C - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Peróxido de Benzoílo Hidratado y disolver en 2 ml de acetona. Agregar 1 ml de una solución de sulfato de dietilfenilendiamina al 1 % y mezclar. Debe aparecer una coloración roja que se oscurece rápidamente y vira a violeta oscuro en 5 minutos.

Acidez

Disolver una cantidad de Peróxido de Benzoílo Hidratado, equivalente a 1,0 g de peróxido de benzoílo, en 25 ml de acetona, agregar 75 ml de agua y filtrar. Lavar el residuo con dos porciones de agua de 10 ml cada una. Reunir el filtrado y los lavados y agregar 0,25 ml de fenolftaleína (SR). No se deben consumir más de 1,25 ml de hidróxido de sodio 0,1 M para hacer virar el color del indicador.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 2,500 g de Peróxido de Benzoílo Hidratado, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver con 75 ml de dimetilformamida y completar a volumen con el mismo solvente.

Procedimiento - Emplear 5 ml de la *Solución muestra*. Emplear como solvente una mezcla de 20 ml de metanol anhidro y 3 ml de una solución al 10 % p/v de yoduro de potasio en dimetilformamida. Después del agregado de la *Solución muestra*, agitar durante 5 minutos antes de comenzar la titulación. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Calcular el porcentaje de agua por la fórmula siguiente:

$$(2 V f / m) + (0,0744P)$$

en la cual V es el volumen de reactivo de Karl Fischer en ml consumidos para la titulación, f es el factor del reactivo de Karl Fischer en mg de agua por ml de reactivo, m es la cantidad de muestra en mg empleada en la *Solución muestra* y P es el contenido porcentual de Peróxido de Benzoílo obtenido en *Valoración*.

Límite de cloruro

Solución muestra - Disolver una cantidad de Peróxido de Benzoílo Hidratado, equivalente a 500 mg de peróxido de benzoílo, en 15 ml de acetona. Agregar con agitación 50 ml de ácido nítrico 0,05 M. Dejar reposar durante 10 minutos y filtrar. Lavar el residuo con dos porciones de 10 ml cada una de ácido nítrico 0,05 M. Transferir el filtrado y los lavados a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con ácido nítrico 0,05 M. Diluir 2,5 ml de esta solución a 15 ml con agua.

Procedimiento - A 15 ml de la *Solución muestra* agregar 1 ml de ácido nítrico al 12,5 % y luego transferir esta mezcla a un tubo de Nessler que contiene 1 ml de nitrato de plata (SR). Preparar una solución de comparación en las mismas condiciones, empleando una mezcla constituida por 10 ml de solución de cloruro (5 ppm) (SL) y 5 ml de agua. Examinar los tubos lateralmente sobre un fondo negro. Luego de 5 minutos, protegida de la luz, si la *Solución muestra* presenta opalescencia, ésta no debe ser más intensa que la de la solución de comparación (0,4 %).

Sustancias relacionadas

[NOTA: preparar las soluciones en el momento de su uso.]

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 235 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 10 µm diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo, agua y ácido acético glacial (500:500:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Disolver una cantidad de Peróxido de Benzoílo Hidratado, equivalente a 100 mg de peróxido de benzoílo en acetonitrilo y diluir a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar A - Transferir 1,0 ml de *Solución muestra* a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con acetonitrilo. Transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con acetonitrilo.

Solución estándar B - Pesar exactamente alrededor de 30 mg de *Ácido benzoico*, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a volumen con *Fase móvil*. Transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Solución estándar C - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de benzoato de etilo, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a

volumen con *Fase móvil*. Transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Solución estándar D - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de benzaldehído, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a volumen con *Fase móvil*. Transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Solución estándar E - Pesar exactamente alrededor de 30 mg de *Ácido benzoico* y 30 mg de benzaldehído, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a volumen con *Fase móvil*. Transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar E* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de ácido benzoico y benzaldehído no debe ser menor de 6.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución muestra* y las *Soluciones estándar A, B, C y D*, registrar los cromatogramas durante al menos dos veces el tiempo de retención del peróxido de benzoílo y medir la respuesta de todos los picos. Los tiempos de retención deben ser aproximadamente 28,4 minutos para peróxido de benzoílo, 4,3 minutos para ácido benzoico, 5,7 minutos para benzaldehído y 11,4 minutos para benzoato de etilo. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, las respuestas de los picos correspondientes a benzaldehído, ácido benzoico y benzoato de etilo no deben ser mayores que las respuestas de los picos principales en los cromatogramas obtenidos con las *Soluciones estándar D* (0,25 %); *B* (1,5 %) y *C* (0,25 %), respectivamente. La respuesta de cualquier otra impureza en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor a la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar A* (0,1 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor a 0,2 veces la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar A* (0,02 %).

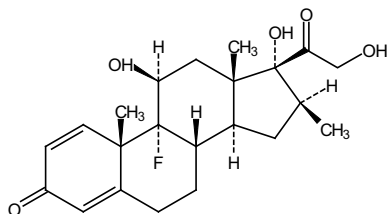
VALORACIÓN

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 2,500 g de Peróxido de Benzoílo Hidratado, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver con 75 ml de dimetilformamida y completar a volumen con el mismo solvente.

Procedimiento - A 5,0 ml de de la *Solución muestra* agregar 20 ml de acetona y 3 ml de una

solución al 50 % de ioduro de potasio y mezclar. Dejar reposar durante 1 minuto. Titular con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), empleando 1 ml de almidón (SR) como indicador hacia el final de la titulación. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 12,11 mg de $C_{14}H_{10}O_4$.

BETAMETASONA



C₂₂H₂₉FO₅

PM: 392,5

378-44-9

Definición - Betametasona es 9-Fluoro-11β,17,21-trihidroxi-16β-metilpregna-1,4-dien-3,20-diona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Inodoro. Funde aproximadamente a 240 °C, con descomposición. Moderadamente soluble en acetona, alcohol, dioxano y metanol; muy poco soluble en cloroformo y éter; insoluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Betametasona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación -

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Preparación estándar*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +118° y +126°, calculado sobre la sustancia seca.

Solución muestra: 5 mg por ml en metanol.

Pérdida por secado <680>

Secar 200 mg de Betametasona a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %, empleando un crisol de platino.

Impurezas comunes <510>

Solución muestra y Solución estándar: emplear metanol como solvente.

Fase estacionaria: emplear una placa para cromatografía en placa delgada de alta eficiencia (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia. En caso de producirse interferencias en la placa, por la aparición de bandas a la altura de las posibles impurezas, efectuar una corrida con *Fase móvil*, evaporar el solvente, activar la placa durante 30 minutos a 105 °C y repetir el desarrollo, evaporación y activación antes de sembrar.

Fase móvil: diclorometano, éter dimetílico, metanol y agua (77:15:8:1,2).

Volumen de aplicación: 10 µl.

Revelador: luz ultravioleta a 254 nm.

Impurezas orgánicas volátiles <520> -

Método III. El límite para cloruro de metileno es 0,1 %.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 240 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua y acetonitrilo (63:37). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

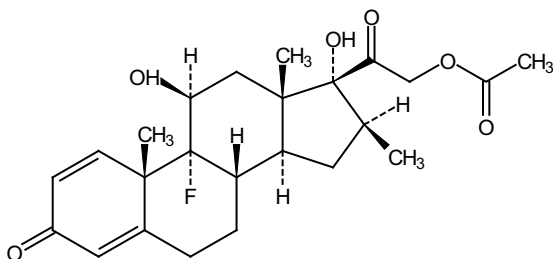
Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Betametasona SR-FA y transferir a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 60 ml de metanol, sonicar 10 minutos y llevar a volumen con el mismo solvente. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 25 ml y llevar a volumen con agua.

Preparación muestra - Proceder según se indica para la *Preparación estándar*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₂₂H₂₉FO₅ en la porción de Betametasona en ensayo.

BETAMETASONA, ACETATO DE



$C_{24}H_{31}FO_6$

PM: 434,5

987-24-6

Definición - Acetato de Betametasona es 21-acetato de (11 β ,16 β)-9-Fluoro-11,17-dihidroxi-16-metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_{24}H_{31}FO_6$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Inodoro. Fácilmente soluble en acetona; soluble en alcohol y cloroformo; prácticamente insoluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Acetato de Betametasona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Preparación estándar*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +120° y +128°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en dioxano.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 4,0 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %, empleando un crisol de platino.

Impurezas comunes <510>

Solución muestra y *Solución estándar*: emplear metanol como solvente.

Fase móvil: tolueno y alcohol isopropílico (90:10), en una cámara sin equilibrar.

Volumen de aplicación: 10 μ l.

Revelador: 5.

VALORACIÓN

Sistema Cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm \times 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, acetonitrilo y ácido acético glacial (800:700:1,5). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución del estándar interno - Transferir 35 mg de *Progesterona* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Acetato de Betametasona SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg por ml. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, agregar 10,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml.

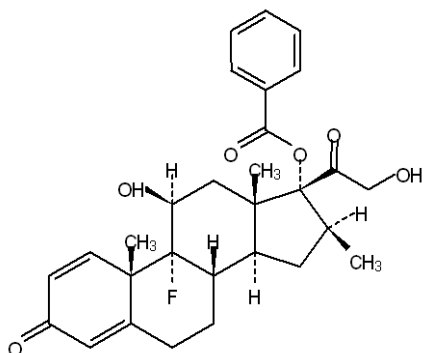
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Acetato de Betametasona, transferir a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, agregar 10,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 3 para progesterona y 1,0 para acetato de betametasona; la resolución *R* entre los picos de acetato de betametasona y progesterona no debe ser menor de 2; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente

25 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{24}H_{31}FO_6$ en la porción de Acetato de Betametasona en ensayo.

BETAMETASONA, BENZOATO DE



$C_{29}H_{33}FO_6$

PM: 496,6

22298-29-9

Definición - Benzoato de Betametasona es 17-Benzoato de (11 β ,16 β)-9-fluoro-11,21-dihidroxi-16-metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{29}H_{33}FO_6$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Funde aproximadamente a 220 °C, con descomposición. Soluble en alcohol, cloroformo y metanol; insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Benzoato de Betametasona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +60° y +66°.

Solución muestra: 40 mg por ml, en dioxano.

Pérdida por secado <680>

Secar 200 mg de Benzoato de Betametasona a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Esteroides relacionados

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno, acetona y metanol (75:25:4).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Benzoato de Betametasona SR-FA en metanol para obtener una solución de aproximadamente 5 mg por ml.

Solución estándar diluida - Diluir una porción de la *Solución estándar* cuantitativamente y en etapas con metanol para obtener una solución de aproximadamente 100 μ g por ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Benzoato de Betametasona y disolver en 5 ml de metanol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de *Solución estándar*, 10 μ l de *Solución estándar diluida* y 10 μ l de *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución estándar*; y la *Solución muestra* no debe presentar más de tres manchas adicionales, cuya intensidad y tamaño no debe ser mayor a los de la mancha obtenida con la *Solución estándar diluida*.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm \times 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μ m diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo y agua (60:40). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución del estándar interno - Preparar una solución de *Dipropionato de Betametasona* en metanol de aproximadamente 0,6 mg por ml.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Benzoato de Betametasona SR-FA en metanol para preparar una solución de aproximadamente 0,6 mg por ml. Mezclar 5,0 ml de esta solución y 10,0 ml de la *Solución del estándar interno* para obtener una solución de aproxima-

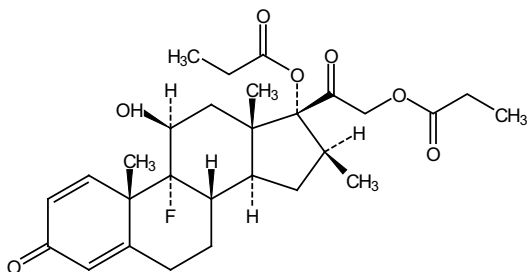
damente 0,2 mg de Benzoato de Betametasona por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 60 mg de Benzoato de Betametasona, transferir a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con metanol y mezclar. Mezclar 5,0 ml de esta solución y 10,0 ml de la *Solución del estándar interno*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de benzoato de betametasona y del estándar interno no debe ser menor de 3; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 15 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad en mg de $C_{29}H_{33}FO_6$ en la porción de Benzoato de Betametasona en ensayo.

BETAMETASONA, DIPROPIONATO DE



C₂₈H₃₇FO₇

PM: 504,6

5593-20-4

Definición - Dipropionato de Betametasona es 17,21-Dipropionato de (11 β ,16 β)-9-fluoro-11,17,21-trihidroxi-16-metilpregna-1,4-dien-3,20-diona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de C₂₈H₃₇FO₇, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Inodoro. Fácilmente soluble en acetona y cloroformo; moderadamente soluble en alcohol; insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Dipropionato de Betametasona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Preparación estándar*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +63° y +70°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en dioxano.

Pérdida por secado <680>

Secar 200 mg de Dipropionato de Betametasona a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Pureza Cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de

15 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo y agua (65:35). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de aptitud del sistema - Disolver una cantidad exactamente pesada de Dipropionato de Betametasona SR-FA y *Valerato de Betametasona* en *Fase móvil* para obtener una solución con concentraciones de 0,05 mg de cada uno por ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 3,0 mg de Dipropionato de Betametasona y transferir a un matraz aforado de 10 ml. Completar a volumen con *Fase móvil* y agitar hasta disolver.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de valerato de betametasona y dipropionato de betametasona no debe ser menor de 4; la eficiencia de la columna no debe ser menor de 8.000 platos teóricos.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 10 μ l de la *Solución muestra*, registrar el cromatograma y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Dipropionato de Betametasona en ensayo. No debe contener más de 1,0 % de cada impureza individual y la suma de todas las impurezas no debe ser mayor de 2,0 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %, empleando un crisol de platino.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm \times 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro.

Fase móvil - Acetonitrilo y Agua (50:50). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Ácido acético y metanol (1 en 1.000).

Preparación estándar - Preparar una solución de Dipropionato de Betametasona SR-FA en *Diluyente* de aproximadamente 0,3 mg por ml.

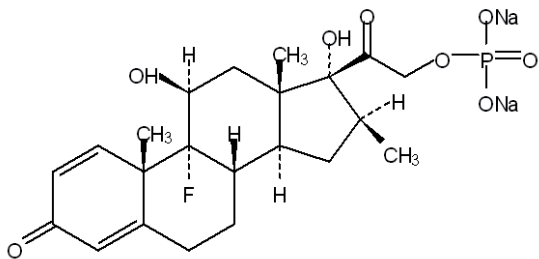
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 60 mg de Dipropionato de Betametasona. Diluir cuantitativamente y en etapas con *Diluyente*

para obtener una solución de aproximadamente 0,3 mg por ml.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{28}H_{37}FO_7$ en la porción de Dipropionato de Betametasona en ensayo.

BETAMETASONA, FOSFATO SÓDICO DE



C₂₂H₂₈FNa₂O₈P

PM: 516,4

151-73-5

Definición - Fosfato Sódico de Betametasona es 21-Fosfato disódico de (11 β ,16 β)-9-fluoro-11,17,21-trihidroxi-16-metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de C₂₂H₂₈FNa₂O₈P, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Inodoro e higroscópico. Fácilmente soluble en agua y metanol; prácticamente insoluble en acetona y cloroformo.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Fosfato Sódico de Betametasona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Preparación estándar*.

C - Someter a ignición a 800 °C (ver 270. *Determinación del residuo de ignición*): el residuo debe responder a los ensayos para *Sodio* <410> y para *Fosfato* <410>.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +99° y +105°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en agua.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 10,0 %.

Fosfato inorgánico

Solución estándar de fosfato - Disolver 143,3 mg de fosfato monobásico de potasio anhidro y previamente secado, en agua para obtener un volumen final de 1 litro. Esta solución contiene el equivalente a 0,10 mg de fosfato por ml.

Reactivo para fosfato A - Disolver 5 g de molidato de amonio en ácido sulfúrico 1 N para obtener un volumen final de 100 ml.

Reactivo para fosfato B - Disolver 350 mg de sulfato de *p*-metilaminofenol en 50 ml de agua, agregar 20 g de bisulfito de sodio, mezclar hasta disolución y diluir con agua a 100 ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Fosfato Sódico de Betametasona y transferir a un matraz aforado de 25 ml. Disolver en una mezcla de 10 ml de agua y 5 ml de ácido sulfúrico 2 N, calentando si fuera necesario. Agregar 1 ml de *Reactivo para fosfato A* y 1 ml de *Reactivo para fosfato B*, completar a volumen con agua, mezclar y dejar reposar a temperatura ambiente durante 30 minutos.

Solución estándar - Preparar según se indica para *Solución muestra*, pero empleando 5,0 ml de *Solución estándar de fosfato* en lugar de 50 mg de Fosfato Sódico de Betametasona.

Procedimiento - Determinar concomitantemente las absorbancias de ambas soluciones en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 730 nm, con un espectrofotómetro, empleando agua como blanco. La absorbancia de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la obtenida con la *Solución estándar* (1,0 %).

Límite de betametasona libre

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 25,0 mg de Fosfato Sódico de Betametasona y disolver en 25,0 ml de agua. Transferir 5,0 ml de esta solución a una ampolla de decantación y extraer con tres porciones de 25 ml de cloroformo. Filtrar cada extracto a través de una torunda de algodón saturada con cloroformo y combinar los filtrados. Evaporar el cloroformo en un evaporador rotatorio hasta sequedad y disolver el residuo en metanol a 25,0 ml.

Solución blanco - Transferir 5,0 ml de agua a una ampolla de decantación y proceder según se indica para *Solución muestra*. La solución metanólica obtenida es la *Solución blanco*.

Procedimiento - Determinar la absorbancia de la *Solución muestra* en una celda de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 239 nm, con un espectrofotómetro, empleando *Solución blanco* como blanco. Calcular la cantidad en mg de betametasona libre en la porción de Fosfato Sódico de Betametasona en ensayo, multi-

plicando el valor de absorbancia obtenido para la *Solución muestra* por 3,125. No debe contener más de 250 µg (1,0 %) de betametasona libre.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol y fosfato monobásico de potasio 0,07 M (3:2). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

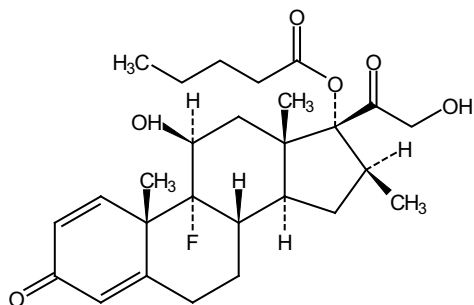
Preparación estándar - Transferir una cantidad exactamente pesada de Fosfato Sódico de Betametasona SR-FA a un matraz aforado de 100 ml. Disolver en una mezcla de metanol y agua (3:2) y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con la misma mezcla para obtener una solución de aproximadamente 0,17 mg de Fosfato Sódico de Betametasona por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 34 mg de Fosfato Sódico de Betametasona, transferir a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con una mezcla de metanol y agua (3:2) y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 2; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 3,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$ en la porción de Fosfato Sódico de Betametasona.

BETAMETASONA, VALERATO DE



$C_{27}H_{37}FO_6$

PM: 476,6

2152-44-5

Definición - Valerato de Betametasona es 17-Valerato de (11 β ,16 β)-9-fluoro-11,17,21-trihidroxi-16-metilpregna-1,4-dien-3,20-diona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_{27}H_{37}FO_6$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Inodoro. Fácilmente soluble en acetona y cloroformo; soluble en alcohol; moderadamente soluble en benceno y éter; prácticamente insoluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Valerato de Betametasona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Preparación estándar*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +75° y +82°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en dioxano.

Pérdida por secado <680>

Secar 200 mg de Valerato de Betametasona a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %, empleando un crisol de platino.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 15 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo, agua y ácido acético glacial (550:450:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 4 mg de Valerato de Betametasona y transferir a un matraz aforado de 10 ml. Completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución muestra* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre el valerato de betametasona y cualquier impureza no debe ser menor de 1,5; la eficiencia de la columna no debe ser menor de 9.000 platos teóricos.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 10 μ l de la *Solución muestra*, registrar el cromatograma y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Valerato de Betametasona en ensayo, en relación a la sumatoria de las respuestas de todos los picos. No debe contener más de 1,0 % de cada impureza individual y la suma de todas la impurezas no debe ser mayor de 2,0 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm \times 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,2 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo y agua (3:2). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Ácido acético glacial en metanol (1 en 1.000).

Solución del estándar interno - Pesar exactamente alrededor de 40 mg de *Dipropionato de Betametasona*, transferir a un matraz aforado de

100 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

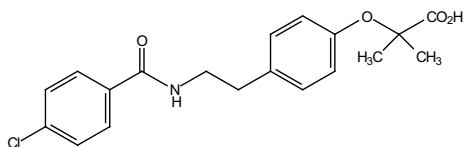
Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 30 mg de Valerato de Betametasona SR-FA y transferir a un matraz aforado de 50 ml. Agregar *Diluyente*, sonicar hasta disolución y completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un recipiente apropiado con tapa, agregar 10,0 ml de *Solución del estándar interno* y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 0,2 mg de Valerato de Betametasona SR-FA por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 60 mg de Valerato de Betametasona y transferir a un matraz aforado de 100 ml. Completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un recipiente apropiado con tapa, agregar 10,0 ml de *Solución del estándar interno* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 1,7 para dipropionato de beclometasona y 1,0 para valerato de betametasona; la resolución *R* entre los picos de valerato de betametasona y dipropionato de beclometasona no debe ser menos de 4,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{27}H_{37}FO_6$ en la porción de Valerato de Betametasona en ensayo.

BEZAFIBRATO



$C_{19}H_{20}ClNO_4$ PM: 361,8 41859-67-0

Definición - Bezafibrato es Ácido 2-[4-[2-[(4-clorobenzoyl)amino]etil]fenoxi]-2-metilpropanoico. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{19}H_{20}ClNO_4$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Se disuelve en soluciones diluidas de hidróxidos alcalinos. Fácilmente soluble en dimetilformamida; moderadamente soluble en acetona y alcohol; prácticamente insoluble en agua. Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Bezafibrato SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. [NOTA: si aparecen diferencias entre los espectros, disolver la muestra y la *Sustancia de referencia* por separado en metanol y evaporar hasta sequedad. Secar los residuos al vacío a 80 °C durante 1 hora y repetir el ensayo sobre los residuos].

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Xileno, metil etil cetona y ácido acético glacial (60:30:2,7).

Solución muestra - Disolver 10 mg de Bezafibrato en metanol y diluir hasta 5 ml con el mismo solvente.

Solución estándar - Disolver 10 mg de Bezafibrato SR-FA en metanol y diluir hasta 5 ml con el mismo solvente.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de la *Solución muestra* y 5 µl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la

placa de la cámara, marcar el frente del solvente y secar a 120 °C durante 15 minutos. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con obtenido con la *Solución estándar*.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pérdida por secado <680>

Secar en estufa a 105 °C hasta peso constante: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 228 nm y una columna de 12,5 cm × 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol y una solución de fosfato monobásico de potasio de aproximadamente 2,72 g/l, previamente ajustada a pH 2,3 con ácido fosfórico (60:40). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud de sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Bezafibrato, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en *Fase móvil*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Solución estándar A - Transferir 10,0 ml de la *Solución muestra* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Solución estándar B - Transferir 5,0 ml de la *Solución estándar A* a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Solución estándar C - A 1 ml de *Solución muestra* agregar 1 ml de ácido clorhídrico 0,1 N y evaporar hasta sequedad. Disolver el residuo con 20 ml de *Fase móvil*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar C* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución R entre los dos picos principales no debe ser menor de 5,0. Cromatografiar la *Solución estándar B* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la relación señal-ruido del pico principal no debe ser menor de 5.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución muestra* y de las *Soluciones*

estándar A, B y C y registrar los cromatogramas el tiempo necesario para detectar el pico del éster, el cual dependiendo de la ruta de síntesis, puede ser la impureza C, D o E. Los tiempos de retención deben ser: aproximadamente 3 minutos para [4-cloro-N-[2-(4-hidroxifenil)etil]benzamida] (impureza A); 3,5 minutos para ácido 4-clorobenzoico (impureza B); 6 minutos para Bezafibrato; 9 minutos para metil [2-[4-[2-[(4-clorobenzoil)amino]etil]fenoxi]-2-metilpropanoato (impureza C); 14 minutos para [etil 2-[4-[2-[(4-clorobenzoil)amino]etil]fenoxi]]-2-metilpropanoato] (impureza D) y 37 minutos para butil-2-[4-[2-[(4-clorobenzoil)amino]etil]fenoxi]]-2-metilpropanoato (impureza E). Medir las respuestas de todos los picos: en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ninguna respuesta debe ser mayor a la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar A* (0,5 %); a excepción del pico principal, la suma de las respuestas de todos los picos no debe ser mayor a 1,5 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (0,75 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor de 0,1 vez la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar A*.

Límite de cloruro

Solución muestra - Disolver 1,0 g de Bezafibrato en dimetilformamida y diluir a 20 ml con el mismo solvente. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con agua. Filtrar la suspensión resultante a través de un filtro húmedo, previamente lavado con agua hasta que esté libre de cloruros y filtrar.

Procedimiento - A 15 ml de *Solución muestra* agregar 1 ml de ácido nítrico al 12,5 %. Transferir esta mezcla a un tubo de Nessler que contenga 1 ml de nitrato de plata (SR) y proteger de la luz. Proceder del mismo modo con un control preparado a partir de 6 ml de agua y 9 ml de solución de cloruro (5 ppm) (SL) y examinar los tubos lateralmente sobre fondo negro. Luego de 5 minutos, si la *Solución muestra* presenta opalescencia, esta no debe ser más intensa que la del control (300 ppm).

Metales pesados <590>

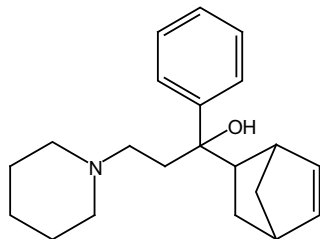
Método VI. Preparar la *Solución muestra* a partir de 2,0 g de Bezafibrato y la *Solución estándar* a partir de 2 ml de *Solución estándar de plomo* (10 ppm): no más de 0,001 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 300 mg de Bezafibrato, disolver en 50 ml de una mezcla de alcohol y agua (75:25) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), empleando 0,1 ml de fenolftaleína

(SR1) como indicador, hasta color rosa. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 36,18 mg de $C_{19}H_{20}ClNO_4$.

BIPERIDENO



$C_{21}H_{29}NO$

PM: 311,5

514-65-8

Definición - Biperideno es α -Biciclo[2.2.1]hept-5-en-2-il- α -fenil-1-piperidinopropanol. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{21}H_{29}NO$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco, prácticamente inodoro. Fácilmente soluble en cloroformo; moderadamente soluble en alcohol; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Biperideno SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Pesar exactamente alrededor de 180 mg de Biperideno y transferir a un matraz aforado de 200 ml. Agregar 1 ml de ácido láctico, completar a volumen con agua y mezclar. Las absorbancias, calculadas sobre la sustancia seca, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 257 nm, no deben diferir en más de 3,0 %.

C - Disolver 20 mg de Biperideno en 5 ml de ácido fosfórico: se debe desarrollar color verde.

D - Disolver 200 mg de Biperideno en 80 ml de agua con 0,5 ml de ácido clorhídrico 3 N, calentando, si fuera necesario para favorecer la disolución, y enfriar. A 5 ml de esta solución agregar 1 gota de ácido clorhídrico y varias gotas de cloruro mercuríco (SR): se debe formar un precipitado blanco. A una segunda porción de 5 ml de la solución original, agregar bromo (SR) gota a gota: se debe formar un precipitado amarillo que se debe disolver por agitación y luego de agregar más gotas de bromo (SR): se debe formar un precipitado permanente.

Determinación del punto de fusión <260>

Método I. Entre 112 y 116 °C.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Impurezas comunes <510>

Solución muestra y *Solución estándar*: emplear metanol como solvente.

Fase móvil: metanol e hidróxido de amonio (100:1,5).

Revelador: 17.

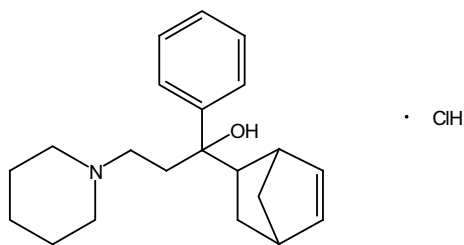
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Biperideno, disolver en 20 ml de benceno, agregar 2 gotas de cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) hasta punto final azul. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 31,15 mg de $C_{21}H_{29}NO$.

BIPERIDENO, CLORHIDRATO DE



$C_{21}H_{29}NO \cdot HCl$ PM: 347,9 1235-82-1

Definición - Clorhidrato de Biperideno es Clorhidrato de α -Biciclo[2.2.1] hept-5-en-2-il- α -fenil-1-piperidinopropanol. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{21}H_{29}NO \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguiente especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco, prácticamente inodoro. Funde aproximadamente a 275 °C, con descomposición. Ópticamente inactivo. Moderadamente soluble en metanol; poco soluble en agua, alcohol, cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Biperideno SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: metanol.

Concentración: 1 mg por ml.

Las absortividades a 257 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

C - Debe cumplir con el ensayo de *Identificación C* en *Biperideno*.

D - A 5 ml de una solución de Clorhidrato de Biperideno 1 en 500, agregar bromo (SR) gota a gota: se debe formar un precipitado amarillo que se disuelve por agitación. El agregado de una mayor cantidad de bromo (SR) debe producir un precipitado que no se disuelve por agitación.

E - Una porción de 5 ml de una solución de Clorhidrato de Biperideno 1 en 500 debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Impurezas comunes <510>

Proceder según se indica en *Impurezas comunes* en *Biperideno*.

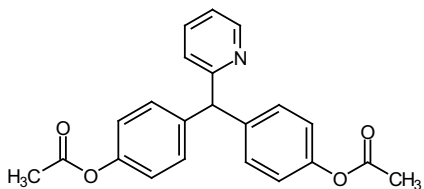
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Clorhidrato de Biperideno y disolver en 80 ml de ácido acético glacial, calentando ligeramente, si fuera necesario, para favorecer la disolución. Enfriar, agregar 1 gota de cristal violeta (SR), 10 ml de acetato mercúrico (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) hasta punto final azul. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 34,79 mg de $C_{21}H_{29}NO \cdot HCl$.

BISACODILO



$C_{22}H_{19}NO_4$

PM: 361,4

603-50-9

Definición - Bisacodilo es Diacetato de 4,4'-(2-piridilmetil)bisfenol. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{22}H_{19}NO_4$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Soluble en cloroformo; moderadamente soluble en alcohol y metanol; poco soluble en éter; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Bisacodilo SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

Precaución - Evitar la inhalación y el contacto con los ojos, la piel y las mucosas.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En solución.* En una celda de 1,0 mm, determinado sobre una solución de cloroformo, previamente secado, 1 en 200.

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: ácido clorhídrico 0,05 N.

Concentración: 20 μ g por ml.

Las absorvidades a 263 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 131 y 135 °C.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Xileno y metil etil cetona (50:50).

Solución muestra A - Disolver 20 mg de Bisacodilo en acetona y diluir hasta 10 ml con el mismo solvente.

Solución muestra B - Diluir 1 ml de *Solución muestra A* hasta 10 ml con acetona.

Solución estándar A - Disolver 20 mg de Bisacodilo SR-FA en acetona y diluir hasta 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Diluir 1 ml de *Solución muestra A* hasta 100 ml con acetona.

Solución estándar C - Diluir 5 ml de *Solución estándar B* hasta 10 ml con acetona.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de las *Soluciones muestra A* y *B* y 10 μ l de las *Soluciones estándar A, B* y *C*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente mitad de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente, dejar secar al aire, calentar entre 100 y 105 °C si fuera necesario. Examinar la placa bajo luz ultravioleta, a 254 nm: la mancha principal en el cromatograma obtenida a partir de la *Solución muestra A* no debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar B* (1,0 %) y solamente una de las manchas secundarias debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar C* (0,5 %).

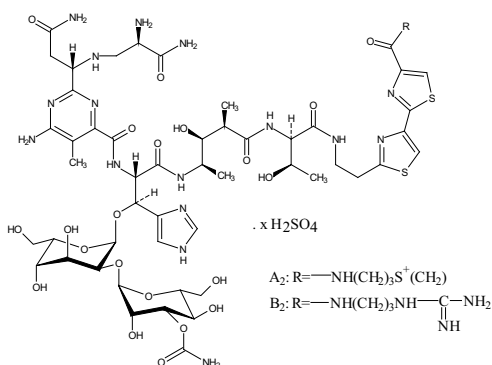
Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Bisacodilo, disolver en 70 ml de ácido acético glacial, agregar 3 gotas de *p*-naftolbenceína (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 36,14 mg de $C_{22}H_{19}NO_4$.

BLEOMICINA, SULFATO DE



9041-93-4

Definición - Sulfato de Bleomicina es el Sulfato de una mezcla de glicopéptidos citotóxicos básicos producidos mediante el crecimiento de *Streptomyces verticillus* o producidos por otros medios. Debe tener una potencia de no menos de 1,5 y no más de 2,0 Unidades de Bleomicina por mg y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo amorfo blanco o blanco amarillento. Muy higroscópico. Muy soluble en agua; poco soluble en etanol; prácticamente insoluble en acetona y éter.

Sustancia de referencia - Sulfato de Bleomicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

Envases de cierre perfecto. Si la sustancia es estéril, conservar entre 2 y 8 °C.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*.

B - Debe responder a los ensayos para Sulfato <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 6,0, determinado sobre una solución de aproximadamente 10 Unidades de Bleomicina por ml.

Contenido de cobre

Ácido nítrico diluido - Diluir 20 ml de ácido nítrico a 2 litros con agua.

Solución madre de cobre - Transferir 1,0 g de cobre a un matraz aforado de 1 litro, disolver en 20 ml de ácido nítrico, completar a volumen con *Ácido nítrico diluido* y mezclar. Conservar en un

recipiente de polietileno. Esta solución contiene 1,0 mg de cobre por ml.

Soluciones estándar - Transferir 5,0 ml de *Solución madre de cobre* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Ácido nítrico diluido* y mezclar. Transferir 3,0; 9,0 y 15,0 ml, respectivamente, de esta solución a tres matraces aforados de 100 ml, completar a volumen el contenido de cada matraz con *Ácido nítrico diluido* y mezclar. Estas *Soluciones estándar* contienen 1,5; 4,5 y 7,5 µg de cobre por ml, respectivamente.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 75 mg de Sulfato de Bleomicina y disolver en 10,0 ml de *Ácido nítrico diluido*.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de las *Soluciones estándar* y la *Solución muestra* en la línea de emisión del cobre a 324,8 nm, con un espectrofotómetro de absorción atómica (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*), equipado con una lámpara de cobre de cátodo hueco y una llama de aire-acetileno, empleando *Ácido nítrico diluido* como blanco. Graficar las absorbancias de las *Soluciones estándar* en función de la concentración en µg por ml de cobre y trazar la línea recta que mejor se ajuste a los puntos trazados. A partir del gráfico obtenido, determinar la concentración *C* en µg de cobre por ml en la *Solución muestra*. Calcular el porcentaje de cobre en la porción de Sulfato de Bleomicina en ensayo. No debe contener más de 0,1 %.

Contenido de bleomicinas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,2 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 960 mg de 1-pentanosulfonato de sodio en 1 litro de ácido acético 0,08 N desaireado, agregar 1,86 g de edetato disódico y ajustar a pH 4,3 con hidróxido de amonio. Filtrar y desgasificar. Emplear un gradiente lineal de 10 a 40 % de metanol mezclado con esta solución con un tiempo de mezclado de gradiente de 60 minutos y dejar que la cromatografía proceda con la mezcla final durante 20 minutos adicionales o hasta que eluya la desmetilbleomicina A₂.

Solución muestra - Disolver Sulfato de Bleomicina en agua desgasificada para obtener una solución de aproximadamente 2,5 Unidades de Bleomicina por ml. [NOTA: conservar esta solución en un refrigerador hasta el momento de su uso].

Aptitud del sistema (ver 100. Cromatografía) - Cromatografiar la *Solución muestra* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el orden de elución debe ser el siguiente, ácido bleomicínico, bleomicina A₂ (primer pico principal), bleomicina A₅, bleomicina B₂ (segundo pico principal), bleomicina B₄ y desmetilbleomicina A₂.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo 10 µl de la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas hasta que eluya el pico correspondiente a desmetilbleomicina A₂ y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el contenido porcentual de bleomicina A₂, bleomicina B₂ y bleomicina B₄ en la porción de Sulfato de Bleomicina en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$100r_b/r_t$$

en la cual r_b es la respuesta del pico correspondiente al componente de bleomicina considerado y r_t es la suma de las respuestas de todos los picos: debe contener entre 55 y 70 % de bleomicina A₂; entre 25 y 32 % de bleomicina B₂; y no debe contener más de 1 % de bleomicina B₄; la suma de los porcentajes de bleomicina A₂ y bleomicina B₂ no debe ser menor de 90 %.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a una presión no mayor de 5 mm Hg, a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 6,0 % de su peso.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que el Sulfato de Bleomicina es estéril, debe cumplir con los requisitos según se indica en *Método de filtración por membrana*.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que el Sulfato de Bleomicina es estéril, no debe contener más de 10,0 Unidades de Endotoxina por Unidad de Bleomicina.

VALORACIÓN

Preparación muestra - Pesar exactamente una porción de Sulfato de Bleomicina, disolver en *Solución reguladora N° 16* y diluir cuantitativamente con *Solución reguladora N° 16* para obtener una solución de concentración adecuada.

Procedimiento - Proceder según se indica en 770. *Valoración microbiológica de antibióticos*, empleando un volumen exactamente medido de la *Preparación muestra* diluida cuantitativamente y en etapas con *Solución reguladora N° 16* para obtener una *Dilución muestra* de una concentración considerada igual a la dosis media del estándar.

ROTULADO

Cuando Sulfato de Bleomicina esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas inyectables, indicar en el rótulo que es estéril.

BÓRICO, ÁCIDO

H₃BO₃ PM: 61,8 10043-35-3

Definición - Ácido Bórico debe contener no menos de 99,5 por ciento y no más de 100,5 por ciento de H₃BO₃, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco cristalino, escamas brillantes incoloras, untuosas al tacto o cristales blancos. Fácilmente soluble en agua en ebullición y glicerina; soluble en agua y alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe responder a los ensayos para *Borato* <410>.

B - Disolver 3,3 g de Ácido Bórico en 80 ml de agua a ebullición, enfriar y diluir a 100 ml con agua libre de dióxido de carbono. A 10 ml de la solución obtenida, agregar 0,1 ml de rojo de metilo (SR1): la solución debe ser ácida.

Sustancias insolubles

Disolver 1 g de Ácido Bórico en 30 ml de agua: la solución debe ser límpida.

Pérdida por secado <680>

Secar sobre gel de sílice durante 5 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Límite de metales pesados <590>

Método 1. Disolver 1 g de Ácido Bórico en 23 ml de agua y agregar 2 ml de ácido acético 1 N. El límite es 20 ppm.

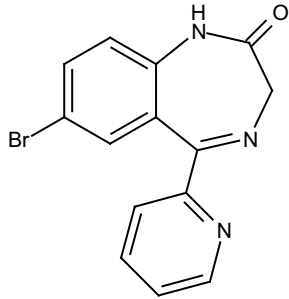
VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 2,0 g de Ácido Bórico, disolver en 100 ml de una mezcla de agua y glicerina (50:50), previamente neutralizada con fenoltaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 1 N hasta coloración rosada. Agregar 50 ml de glicerina, previamente neutralizada con fenoltaleína (SR) y continuar la titulación hasta coloración rosada. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 1 N equivale a 61,8 mg de H₃BO₃.

ROTULADO

Indicar en el rótulo “*Sólo para uso externo*”.

BROMAZEPAM



$C_{14}H_{10}BrN_3O$ PM: 316,2 1812-30-2

Definición - Bromazepam es 7-Bromo-1,3-dihidro-5-(2-piridinil)-1H-1,4-benzodiazepin-2-ona. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{14}H_{10}BrN_3O$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o amarillento. Moderadamente soluble en alcohol y cloruro de metileno; prácticamente insoluble en agua.

Sustancias de referencia - Bromazepam SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Pérdida por secado <680>

Secar a 80 °C a una presión no mayor de 20 mm Hg durante 4 horas: no debe perder más de 0,2 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Sustancias relacionadas

[NOTA: preparar las soluciones inmediatamente antes de su uso y realizar el ensayo evitando la luz directa.]

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Éter de petróleo, cloruro de metileno, alcohol y trietilamina (70:20:5:5).

Diluyente - Cloruro de metileno y metanol (9:1).

Solución muestra - Disolver 50 mg de Bromazepam en *Diluyente* y diluir a 5 ml con el mismo solvente.

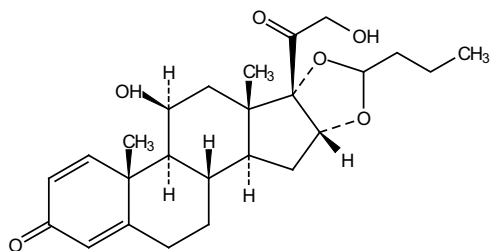
Solución muestra diluida - Diluir 1 ml de la *Solución muestra* a 20 ml con *Diluyente*. Transferir 2 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con *Diluyente*.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de *Solución muestra* y 5 µl de *Solución muestra diluida*. Desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Secar la placa en una corriente de aire durante 20 minutos y examinar bajo luz ultravioleta, a 254 nm. A excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, cualquier mancha no debe ser más intensa que la mancha obtenida con la *Solución muestra diluida* (0,2 %).

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Bromazepam, disolver en 20 ml de ácido acético glacial y agregar 50 ml de anhídrido acético. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*) Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 31,62 mg de $C_{14}H_{10}BrN_3O$.

BUDESONIDA



C₂₅H₃₄O₆

PM: 430,5

51333-22-3

Definición - Budesonida es (11 β ,16 α)-16,17-[Butilidienbis(oxi)]-11,21-dihidroxipregna-1,4-dieno-3,20-diona. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de una mezcla de los epímeros C22-S (epímero A) y C22-R (epímero B) de Budesonida (C₂₅H₃₄O₆), calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en cloruro de metileno; moderadamente soluble en alcohol; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Budesonida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Pureza cromatográfica

[NOTA: proteger las soluciones de la luz durante todo el ensayo].

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Proceder según se indica para *Preparación muestra* en *Valoración*.

Solución estándar A - Transferir 15,0 ml de la *Solución muestra* a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Fase móvil*. Transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Solución estándar B - Transferir 5,0 ml de la *Solución muestra* a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Fase móvil*. Transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución muestra* y las *Soluciones*

estándar A y B, registrar los cromatogramas durante 1,5 veces el tiempo de retención del pico de epímero B (el primero de los dos picos principales) y medir las respuestas de todos los picos. A excepción de los picos correspondientes a los epímeros A y B en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta de ningún pico debe ser mayor que la suma de las respuestas de los picos de los epímeros A y B en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar B* (0,5 %) y la suma de las respuestas de todos los picos secundarios no debe ser mayor que la suma de las respuestas de los picos de los epímeros A y B en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar A* (1,5 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor a 0,1 veces la suma de las respuestas de los picos de los epímeros A y B en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar B*.

Límite de epímero A

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar, Preparación muestra y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo 20 μ l de la *Preparación muestra* y proceder según se indica en *Valoración*. El contenido de epímero A (respuesta del segundo pico) debe estar comprendido entre 40 y 51 % la suma de las respuestas de los picos de los dos epímeros de Budesonida.

Contenido de metanol

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un inyector de espacio libre superior, un detector de ionización a la llama y una columna capilar de sílice fundida de 30 m \times 0,32 mm recubierta con fase estacionaria constituida por polietilenglicol 20.000 de 1 μ m de espesor. La temperatura de equilibrio debe ser 80 °C; el tiempo de equilibrio 30 minutos; la temperatura de la línea de transferencia 85 °C; el tiempo de presurización 10 segundos y el tiempo de inyección 10 segundos. Mantener el inyector y detector aproximadamente a 250 y 300 °C, respectivamente. Mantener la columna a 50 °C durante 5 minutos y programar un aumento a razón de 30 °C por minuto hasta 220 °C, manteniéndolo a esta temperatura durante 2 minutos. Emplear nitrógeno como gas transportador a una presión de 55 Kpa.

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 500 mg de metanol, transferir a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con dimetilacetamida y mezclar.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 2,0 g de Budesonida, disolver en dimetilacetamida, diluir a 20 ml con el mismo solvente y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el contenido de metanol presente en la porción de Budesonida en ensayo. No debe contener más de 0,1 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C hasta peso constante: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

[NOTA: proteger las soluciones de la luz durante todo el ensayo.]

Sistema Cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 240 nm y una columna de 12 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Solución reguladora de fosfato - A 900 ml de una solución de fosfato monobásico de potasio al 0,4 %, agregar 100 ml de una solución de ácido fosfórico al 0,25 %. Ajustar el pH, si fuera necesario, aproximadamente a $3,2 \pm 0,1$.

Fase móvil - *Solución reguladora de fosfato* y acetonitrilo (68:32). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 25,0 mg de Budesonida SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en 15 ml de acetonitrilo y completar a volumen con *Solución reguladora de fosfato*.

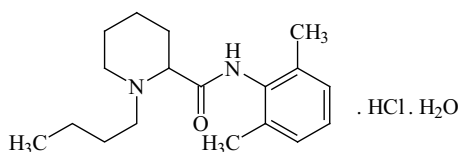
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 25,0 mg de Budesonida, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en 15 ml de acetonitrilo y completar a volumen con *Solución reguladora de fosfato*. Dejar reposar durante al menos 15 minutos antes de su uso.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos correspondientes al epímero A y al epímero B no debe ser menor de 1,5; el número de platos teóricos determinado a partir del pico del epímero B no debe ser menor de 4.000; el factor de asimetría para el pico del epímero B no debe ser mayor de 1,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas, de la suma de las respuestas de los picos de los dos epímeros, no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación*

muestra, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. El tiempo de retención del epímero B es aproximadamente 16 minutos. Calcular el porcentaje de C₂₅H₃₄O₆ en la porción de Budesonida en ensayo a partir de la suma de las respuestas de los picos de los dos epímeros.

BUPIVACAÍNA, CLORHIDRATO DE



C₁₈H₂₈N₂O · HCl · H₂O PM: 342,9 14252-80-3

Anhidro PM: 324,9 18010-40-7

Definición - Clorhidrato de Bupivacaína es Monoclorhidrato de (±)-1-butyl-2',6'-pípecoloxilidida monohidrato. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,5 por ciento de C₁₈H₂₈N₂O · HCl, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco, inodoro. Funde aproximadamente a 248 °C, con descomposición. Fácilmente soluble en agua y alcohol; poco soluble en acetona y cloroformo.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Bupivacaína SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En solución.* Transferir 230 mg de Clorhidrato de Bupivacaína a una ampolla de decantación, disolver con 15 ml de agua, agregar 1 ml de hidróxido de amonio 6 N y extraer con tres porciones de 30 ml de cloroformo. Evaporar el cloroformo a temperatura ambiente con una corriente de nitrógeno y secar el residuo al vacío. Agregar 2 ml de cloroformo al residuo y disolver: el espectro de absorción infrarroja de la solución obtenida debe presentar máximos sólo a las mismas longitudes de onda que el de una preparación similar de Clorhidrato de Bupivacaína SR-FA, tratada del mismo modo.

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: ácido clorhídrico 0,1 N.

Concentración: 500 µg por ml.

Las absortividades a 271 nm, calculadas sobre la sustancia anhidra, no debe diferir en más de 3,0 %.

C - Transferir 50 mg de Clorhidrato de Bupivacaína a una ampolla de decantación, disolver con 10 ml de agua, alcalinizar con hidróxido de amonio

6 N y extraer con 10 ml de éter: la fase acuosa debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 6,0, determinado sobre una solución 1 en 100.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 4,0 y 6,0 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Solventes residuales

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de 2 m × 6 mm con fase estacionaria constituida por copolímero de etilvinilbenceno y divinilbenceno con un área superficial nominal de 500 a 600 m² por g y un diámetro de poro promedio de 0,0075 µm. Mantener el inyector, la columna y el detector aproximadamente a 200, 175 y 280 °C, respectivamente. Se debe emplear nitrógeno como gas transportador con un caudal de aproximadamente 40 ml por minuto.

Solución estándar de alcohol - Transferir 2,0 ml de alcohol absoluto a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 2,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con agua y mezclar. La solución resultante contiene 0,08 % de alcohol.

Solución estándar de alcohol isopropílico - Transferir 2,0 ml de alcohol isopropílico a un matraz aforado de 1 litro, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 2,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar. La solución resultante contiene 0,004 % de alcohol isopropílico.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Clorhidrato de Bupivacaína, transferir a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 5 µl) de la *Preparación muestra*, la *Solución estándar de alcohol* y la *Solución estándar de alcohol isopropílico*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas del pico de alcohol y del pico de alcohol isopropílico en cada cromatograma. Determinar el porcentaje de alcohol por la fórmula siguiente:

$$2(r_M/r_E)$$

y determinar el porcentaje de alcohol isopropílico, por la fórmula siguiente:

$$0,1(r_M/r_E)$$

en las cuales r_M y r_E son las respuestas de los picos de las respectivas sustancias en la *Preparación muestra*, la *Solución estándar de alcohol* y en la *Solución estándar de alcohol isopropílico*, respectivamente. La suma del contenido de alcohol y de alcohol isopropílico no debe ser mayor de 2 %.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - *n*-hexano e isopropilamina (97:3).

Diluyente - Cloroformo e isopropilamina (99:1).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Bupivacaína SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 20,0 mg por ml.

Solución estándar diluida - Diluir una porción de *Solución estándar* cuantitativamente en *Diluyente* hasta obtener una *Solución estándar diluida* de aproximadamente 100 µg por ml.

Solución muestra - Disolver una cantidad apropiada de Clorhidrato de Bupivacaína en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 20,0 mg por ml.

Revelador - Ácido sulfúrico 7 N.

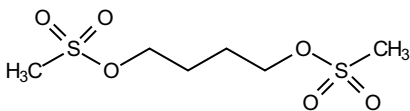
Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de la *Solución muestra*, 10 µl de la *Solución estándar* y 10 µl de la *Solución estándar diluida*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y secar con aire caliente. Colocar la placa en una cámara cerrada que contenga 1 g de yodo distribuido en una capa fina y dejar en reposo durante aproximadamente 5 minutos. Retirar la placa de la cámara y pulverizarla con *Revelador*. Examinar el cromatograma: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución estándar*. A excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ninguna mancha debe ser mayor en tamaño e intensidad a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar diluida* (0,5 %). La suma de todas las manchas obtenidas a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor a cuatro veces la inten-

sidad de la mancha principal obtenida a partir de la *Solución estándar diluida* (2,0 %).

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 600 mg de Clorhidrato de Bupivacaína, transferir a un erlenmeyer de 250 ml y disolver en 20 ml de ácido acético glacial. Agregar 10 ml de acetato mercúrico (SR), 3 gotas de cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) hasta punto final de color verde. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 32,49 mg de $C_{18}H_{28}N_2O \cdot HCl$.

BUSULFANO



$C_6H_{14}O_6S_2$

PM: 246,3

55-98-1

Definición - Busulfano es Dimetanosulfonato de 1,4-butanodiol. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_6H_{14}O_6S_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco. Moderadamente soluble en acetona; poco soluble en alcohol; muy poco soluble en agua.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

Precaución - Evitar la inhalación y el contacto con los ojos, la piel y las mucosas.

ENSAYOS

Identificación

A - Fundir aproximadamente 100 mg de Busulfano con 100 mg de nitrato de potasio y 250 mg de hidróxido de potasio. Enfriar, disolver el residuo en agua, acidificar con ácido clorhídrico 3 N y agregar unas gotas de cloruro de bario (SR): debe presentar un precipitado blanco.

B - A 100 mg de Busulfano agregar 10 ml de agua y 5 ml de hidróxido de sodio 1 N. Calentar hasta obtener una solución transparente: se debe percibir el olor característico de ácido metanosulfónico.

C - Enfriar la solución obtenida en el ensayo de *Identificación B* y separar en dos porciones iguales. A una porción agregar 1 gota de permanganato de potasio (SR): el color púrpura debe virar al violeta, luego al azul y finalmente al verde esmeralda. Acidificar la segunda porción de la solución con ácido sulfúrico 2 N y agregar 1 gota de permanganato de potasio (SR): no debe desaparecer el color del permanganato.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 115 y 118 °C.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 60 °C hasta peso constante: no debe perder más de 2,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

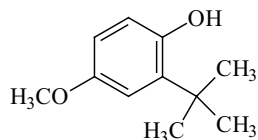
Método V.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 80 mg de Busulfano, transferir a un erlenmeyer de 250 ml, disolver en aproximadamente 30 ml de agua y agitar por rotación. Agregar fenoltaleína (SR) y neutralizar con hidróxido de sodio 0,05 N. Conectar el erlenmeyer a un refrigerante y calentar a ebullición suave durante no menos de 30 minutos, agregando agua ocasionalmente para mantener el volumen. Enfriar hasta temperatura ambiente, agregar fenoltaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,05 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 0,05 N equivale a 6,158 mg de $C_6H_{14}O_6S_2$.

BUTILHIDROXIANISOL



$C_{11}H_{16}O_2$ PM: 180,3 25013-16-5

Definición - Butilhidroxianisol es 2-(1,1-Dimetiletil)-4-metoxifenol. Debe contener no más de 10 por ciento de $C_{11}H_{16}O_2$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco, amarillento o ligeramente rosado. Se disuelve en soluciones diluidas de hidróxidos alcalinos. Muy soluble en cloruro de metileno; fácilmente soluble en alcohol y aceites vegetales; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Butilhidroxianisol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Sustancias relacionadas*. La mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra B* se debe corresponder en color, tamaño y valor de R_f a la obtenida con la *Solución estándar A*.

B - Disolver 2,5 g de Butilhidroxianisol en alcohol y diluir a 25 ml con el mismo solvente. A 0,5 ml de esta solución agregar 10 ml de una solución de 1 mg de aminopirazolona por ml de *Solución reguladora alcalina de borato pH 9,0* (ver *Soluciones reguladoras en Reactivos y Soluciones*). Agregar 1 ml de una solución de ferricianuro de potasio al 5 % y mezclar. Agregar 10 ml de cloruro de metileno, agitar vigorosamente y dejar separar las fases: la fase orgánica debe ser de color rojo.

C - Disolver 10 mg de Butilhidroxianisol en 2 ml de alcohol, agregar 1 ml de una solución de propionato de testosterona al 0,1 % en alcohol y 2 ml de hidróxido de sodio diluido. Calentar en un baño de agua a 80 °C durante 10 minutos y dejar enfriar: se debe desarrollar color rojo.

Límite de metales pesados <590>

Método VI. Preparar la *Solución estándar* empleando 1 ml de *Solución estándar de plomo* (10 ppm). El límite es 10 ppm.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloruro de metileno.

Solución estándar A - Disolver 25 mg de Butilhidroxianisol SR-FA en cloruro de metileno y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Diluir 1 ml de *Solución estándar A* a 20 ml con cloruro de metileno.

Solución estándar C - Transferir 50 mg de hidroquinona a un matraz aforado de 100 ml, disolver en 5 ml de alcohol y completar a volumen con cloruro de metileno. Diluir 1 ml de esta solución a 10 ml con cloruro de metileno.

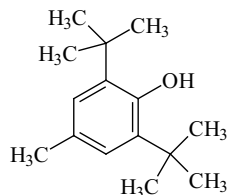
Solución muestra A - Disolver 250 mg de Butilhidroxianisol en cloruro de metileno y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución muestra B - Diluir 1 ml de *Solución muestra A* a 10 ml con cloruro de metileno.

Revelador - Agua, cloruro férrico al 10,5 % y ferricianuro de potasio al 5% (70:20:10).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 μ l de las *Soluciones estándar A, B y C*, y 5 μ l de las *Soluciones muestra A y B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm de la longitud de la placa. Secar la placa bajo una corriente de aire y pulverizar sobre la placa con *Revelador*: cualquier mancha azul violeta con un valor de R_f de aproximadamente 0,35 (correspondiente a 3-(1,1-dimetiletil)-4-metoxi-fenol) en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra A*, no debe ser más intensa que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A* (10 %); cualquier mancha correspondiente a hidroquinona no debe ser más intensa que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar C* (0,2 %); y cualquier mancha, excepto la mancha principal y las correspondientes a 3-(1,1-dimetiletil)-4-metoxifenol e hidroquinona, no debe ser más intensa que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar B* (0,5 %).

BUTILHIDROXITOLUENO



$C_{15}H_{24}O$ PM: 220,4 128-37-0

Definición - Butilhidroxitolueno es 2,6-bis(1,1-Dimetiletil)-4-metoxifenol y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco, o blanco amarillento. Muy soluble en acetona; fácilmente soluble en alcohol y aceites vegetales; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Butilhidroxitolueno SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Disolver 500 mg de Butilhidroxitolueno en alcohol absoluto y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Diluir 1 ml de esta solución a 100 ml con alcohol absoluto y examinar entre 230 y 300 nm (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*): esta solución debe presentar un máximo de absorción a 278 nm y el coeficiente de extinción específico debe estar comprendido entre 80 y 90 en el máximo de absorción.

C - Disolver 10 mg de Butilhidroxitolueno en 2 ml de alcohol, agregar 1 ml de una solución de propionato de testosterona al 0,1 % en alcohol y 2 ml de hidróxido de sodio diluido. Calentar en un baño de agua a 80 °C durante 10 minutos y dejar enfriar: se debe desarrollar color azul.

Determinación de la temperatura de solidificación <180>

Debe estar comprendida entre 69 y 70 °C.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloruro de metileno.

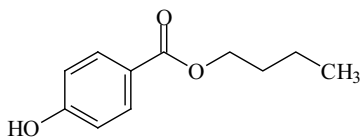
Solución muestra - Disolver 200 mg de Butilhidroxitolueno en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar - Diluir 1 ml de la *Solución muestra* a 200 ml con metanol.

Revelador - Agua, cloruro férrico al 10,5 % y ferricianuro de potasio al 5% (70:20:10).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de la *Solución estándar* y 10 µl de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm de la longitud de la placa. Secar la placa bajo una corriente de aire y pulverizar sobre la placa con *Revelador*: cualquier mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, a excepción de la mancha principal, no debe ser más intensa que la mancha obtenida con la *Solución estándar* (0,5 %).

BUTILPARABENO



$C_{11}H_{14}O_3$

PM: 194,2

94-26-8

Definición - Butilparabeno es el Éster butílico del ácido 4-hidroxibenzoico. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{11}H_{14}O_3$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o cristales incoloros, pequeños. Fácilmente soluble en acetona, alcohol, éter y propilenglicol; muy poco soluble en agua y glicerina.

Sustancia de referencia - Butilparabeno SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Pureza Cromatográfica*. La mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra B* debe ser similar en tamaño y valor de R_f a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar B*.

Color de la solución

Proceder según se indica en *Color de la solución en Metilparabeno*.

Acidez

Proceder según se indica en *Acidez en Metilparabeno*.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 68 y 71 °C.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía, con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Metanol, agua y ácido acético glacial (70:30:1).

Solución muestra A - Preparar una solución de Butilparabeno en acetona que contenga 10 mg por ml.

Solución muestra B - Transferir 1 ml de *Solución muestra A* a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con acetona y mezclar.

Solución estándar A - Transferir 0,5 ml de *Solución muestra A* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con acetona y mezclar.

Solución estándar B - Pesarse exactamente alrededor de 10 mg de Butilparabeno SR-FA, transferir a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con acetona y mezclar.

Solución estándar C - Pesarse exactamente alrededor de 10 mg de *Propilparabeno*, transferir a un matraz aforado de 10 ml, agregar 1 ml de *Solución muestra A*, completar a volumen con acetona y mezclar.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 2 μ l de las *Soluciones muestra A* y *B*, y 2 μ l de las *Soluciones estándar A*, *B* y *C*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm. En el cromatograma obtenido con la *Solución muestra A*, cualquier mancha secundaria no debe ser mayor en tamaño e intensidad a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A* (0,5 %). El ensayo solo es válido si el cromatograma obtenido con la *Solución estándar C* presenta dos manchas claramente separadas.

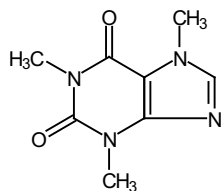
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Pesarse exactamente alrededor de 1 g de Butilparabeno, transferir a un recipiente adecuado, agregar 20,0 ml de hidróxido de sodio 1 N (SV) y calentar a 70 °C durante 1 hora. Enfriar rápidamente en un baño de hielo. Titular a temperatura ambiente el exceso de hidróxido de sodio con ácido sulfúrico 1 N (SV), continuando la titulación hasta el segundo punto de inflexión y determinar el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver *Titulación residual en 780. Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 1 N equivale a 194,2 mg de $C_{11}H_{14}O_3$.

CAFEÍNA



$C_8H_{10}N_4O_2$ PM: 194,2 58-08-2

Monohidrato PM: 212,2 5743-12-4

Definición - Cafeína es 3,7-Dihidro-1,3,7-trimetil-1*H*-purina-2,6-diona. Es anhidra o contiene una molécula de agua de hidratación. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,5 por ciento de $C_8H_{10}N_4O_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o agujas brillantes blancas. Inodoro. Sus soluciones son neutras al tornasol. El hidrato es eflorescente al aire. Fácilmente soluble en cloroformo; moderadamente soluble en agua y alcohol; poco soluble en éter.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Cafeína SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*.

B - Disolver aproximadamente 5 mg de Cafeína en 1 ml de ácido clorhídrico en una cápsula de porcelana, agregar 50 mg de clorato de potasio y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Invertir la cápsula sobre un recipiente que contenga unas gotas de hidróxido de amonio 6 N: el residuo debe desarrollar un color púrpura que desaparece con el agregado de una solución de un álcali fijo.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 235 y 239 °C, luego de secar la muestra a 80 °C durante 4 horas.

Otros alcaloides

A 5 ml de una solución de Cafeína 1 en 50, agregar iodomercuriato de potasio (SR): no se debe formar precipitado.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromato-

grafía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, acetona y amoníaco concentrado (40:30:30).

Diluyente - Cloroformo y metanol (6:4).

Solución muestra - Disolver 200 mg de Cafeína en *Diluyente* y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar - Diluir 0,5 ml de la *Solución muestra* a 100 ml con *Diluyente*.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: a excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ninguna mancha debe ser más intensa que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar* (0,5 %).

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Ensayo de sustancias fácilmente carbonizables <350>

Disolver 0,5 g de Cafeína en 5 ml de ácido sulfúrico (SR): la solución no debe desarrollar más color que la *Solución de comparación D*.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 80 °C durante 4 horas: la forma anhidra no debe perder más de 0,5 % y la forma hidratada no más de 8,5 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 170 mg de Cafeína y disolver en 5 ml de ácido acético glacial, calentando suavemente si fuera necesario. Dejar enfriar, agregar 10 ml de anhídrido acético y 20 ml de tolueno y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 19,42 mg de $C_8H_{10}N_4O_2$.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si es anhidra o monohidrato.

CALAMINA

Definición - Calamina es óxido de cinc con una pequeña proporción de óxido férrico. Debe contener una vez sometida a ignición, no menos de 98,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de óxido de cinc (ZnO).

Caracteres generales - Polvo rosado. Inodoro. Soluble casi completamente en ácidos minerales; insoluble en agua.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Tratar 1,0 g de Calamina con 10 ml de ácido clorhídrico 3 N y filtrar: el filtrado debe responder a los ensayos para *Cinc* <410>.

B - Tratar 1,0 g de Calamina con 10 ml de ácido clorhídrico 3 N, calentar a ebullición y filtrar: el filtrado debe adquirir una coloración rojiza al agregar tiocianato de amonio (SR).

Sustancias insolubles en ácido

Disolver 2,0 g de Calamina en 50 ml de ácido clorhídrico 3 N. Si se obtiene un residuo insoluble, recolectarlo en un filtro previamente pesado, lavar con agua, secar a 105 °C durante 1 hora, enfriar y pesar: el peso del residuo no debe ser mayor de 40 mg (2,0 %).

Sustancias alcalinas

Digerir 1,0 g de Calamina con 20 ml de agua en un baño de vapor durante 15 minutos, filtrar y agregar 2 gotas de fenoltaleína (SR): si se produce un color rojizo, no se deben requerir más de 0,20 ml de ácido sulfúrico 0,10 N para decolorarlo.

Calcio

Digerir 1,0 g de Calamina con 25 ml de ácido clorhídrico 3 N durante 30 minutos, filtrar para extraer el óxido férrico insoluble y agregar al filtrado hidróxido de amonio 6 N hasta redissolver el precipitado y luego agregar 5 ml más de hidróxido de amonio 6 N. [NOTA: guardar una parte de esta solución para el ensayo de *Calcio o magnesio*]. A 10 ml de esta solución agregar 2 ml de oxalato de amonio (SR): no se debe producir más que una ligera turbidez.

Calcio o magnesio

Agregar 2 ml de fosfato dibásico de sodio (SR) a una porción de 10 ml de la solución preparada en *Calcio*: no se debe producir más que una ligera turbidez.

Plomo

A 1,0 g de Calamina agregar 15 ml de agua, agitar, agregar 3 ml de ácido acético glacial y calentar en un baño de vapor hasta disolución. Filtrar y agregar 5 gotas de cromato de potasio (SR): no se debe producir turbidez.

Límite de arsénico <540>

Método I. No más de 8 ppm.

Pérdida por calcinación <670>

Pesar exactamente alrededor de 2,0 g de Calamina, calcinar a 500 °C hasta peso constante: no debe perder más de 2,0 % de su peso.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos del ensayo para ausencia de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 1,5 g de Calamina recientemente sometida a ignición, digerir con 50,0 ml de ácido sulfúrico 1 N (SV), calentando suavemente hasta que no se disuelva más. Filtrar la mezcla y lavar el residuo en el filtro con agua caliente hasta que el último lavado sea neutro al papel de tornasol. Combinar los lavados con el filtrado y agregar 2,5 g de cloruro de amonio, enfriar, agregar naranja de metilo (SR) y titular con hidróxido de sodio 1 N (SV). Cada ml de ácido sulfúrico 1 N equivale a 40,69 mg de ZnO.

CALCIO, FOSFATO DIBÁSICO DE

CaHPO ₄	PM: 136,1	7757-93-9
Dihidrato	PM: 172,1	7789-77-7

Definición - Fosfato Dibásico de Calcio es anhidro o contiene dos moléculas de agua de hidratación. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de fosfato dibásico de calcio anhidro (CaHPO₄) o de fosfato dibásico de calcio dihidrato (CaHPO₄ · 2H₂O) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco. Estable al aire. Soluble en ácido clorhídrico 3 N y en ácido nítrico 2 N; prácticamente insoluble en agua; insoluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Disolver con calentamiento aproximadamente 100 mg de Fosfato Dibásico de Calcio en una mezcla de 5 ml de ácido clorhídrico 3 N y 5 ml de agua, agregar 2,5 ml de hidróxido de amonio 6 N, gota a gota, con agitación y luego agregar 5 ml de oxalato de amonio (SR): se debe formar un precipitado blanco.

B - A 10 ml de una solución de Fosfato Dibásico de Calcio al 1 %, agregar unas gotas de ácido nítrico. Entibiar y agregar 10 ml de molibdato de amonio (SR): se debe formar un precipitado amarillo de fosfomolibdato de amonio.

Sustancias insolubles en ácido

Colocar 5,0 g de Fosfato Dibásico de Calcio en una mezcla de 40 ml de agua y 10 ml de ácido clorhídrico, calentar hasta disolución completa y diluir con agua a 100 ml. Si queda un residuo insoluble, filtrar, lavar con agua caliente hasta que el último lavado no presente más cloruro y secar el residuo a 105 °C durante 1 hora: el peso del residuo no debe ser mayor de 10 mg (0,2 %).

Bario

Calentar 500 mg de Fosfato Dibásico de Calcio con 10 ml de agua y, gota a gota, agregar ácido clorhídrico, agitando después de cada agregado, hasta disolución completa. Filtrar y agregar 2 ml de sulfato de potasio (SR) al filtrado: no se debe producir turbidez dentro de los 10 minutos.

Carbonato

Mezclar 1,0 g de Fosfato Dibásico de Calcio con 5 ml de agua y agregar 2 ml de ácido clorhídrico: no se debe producir efervescencia.

Límite de fluoruro

[NOTA: preparar y almacenar todas las soluciones en envases plásticos.]

Solución reguladora de citrato - Disolver 73,5 g de citrato de sodio en agua para obtener 250 ml.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de fluoruro de sodio en agua para obtener una solución de aproximadamente 1,1052 mg por ml. Transferir 20,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml que contenga 50 ml de *Solución reguladora de citrato*, completar a volumen con agua y mezclar. Cada ml de esta solución contiene 100 µg de ion fluoruro.

Sistema de electrodos - Emplear un electrodo específico para fluoruro y un electrodo de referencia de plata-cloruro de plata conectado a un potenciómetro capaz de medir potenciales con una sensibilidad mínima de ± 0,2 mV (ver 250. *Determinación del pH*).

Curva de calibración - Transferir 50,0 ml de *Solución reguladora de citrato* y 2,0 ml de ácido clorhídrico a un vaso de precipitados y agregar agua hasta completar 100 ml. Agregar una barra de agitación magnética con cubierta de plástico, sumergir los electrodos en la solución, agitar durante 15 minutos y leer el potencial, en mV. Continuar agitando y, a intervalos de 5 minutos, agregar 100, 100, 300 y 500 µl de *Solución estándar*, leyendo el potencial 5 minutos después de cada agregado. Graficar el logaritmo de la concentración acumulada de ion fluoruro (0,1, 0,2, 0,5 y 1,0 µg por ml) en función del potencial, en mV.

Solución muestra - Transferir 2,0 g de Fosfato Dibásico de Calcio a un vaso de precipitados que contiene una barra de agitación con cubierta plástica, agregar 20 ml de agua, 2,0 ml de ácido clorhídrico y agitar hasta disolver. Agregar 50,0 ml de *Solución reguladora de citrato* y agua suficiente para obtener 100 ml.

Procedimiento - Enjuagar y secar los electrodos, sumergirlos en la *Solución muestra*, agitar durante 5 minutos y leer el potencial, en mV. A partir del potencial medido y de la *Curva de calibración* determinar la concentración *C* en µg por ml de ion fluoruro en la *Solución muestra*. Calcular el porcentaje de fluoruro en la porción de Fosfato Dibásico de Calcio en ensayo, multiplicando *C* por 0,005: no debe contener más de 0,005 %.

Límite de arsénico <540>

Método I. Preparar la *Solución muestra* disolviendo 1,0 g de Fosfato Dibásico de Calcio en 25 ml de ácido clorhídrico 3 N y diluir con agua a 55 ml: la solución resultante debe cumplir con los requisitos del ensayo, omitiendo el agregado de 20 ml de ácido sulfúrico 7 N especificado en *Procedimiento*: no más de 3 ppm.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - A 300 mg de Fosfato Dibásico de Calcio agregar 10 ml de agua y 2 ml de ácido nítrico. Calentar suavemente, si fuera necesario, para disolver. Diluir a 25 ml, filtrar si fuera necesario, y agregar 1 ml de nitrato de plata (SR): la turbidez no debe ser mayor a la producida por 1,0 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,25 %).

Sulfato - Disolver 1,0 g de Fosfato Dibásico de Calcio en la menor cantidad posible de ácido clorhídrico 3 N, diluir con agua a 100 ml y filtrar, si fuera necesario. A 20 ml del filtrado, agregar 1 ml de cloruro de bario (SR): la turbidez no debe ser mayor a la producida por 1,0 ml de ácido sulfúrico 0,020 N (0,5 %).

Límite de hierro <580>

Solución muestra - Disolver 2,5 g de Fosfato Dibásico de Calcio en 20 ml de ácido clorhídrico diluido. Filtrar si fuera necesario. Agregar amoníaco (SR) hasta que se forme un precipitado. Disolver agregando una mínima cantidad de ácido clorhídrico diluido y diluir a 50 ml con agua. Diluir 0,5 ml de esta solución a 10 ml con agua.

Solución estándar - Diluir 1 en 10 la *Solución estándar de hierro* preparada según se indica en 580. *Límite de hierro*.

Procedimiento - Transferir a sendos tubos de Nessler 10 ml de la *Solución muestra* y 10 ml de la *Solución estándar*. Agregar a cada tubo 2 ml de una solución de ácido cítrico al 20 % y 0,1 ml de ácido tioglicólico. Mezclar, alcalinizar con amoníaco y diluir a 20 ml con agua. Después de 5 minutos, el color rosa de la *Solución muestra* no debe ser más intenso que el de la *Solución estándar*. (400 ppm).

Límite de metales pesados <590>

Método I. Calentar 1,3 g de Fosfato Dibásico de Calcio con 3 ml de ácido clorhídrico 3 N hasta disolución completa, diluir con agua a 50 ml y filtrar. El límite es 0,003 %.

Pérdida por calcinación <670>

Someter a ignición entre 800 y 825 °C hasta peso constante: el Fosfato Dibásico de Calcio anhidro debe perder entre 6,6 y 8,5 % de su peso y la forma dihidratada debe perder entre 24,5 y 26,5 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Fosfato Dibásico de Calcio, transferir a un vaso de precipitados de 250 ml y disolver en una mezcla de 5 ml de ácido clorhídrico y 3 ml de agua, con la ayuda de un agitador magnético, calentando suavemente si fuera necesario. Agregar cuidadosamente 125 ml de agua y, con agitación constante y en el siguiente orden agregar: 0,5 ml de trietanolamina, 300 mg de azul de hidroxinaftol y desde una bureta de 50 ml, aproximadamente 23 ml de edetato disódico 0,05 M (SV). Agregar una solución de hidróxido de sodio 45 en 100 hasta que el color rojo inicial cambie a un color azul claro y continuar agregando gota a gota hasta que el color cambie a violeta. Luego agregar 0,5 ml adicionales. El pH de ésta solución debe estar comprendido entre 12,3 y 12,5. Continuar la titulación gota a gota con edetato disódico 0,05 M (SV) hasta punto final color azul claro que persista durante no menos de 1 minuto. Cada ml de edetato disódico 0,05 M equivale a 6,803 mg de CaHPO_4 o a 8,604 mg de $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si Fosfato Dibásico de Calcio es anhidro o dihidrato.

CALCIO, FOSFATO TRIBÁSICO DE

$\text{Ca}_5(\text{OH})(\text{PO}_4)_3$ PM: 502,3 12167-74-7

Definición - Fosfato Tribásico de Calcio consiste en una mezcla variable de fosfatos de calcio con una composición aproximada de $10\text{CaO} \cdot 3\text{P}_2\text{O}_5 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Debe contener no menos de 34,0 por ciento y no más de 40,0 por ciento de calcio (Ca) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco. Estable al aire. Fácilmente soluble en ácido clorhídrico 3 N y ácido nítrico 2 N; prácticamente insoluble en agua; insoluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - A una solución de Fosfato Tribásico de Calcio caliente con un ligero exceso de ácido nítrico, agregar molibdato de amonio (SR): se debe formar un precipitado color amarillo.

B - Debe responder al ensayo a la llama para *Calcio* <410>.

Carbonato

Proceder según se indica en *Carbonato* en *Fosfato Dibásico de Calcio*.

Sustancias solubles en agua

Digerir 2,0 g de Fosfato Tribásico de Calcio con 100 ml de agua en un baño de vapor durante 30 minutos, enfriar, agregar agua suficiente para restaurar el volumen original, agitar y filtrar. Evaporar 50 ml del filtrado en una cápsula de porcelana previamente pesada, en un baño de vapor hasta sequedad y secar el residuo a 120 °C hasta peso constante: el peso del residuo no debe ser mayor de 5 mg (0,5 %).

Sustancias insolubles en ácidos

Si queda un residuo insoluble en el ensayo para *Carbonato*, calentar a ebullición la solución, filtrar, lavar el residuo con agua caliente hasta que el último lavado no contenga cloruro y someter a ignición el residuo hasta peso constante: el peso del residuo no debe ser mayor de 4 mg (0,2 %).

Bario

Mezclar 500 mg de Fosfato Tribásico de Calcio con 10 ml de agua, calentar, agregar ácido clorhídrico, gota a gota, hasta disolución y luego agregar

2 gotas de ácido en exceso. Filtrar y agregar al filtrado 1 ml de sulfato de potasio (SR): no se debe producir turbidez durante los 15 minutos siguientes.

Sal dibásica y óxido de calcio

Pesar exactamente alrededor de 1,5 g de Fosfato Tribásico de Calcio y disolver en 25,0 ml de ácido clorhídrico 1 N (SV). Calentar si fuera necesario. Enfriar y titular lentamente el exceso de ácido clorhídrico 1 N, agitando constantemente, con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) hasta alcanzar un pH de 4,0, determinado potenciométricamente. No deben consumirse menos de 13,0 ml ni más de 14,3 ml de ácido clorhídrico 1 N por cada gramo de sal, calculado sobre la sustancia calcinada.

Límite de fluoruro

[NOTA: preparar y almacenar todas las soluciones en envases plásticos.]

Solución reguladora de citrato, Solución estándar y Sistema de electrodos - Proceder según se indica en *Límite de fluoruro* en *Fosfato Dibásico de Calcio*.

Curva de calibración - Transferir 50,0 ml de *Solución reguladora de citrato* y 3,0 ml de ácido clorhídrico a un vaso de precipitados y agregar agua hasta completar 100 ml. Agregar una barra de agitación con cubierta de plástico, sumergir los electrodos en la solución, agitar durante 15 minutos y leer el potencial, en mV. Continuar agitando y, a intervalos de 5 minutos, agregar 100; 100; 300; 500 y 500 de *Solución estándar*, leyendo el potencial 5 minutos después de cada agregado. Graficar el logaritmo de la concentración acumulada de ion fluoruro (0,1; 0,2; 0,5; 1,0 y 1,5 µg por ml) en función del potencial, en mV.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Límite de fluoruro* en *Fosfato Dibásico de Calcio*, pero emplear 3,0 ml de ácido clorhídrico, en lugar de 2,0 ml. No más de 0,0075 %.

Límite de nitrato

Mezclar 200 mg de Fosfato Tribásico de Calcio con 5 ml de agua y agregar ácido clorhídrico suficiente para disolver. Diluir con agua a 10 ml, agregar 0,20 ml de índigo carmín (SR), luego agregar, agitando, 10 ml de ácido sulfúrico: el color azul debe persistir durante al menos 5 minutos.

Límite de arsénico <540>

Método I. Preparar la *Solución muestra*, disolviendo 1,0 g de Fosfato Tribásico de Calcio en la cantidad necesaria de ácido clorhídrico 3 N. No más de 3 ppm.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Disolver 500 mg de Fosfato Tribásico de Calcio en 25 ml de ácido nítrico 2 N y agregar

1 ml de nitrato de plata (SR): la turbidez no debe ser mayor a la producida por 1,0 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,14 %).

Sulfato - Disolver 500 mg de Fosfato Tribásico de Calcio en la menor cantidad posible de ácido clorhídrico 3 N, diluir con agua a 100 ml, filtrar, si fuera necesario y, a 25 ml del filtrado, agregar 1 ml de cloruro de bario (SR): la turbidez no debe ser mayor a la producida por 1,0 ml de ácido sulfúrico 0,020 N (0,8 %).

Límite de hierro <580>

Solución muestra, Solución estándar y Procedimiento - Proceder según se indica en *Límite de hierro* en *Fosfato Dibásico de Calcio*.

Límite de metales pesados <590>

Método I. Mezclar 1,3 g de Fosfato Tribásico de Calcio con 9 ml de ácido clorhídrico 3 N, diluir con agua a 50 ml y calentar a ebullición. Enfriar a temperatura ambiente y filtrar [NOTA: filtrar la mezcla después de ajustar el pH]. No más de 0,003 %.

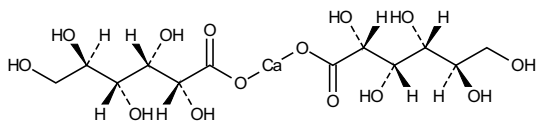
Pérdida por calcinación <670>

Someter a ignición a 800 °C durante 30 minutos: no debe perder más de 8,0 % de su peso.

VALORACIÓN

Proceder según se indica para *Valoración* en *Fosfato Dibásico de Calcio*, empleando aproximadamente 150 mg de Fosfato Tribásico de Calcio exactamente pesados, en lugar de Fosfato Dibásico de Calcio. Cada ml de edetato disódico 0,05 M equivale a 2,004 mg de Ca.

CALCIO, GLUCONATO DE



$C_{12}H_{22}CaO_{14}$ PM: 430,4 299-28-5

Monohidrato PM: 448,4

Definición - Gluconato de Calcio es la Sal cálcica del ácido *D*-glucónico (2:1). Es anhidro o contiene una molécula de agua de hidratación. La forma anhidra debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{12}H_{22}CaO_{14}$, calculado sobre la sustancia seca. La forma monohidrato debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{12}H_{22}CaO_{14} \cdot H_2O$. Gluconato de Calcio debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino o gránulos blancos. Inodoro. Estable al aire. Sus soluciones son neutras al tornasol. Fácilmente soluble en agua a ebullición; moderada y lentamente soluble en agua; insoluble en alcohol.

Sustancia de referencia - Gluconato de Potasio SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Una solución de Gluconato de Calcio 1 en 50 debe responder a los ensayos para *Calcio* <410>.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía.

Fase móvil - Alcohol, agua, hidróxido de amonio y acetato de etilo (50:30:10:10).

Solución muestra - Disolver una porción de Gluconato de Calcio en agua para obtener una solución de aproximadamente 10 mg por ml, calentar en un baño de agua a 60 °C si fuera necesario.

Solución estándar - Disolver una cantidad de Gluconato de Potasio SR-FA en agua para obtener una solución de aproximadamente 10 mg por ml, calentar en un baño de agua a 60 °C si fuera necesario.

Revelador - Transferir 2,5 g de molibdato de amonio a un matraz aforado de 100 ml, disolver en

aproximadamente 50 ml de ácido sulfúrico 2 N, agregar 1,0 g de sulfato cérico, agitar por rotación hasta disolver, completar a volumen con ácido sulfúrico 2 N y mezclar.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 μ l de la *Solución muestra* y 5 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara y secar a 110 °C durante 20 minutos. Dejar enfriar, pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar la placa a 110 °C durante 10 minutos: la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder en color, tamaño y valor de R_f a la obtenida con la *Solución estándar*.

Sustancias reductoras

Transferir 1,0 g de Gluconato de Calcio a un erlenmeyer de 250 ml, disolver en 20 ml de agua caliente, enfriar y agregar 25 ml de citrato cúprico alcalino (SR). Cubrir la boca del erlenmeyer, calentar a ebullición suavemente durante 5 minutos, exactamente medidos, y enfriar rápidamente a temperatura ambiente. Agregar 25 ml de ácido acético 0,6 N, 10,0 ml de iodo 0,1 N (SV) y 10 ml de ácido clorhídrico 3 N. Titular con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 2,7 mg de sustancias reductoras (1,0 % como glucosa).

Límite de arsénico <540>

Método I. Disolver 1,0 g de Gluconato de Calcio en una mezcla de 10 ml de ácido clorhídrico y 20 ml de agua y diluir con agua a 55 ml: debe cumplir con los requisitos del ensayo, excepto que debe omitirse el agregado de 20 ml de ácido sulfúrico 7 N indicado en *Procedimiento*. El límite es 3 ppm.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Una porción de 1,0 g de Gluconato de Calcio no debe presentar más cloruro que el que corresponde a 1 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,07 %).

Sulfato - Una porción de 2,0 g de Gluconato de Calcio disuelta en agua a ebullición no debe presentar más sulfato que el que corresponde a 1 ml de ácido sulfúrico 0,020 N (0,05 %).

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 16 horas: la forma anhidra no debe perder más de 3,0 % de su peso; la forma monohidrato no debe perder más de 2,0 % de su peso.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

No debe contener más de 10^3 microorganismos aerobios viables, determinados por recuento en placa.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

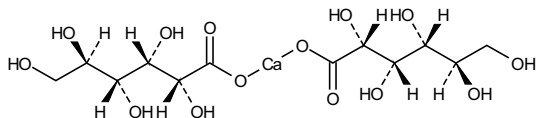
VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 800 mg de Gluconato de Calcio y disolver en 150 ml de agua que contenga 2 ml de ácido clorhídrico 3 N. Mientras se agita, preferentemente con un agitador magnético, agregar aproximadamente 30 ml de edetato disódico 0,05 M (SV) desde una bureta de 50 ml. Agregar 15 ml de hidróxido de sodio 1 N y 300 mg de azul de hidroxinaftol y continuar la titulación hasta punto final color azul. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de edetato disódico 0,05 M equivale a 21,52 mg de $C_{12}H_{22}CaO_{14}$.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si Gluconato de Calcio es anhidro o monohidrato. La cantidad de Gluconato de Calcio indicada en el rótulo de cualquier preparación que la contenga se debe expresar como Gluconato de Calcio anhidro. Indicar en el rótulo que Gluconato de Calcio está destinado a la preparación de formas farmacéuticas orales.

CALCIO, GLUCONATO DE CALIDAD INYECTABLE



$C_{12}H_{22}CaO_{14}$ PM: 430,4 299-28-5

Monohidrato PM: 448,4

Definición - Gluconato de Calcio Calidad Inyectable es la Sal cálcica del ácido *D*-glucónico (2:1). Es anhidro o contiene una molécula de agua de hidratación. La forma anhidra debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{12}H_{22}CaO_{14}$, calculado sobre la sustancia seca. La forma monohidrato debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{12}H_{22}CaO_{14} \cdot H_2O$. Gluconato de Calcio Calidad Inyectable debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino o gránulos blancos. Inodoro. Estable al aire. Sus soluciones son neutras al tornasol. Fácilmente soluble en agua a ebullición; moderada y lentamente soluble en agua; insoluble en alcohol.

Sustancia de referencia - Gluconato de Potasio SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Proceder según se indica en *Identificación A* para *Gluconato de Calcio*.

B - Proceder según se indica en *Identificación B* para *Gluconato de Calcio*.

Límite de magnesio y metales alcalinos

Disolver 1,0 g de Gluconato de Calcio Calidad Inyectable en 100 ml de agua hirviendo, agregar 10 ml de cloruro de amonio (SR), 1 ml de hidróxido de amonio y 50 ml de oxalato de amonio (SR) calentado entre 70 y 80 °C. Dejar reposar durante 4 horas, diluir con agua a 200 ml y filtrar. Evaporar hasta sequedad 100 ml del filtrado y someter a ignición hasta peso constante. El peso del residuo no debe ser mayor de 2 mg (0,4 %).

Sustancias reductoras

Proceder según se indica en *Sustancias reductoras* para *Gluconato de Calcio*.

Límite de fosfato

Solución muestra - A 10,0 g de Gluconato de Calcio Calidad Inyectable agregar 90 ml de agua caliente (entre 70 y 80 °C) y llevar a ebullición, agitando por rotación, durante 10 segundos para obtener una solución transparente. Diluir 1 ml de esta solución con agua para obtener 100 ml.

Solución estándar - Diluir 1,0 ml de una solución que contenga 0,716 mg de fosfato monobásico de potasio por ml con agua para obtener 100 ml. A 2,0 ml de esta solución agregar 98 ml de agua.

Procedimiento - Agregar 4 ml de ácido sulfomolibdico (SR) a la *Solución muestra* y a la *Solución estándar*, respectivamente y mezclar. A ambas soluciones agregar 0,1 ml de una mezcla recientemente preparada de ácido clorhídrico 3 N y cloruro estañoso concentrado (SR) (10:1) y mezclar. Después de 10 minutos el color que se observa en la *Solución muestra* no debe ser más intenso que el obtenido con la *Solución estándar* (0,01 %).

Límite de oxalato

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector de conductancia, una guardacolumna de 5 cm × 4 mm con fase estacionaria de intercambio aniónico fuerte de 15 μm, una columna de 25 cm × 4 mm con la misma fase estacionaria y una columna supresora de aniones de tipo micromembrana, conectada en serie con la guardacolumna y la columna. La columna supresora de aniones está provista de una micromembrana que separa la *Fase móvil* de la *Solución regeneradora* que fluye en contracorriente respecto a la *Fase móvil*, con un caudal de aproximadamente 7 ml por minuto. Equilibrar el sistema durante aproximadamente 15 minutos con *Fase móvil*, empleando un caudal de aproximadamente 2 ml por minuto.

Fase móvil - Preparar una solución de bicarbonato de sodio y carbonato de sodio en agua de aproximadamente 0,0017 M y 0,0018 M, respectivamente. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución regeneradora - Solución de ácido sulfúrico 0,0125 M en agua.

Diluyente - Diluir 1 ml de ácido clorhídrico en agua para obtener un volumen de 1.200 ml.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de oxalato de sodio en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 1,5 μg por ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Gluconato de Calcio Calidad Inyectable, transferir a un matraz aforado de 25 ml, disol-

ver en *Diluyente*, sonicar si fuera necesario, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna determinada a partir del pico de gluconato de calcio no debe ser menor de 2.500 platos teóricos, el factor de asimetría no debe ser mayor de 1,2; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el porcentaje de oxalato en la porción de Gluconato de Calcio Calidad Inyectable en ensayo por la fórmula siguiente:

$$(88,0/134,0)0,005C(r_M/r_E)$$

en la cual 88,0 y 134,0 son los pesos moleculares de oxalato y de oxalato de sodio, respectivamente, C es la concentración en µg por ml de oxalato de sodio en la *Solución estándar*, y r_M y r_E son las respuestas de los picos de oxalato en la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, respectivamente: no debe contener más de 0,01 %.

Límite de arsénico <540>

Proceder según se indica en *Límite de arsénico* para *Gluconato de Calcio*.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Una porción de 1,0 g de Gluconato de Calcio Calidad Inyectable debe presentar más cloruro que el que corresponde a 0,07 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,005 %).

Sulfato - Una porción de 2,0 g de Gluconato de Calcio Calidad Inyectable disuelta en agua a ebullición no debe presentar más sulfato que el que corresponde a 0,1 ml de ácido sulfúrico 0,020 N (0,005 %).

Límite de hierro <580>

Soluciones estándar - Transferir 2,0, 4,0 y 10,0 ml de *Solución estándar de hierro (10 ppm)* (ver 580. *Límite de hierro*) a sendos matraces aforados de 100 ml, cada uno conteniendo 1,37 g de cloruro de calcio, cuyo contenido de hierro debe ser inferior a 5 ppm, completar a volumen con ácido clorhídrico 2 N y mezclar. Estas soluciones contienen 0,2; 0,4 y 1,0 µg de hierro por ml cada una.

Solución muestra - Transferir 1,0 g de Gluconato de Calcio Calidad Inyectable a un erlenmeyer de cuarzo de 100 ml, agregar 20 ml de ácido nítrico 12 N y calentar a ebullición hasta que se liberen

vapores. Agregar 0,5 ml de peróxido de hidrógeno al 30 % y calentar nuevamente hasta que se liberen vapores. Repetir este proceso hasta que el volumen se reduzca aproximadamente a 5 ml. Enfriar, agregar 1,0 ml de ácido perclórico y calentar a ebullición. [*Precaución* - *No calentar por encima de 190 °C o evaporar hasta sequedad debido al peligro de explosión*]. Transferir esta solución a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con ácido clorhídrico 2 N y mezclar.

Solución blanco - Proceder según se indica en *Solución muestra* pero empleando 0,34 g de cloruro de calcio, cuyo contenido de hierro debe ser inferior a 5 ppm, en lugar de Gluconato de Calcio.

Procedimiento - Determinar concomitantemente las absorbancias de las *Soluciones estándar* y la *Solución muestra* en la línea de emisión del hierro a 248,3 nm, con un espectrofotómetro de absorción atómica (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*) equipado con una lámpara de hierro de cátodo hueco y una llama de aire-acetileno, emplear la *Solución blanco* como blanco y hacer las correcciones por interferencia del deuterio. Graficar las absorbancias de las *Soluciones estándar* en función de la concentración en µg por ml de hierro y calcular la ecuación recta que mejor ajuste. Determinar la concentración C en µg por ml de hierro en la *Solución muestra*. Calcular la concentración de hierro en ppm en la porción de Gluconato de Calcio Calidad Inyectable en ensayo, multiplicando C por 25. El límite es 5 ppm.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Pérdida por secado <680>

Proceder según se indica en *Perdida por secado* para *Gluconato de Calcio*: la forma anhidra no debe perder más de 3,0 % de su peso; la forma monohidrato no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

No debe contener más de 10^3 microorganismos aerobios viables, determinados por recuento en placa y debe cumplir con el ensayo para *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

No debe contener más de 167 Unidades de Endotoxina por gramo de Gluconato de Calcio Calidad Inyectable.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Proceder según se indica en *Valoración para Gluconato de Calcio*.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si Gluconato de Calcio Calidad Inyectable es anhidro o monohidrato. La cantidad de Gluconato de Calcio Calidad Inyectable indicada en el rótulo de cualquier preparación que la contenga se debe expresar como Gluconato de Calcio anhidro. Indicar en el rótulo que Gluconato de Calcio Calidad Inyectable está destinado a la preparación de formas farmacéuticas inyectables.

CALCIO, ÓXIDO DE

CaO PM: 56,1 1305-78-8

Definición - Óxido de Calcio debe contener no menos de 98,0 por ciento de CaO, luego de ser incinerado hasta peso constante y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Masas blancas duras. En contacto con el aire, absorbe lentamente dióxido de carbono y humedad. Muy poco soluble en agua en ebullición; prácticamente insoluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Humedecer una porción de Óxido de Calcio con agua: se debe generar calor y se debe obtener un polvo blanco. Al polvo obtenido, agregar cinco veces su masa en agua: la mezcla obtenida debe ser alcalina.

B - Disolver 1 g de Óxido de Calcio en 20 ml de agua con la ayuda de unas gotas de ácido acético: la solución obtenida debe responder a los ensayos para *Calcio* <410>.

Sustancias insolubles en ácido

Desintegrar 5 g de Óxido de Calcio con una pequeña cantidad de agua, agregar 100 ml de agua, agregar gota a gota ácido clorhídrico con agitación hasta que la solución sea ácida. Agregar 1 ml de ácido clorhídrico, calentar a ebullición esta solución durante 5 minutos, enfriar y filtrar a través de un embudo filtrante de vidrio con placa de porosidad 4. Lavar el residuo obtenido con agua hirviendo hasta que no se produzca turbidez frente al agregado de nitrato de plata (SR), secar a 105 °C hasta peso constante: el peso del residuo no debe ser mayor de 10,0 mg.

Carbonato

Desintegrar 1,0 g de Óxido de Calcio con una pequeña cantidad de agua, agregar 50 ml de agua y mezclar. Dejar reposar, eliminar el sobrenadante y agregar un exceso de ácido clorhídrico diluido al residuo obtenido: no se debe producir efervescencia.

Magnesio y metales alcalinos

Disolver 1,0 g de Óxido de Calcio en 75 ml de agua con la ayuda de unas gotas de ácido clorhídrico, agregar 1 ml de ácido clorhídrico y calentar a ebullición durante 1 ó 2 minutos. Neutralizar con amoníaco (SR), agregar en gotas un exceso de oxalato de amonio (SR) y calentar en un baño de agua durante 2 horas. Enfriar, diluir con agua a 200 ml,

mezclar y filtrar. Transferir 50 ml del filtrado a un recipiente apropiado, agregar 0,5 ml de ácido sulfúrico, evaporar hasta sequedad y calentar el residuo obtenido a 600 °C hasta peso constante: el peso del residuo no debe ser mayor de 15 mg.

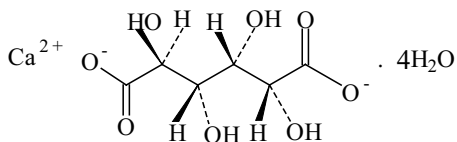
Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 10,0 %, determinado a 900 °C.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 700 mg de Óxido de Calcio, previamente sometido a ignición a 900 °C hasta peso constante y enfriado en desecador, disolver en una mezcla de 50 ml de agua y 8 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 3) con ayuda de calor. Enfriar, diluir con agua a 250 ml y transferir 10 ml de esta solución a un erlenmeyer. Agregar 50 ml de agua, 2 ml de hidróxido de potasio 8 M y 100 mg de una mezcla de 500 mg de ácido 2-hidroxi-1-(2'-hidroxi-4'-sulfo-1'naftilazo)-3-naftoico y 50 g de sulfato de sodio anhidro, previamente triturada hasta que sea homogénea, como indicador. Titular con edetato disódico 0,02 M (SV) hasta que el color púrpura rojizo de la solución vire al azul. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de edetato disódico 0,02 M (SV) equivale a 1,12 mg de CaO.

CALCIO, SACARATO DE



$C_6H_8CaO_8 \cdot 4H_2O$ PM: 320,3 5793-89-5

Definición - Sacarato de Calcio es la sal de calcio del Ácido *D*-glucárico de calcio. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_6H_8CaO_8 \cdot 4H_2O$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco. Soluble en ácidos minerales diluidos y soluciones de gluconato cálcico, poco soluble en agua caliente, muy poco soluble en agua fría y alcohol, prácticamente insoluble en éter y cloroformo.

Sustancia de referencia - Sacarato de Calcio SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Disolver 0,2 g de Sacarato de Calcio en 10 ml de agua acidificada con 2 ml de ácido clorhídrico: la solución obtenida debe responder a los ensayos para *Calcio* <410>.

B - Absorción infrarroja <460>. *En Suspensión*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: entre +18,5° y +22,5°.

Solución muestra: 60 mg por ml, en ácido clorhídrico 4,8 N [NOTA: dejar reposar durante 1 hora].

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - A 500 mg de Sacarato de Calcio, agregar 10 ml de agua y acidular con 2 ml de ácido nítrico: la solución no debe presentar mas cloruro que el correspondiente a 0,50 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (700 ppm).

Sulfato - A 500 mg de Sacarato de Calcio, agregar 10 ml de agua y acidular con 2 ml de ácido clorhídrico: la solución no debe presentar mas sulfato que el correspondiente a 0,60 ml de ácido sulfúrico 0,020 N (1.200 ppm).

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 20 ppm.

Sacarosa y azúcares reductores

Disolver 500 mg de Sacarato de Calcio en 10 ml de agua mediante el agregado de 2 ml de ácido clorhídrico y calentar a ebullición durante 2 minutos. Enfriar la solución, agregar 15 ml de carbonato de sodio (SR), dejar reposar durante 5 minutos y filtrar. Agregar 5 ml de filtrado a 2 ml de tartrato cúprico alcalino (SR) y calentar a ebullición durante un minuto: no se debe formar un precipitado rojo inmediatamente.

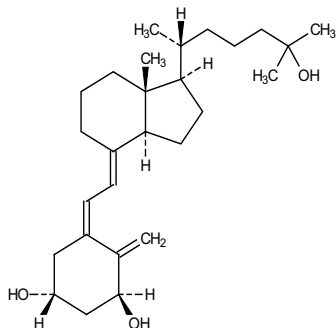
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 600 mg de Sacarato de Calcio, disolver en 150 ml de agua con la ayuda de suficiente cantidad de ácido clorhídrico. Agregar alrededor de 30 ml de edetato disódico 0,05 M (SV) en agitación constante. Agregar 15 ml de hidróxido de sodio 1 N y 300 mg de azul de hidroxinaftol. Continuar la titulación con edetato disódico 0,05 M (SV) hasta que el indicador cambie al azul. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de edetato disódico 0,05 M equivale a 16,0 mg de $C_6H_8CaO_8 \cdot 4H_2O$.

CALCITRIOL



$C_{27}H_{44}O_3$

PM: 416,6

32222-06-3

Definición - Calcitriol es. (1 α ,3 β ,5Z,7E)-9,10-Secocolesta 5,7,10(19)-trieno-1,3,25-triol. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_{27}H_{44}O_3$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales blancos o casi blancos. Sensible al aire, al calor y a la luz. Dependiendo de la temperatura y del tiempo, puede producirse en solución una isomerización reversible a precalcitriol, siendo la actividad debida a ambos compuestos. Fácilmente soluble en alcohol; soluble en éter y en aceites grasos; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Calcitriol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos herméticamente cerrados bajo nitrógeno, en un refrigerador. Una vez abierto el envase, su contenido debe emplearse de inmediato.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Preparación estándar*.

Pureza cromatográfica

Examinar los cromatogramas según se indica en *Valoración*, calcular el porcentaje de impurezas, a excepción de precalcitriol, que eluyen dentro de dos veces el tiempo de retención del calcitriol, en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*. Ninguna impureza individual debe ser mayor de 0,5 % y la suma de las impurezas totales no debe ser mayor de 1,0 %. Ignorar cualquier pico con una respuesta menor de 0,1 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar B* (0,1 %).

VALORACIÓN

[NOTA: emplear material de vidrio inactivo, evitar la exposición al aire y realizar todas las operaciones en el menor tiempo posible.]

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 230 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μ m de diámetro. Mantener la columna aproximadamente a 40 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo y solución de tris(hidroximetil)-aminometano al 0,1 %, ajustada a pH entre 7,0 y 7,5 con ácido fosfórico (55:45). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*)

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 10,0 mg de Calcitriol y transferir a un matraz aforado de 100 ml. Disolver, sin calentar, en *Fase móvil* y completar a volumen con *Fase móvil*.

Preparación estándar A - Pesar exactamente alrededor de 1,0 mg de Calcitriol SR-FA y transferir a un matraz aforado de 10 ml. Disolver, sin calentar, en *Fase móvil* y completar a volumen con *Fase móvil*.

Preparación estándar B - Transferir 1,0 ml de la *Preparación estándar A* a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Preparación estándar C - Transferir 2 ml de la *Preparación estándar A* a un recipiente adecuado y calentar a 80 °C durante 30 minutos.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar C* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos para precalcitriol y para calcitriol deben ser aproximadamente 0,9 y 1,0, respectivamente; la resolución *R* entre los picos de calcitriol y precalcitriol no debe ser menor de 3,5. Cromatografiar la *Preparación estándar A* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 10.000 platos teóricos; la desviación estándar relativa para seis inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 μ l) de la *Preparación estándar B* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas durante al menos dos veces el tiempo de retención de calcitriol y medir la respuesta de todos los picos. Calcular el contenido de $C_{27}H_{44}O_3$ en la porción de Calcitriol en ensayo.

CAOLÍN

Definición - Caolín es un silicato de aluminio natural hidratado, pulverizado y libre de partículas arenosas mediante levigación. Debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo muy fino y liviano, blanco o blanco grisáceo; suave al tacto. Al humedecer con agua desarrolla una coloración oscura y libera un olor similar al de la arcilla. Insoluble en agua, solventes orgánicos, ácidos diluidos fríos y soluciones de hidróxidos fríos.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Transferir 1 g de Caolín a una cápsula de porcelana, agregar 10 ml de agua y 5 ml de ácido sulfúrico y mezclar. Evaporar hasta eliminar el exceso de agua y continuar el calentamiento hasta que se produzcan gases densos y blancos de trióxido de azufre. Enfriar, agregar cuidadosamente 20 ml de agua, calentar a ebullición durante unos pocos minutos y filtrar: se debe obtener un residuo gris (sílice impuro) y el filtrado debe responder a los ensayos para *Aluminio* <410>.

Sustancias solubles en ácido

Digerir 1,0 g de Caolín con 20 ml de ácido clorhídrico 3 N durante 15 minutos y filtrar. Evaporar hasta sequedad 10 ml del filtrado y someter a ignición: el peso del residuo no debe ser mayor de 10 mg (2,0 %).

Carbonato

A 1,0 g de Caolín, agregar 10 ml de agua y 5 ml de ácido sulfúrico y mezclar: no se debe producir efervescencia.

Hierro

Triturar 2,0 g de Caolín con 10 ml de agua y agregar 500 mg de salicilato de sodio: no debe desarrollarse más que un leve tinte rojizo.

Límite de plomo

Solución muestra - Transferir 1 g de Caolín a un tubo de centrifuga, agregar 10 ml de ácido nítrico 1 N y digerir durante 1 hora en un baño de agua a ebullición. Centrifugar hasta separar completamente los sólidos y transferir el sobrenadante a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 5 ml de ácido nítrico 1 N, mezclar y digerir durante 15 minutos en un baño de agua en ebullición. Centrifugar, reunir el sobrenadante con el extracto anterior en el matraz aforado y completar a volumen con agua.

Procedimiento - Emplear 50 ml de *Solución*

muestra y proceder según se indica en 600. Límite de plomo, pero empleando 3 ml de *Solución de citrato de amonio*, 1 ml de *Solución de cianuro de potasio* y 500 µl de *Solución de clorhidrato de hidroxilamina*. El límite es 5 µg de plomo (correspondiente a no más de 0,001 % de Pb).

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 15,0 %.

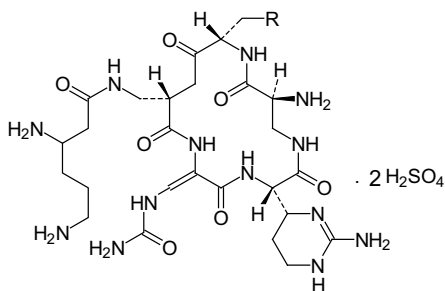
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con el ensayo para *Escherichia coli*.

CAPREOMICINA, SULFATO DE



R = OH Capreomicina I_A
R = H Capreomicina I_B

1405-37-4

Definición - Sulfato de Capreomicina es la Sal disulfato de capreomicina, una mezcla de polipéptidos producida por el crecimiento de *Streptomyces capreolus*. Debe contener una potencia equivalente a no menos de 700 μg y no más de 1.050 μg de capreomicina por mg y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo amorfo blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en agua y prácticamente insoluble en la mayoría de los solventes orgánicos.

Sustancia de referencia - Sulfato de Capreomicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Debe responder a los ensayos para *Sulfato* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 7,5, determinado sobre una solución de 30 mg por ml.

Pérdida por secado <680>

Secar aproximadamente 100 mg de Sulfato de Capreomicina al vacío, a una presión que no exceda los 5 mm de mercurio, a 100 °C durante 4 horas: no debe perder más de 10,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 3,0 %. El residuo carbonizado debe ser humedecido con 2 ml de ácido nítrico y 5 gotas de ácido sulfúrico.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,003 %.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que Sulfato de Capreomicina es estéril, debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que Sulfato de Capreomicina está destinado la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral, no debe contener más de 0,35 Unidades de Endotoxina por mg de capreomicina.

Contenido de Capreomicina I

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 268 nm y una columna de 15 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por grupos nitrilo unidos químicamente a partículas de sílice porosa, de 3 a 10 μm de diámetro con una carga de carbono de 3,5 %. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 0,5 g de bisulfato de amonio en 1 litro de agua y filtrar a través de una membrana filtrante de 0,5 μm o porosidad menor. Preparar una mezcla de esta solución y metanol (550:450). Desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de resolución - Preparar una solución de Sulfato de Capreomicina SR-FA en agua de aproximadamente 0,25 mg por ml.

Solución muestra - Preparar una solución de Sulfato de Capreomicina en agua de aproximadamente 0,25 mg por ml.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los factores de asimetría para los picos principales (Capreomicina I_A y Capreomicina I_B) no deben ser mayores de 2,5 la resolución R entre los picos de capreomicina I_A y capreomicina I_B no debe ser menor de 1,5.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 20 μl de la *Solución muestra*, registrar el cromatograma y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de Capreomicina I en la porción de Sulfato de Capreomicina en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$100(r_{IA}+r_{IB})/r_t$$

en la cual r_{IA} y r_{IB} son las respuestas de los picos de Capreomicina I_A y Capreomicina I_B , respectivamente, y r_t es la suma de las respuestas de todos los picos obtenidos en el cromatograma de la *Solución muestra*. El contenido de Capreomicina I no debe ser menor de 90,0 %.

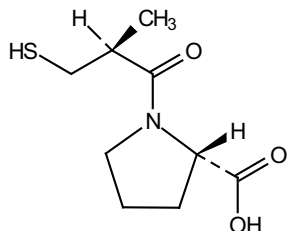
VALORACIÓN

Proceder con el Sulfato de Capreomicina según se indica en 770. *Valoración microbiológica de antibióticos.*

ROTULADO

Cuando el Sulfato de Capreomicina esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral, indicar en el rótulo que es estéril.

CAPTOPRIL



C₉H₁₅NO₃S

PM: 217,3

62571-86-2

Definición - Captopril es (S)-1-(3-Mercapto-2-metil-1-oxopropil)-L-prolina. Debe contener no menos de 97,5 por ciento y no más de 102,0 por ciento, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Funde entre 104 y 110 °C. Fácilmente soluble en agua, alcohol y metanol.

Sustancia de referencia - Captopril SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. En fase sólida.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -127° y -132°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en alcohol absoluto.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,003 %.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 220 nm y una columna de 12,5 cm × 4 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol, agua y ácido fosfórico (50:50:0,05). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de resolución - Disolver 10 mg de Captopril en *Fase móvil*, agregar 1 ml de iodo 0,05 M y diluir a 100 ml con *Fase móvil*. Diluir 10,0 ml de esta solución a 100 ml con *Fase móvil*.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Captopril, disolver en *Fase móvil* y diluir a 100 ml con el mismo solvente.

Solución estándar - Diluir 2,0 ml de la *Solución muestra* a 100,0 ml con *Fase móvil*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el ensayo no es válido a menos que el cromatograma obtenido con la *Solución de resolución* presente tres picos y que la resolución entre los últimos dos picos sea mayor o igual de 2,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μl) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. Continuar la cromatografía durante tres veces el tiempo de retención del pico principal del cromatograma obtenido con la *Solución muestra*. A excepción del pico principal, en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* la respuesta de ningún pico debe ser mayor que la mitad del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar* (1,0 %) y la suma de las respuestas de todos los picos no debe ser mayor que la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar* (2,0 %). Ignorar cualquier pico con un tiempo de retención menor de 1,4 minutos o con una respuesta menor de 0,1 veces la del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar* (0,2 %).

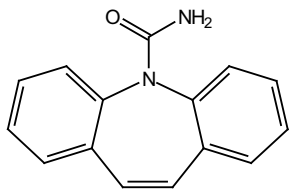
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 150 mg de Captopril, transferir a un erlenmeyer y disolver en 30 ml de agua. Titular con iodo 0,05 M determinando el punto final potenciométricamente (ver 780. *Volumetría*). Emplear un electrodo combinado de platino. Cada ml de iodo 0,05 M equivale a 21,73 mg de C₉H₁₅NO₃S.

CARBAMAZEPINA



$C_{15}H_{12}N_2O$ PM: 236,3 298-46-4

Definición - Carbamazepina es 5H-Dibenzo[*b,f*]azepina-5-carboxamida. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{15}H_{12}N_2O$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Soluble en acetona y alcohol; prácticamente insoluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Carbamazepina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*.

B - Punto de fusión <260>. Entre 189 y 193 °C.

Acidez

A 40,0 ml de agua agregar 2,0 g de Carbamazepina, mezclar durante 15 minutos y filtrar. A una alícuota de 10,0 ml de la solución filtrada, agregar 1 gota de fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,01 N (SV) desde una bureta de 10 ml. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). No debe consumirse más de 1,0 ml de hidróxido de sodio 0,010 N por cada gramo de Carbamazepina.

Alcalinidad

A una alícuota de 10,0 ml de la solución preparada en *Acidez*, agregar 1 gota de rojo de metilo (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,01 N (SV) desde una bureta de 10 ml. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). No debe consumirse más de 1,0 ml de ácido clorhídrico 0,010 N por cada gramo de Carbamazepina.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %, determinado sobre 2,0 g.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Calentar a ebullición 1,0 g de Carbamazepina con 20,0 ml de agua durante 10 minutos, enfriar, ajustar nuevamente el volumen y filtrar: una porción de 10,0 ml del filtrado no debe contener más cloruro que el que corresponde a 0,10 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,014 %).

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Solución de resolución - Preparar según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Disolver cantidades exactamente pesadas de Carbamazepina SR-FA, 10,11-dihidrocarbamazepina e iminoestilbeno en metanol para obtener una solución de aproximadamente 0,02 mg por ml de cada uno. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con una mezcla de metanol y agua (50:50) y mezclar.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Carbamazepina, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver y completar a volumen con metanol. Transferir 25,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, agregar aproximadamente 20,0 ml de agua y agitar. Dejar que la mezcla se enfríe a temperatura ambiente y completar a volumen con agua.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre 10,11-dihidrocarbamazepina y carbamazepina no debe ser menor de 1,70; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos. Calcular las cantidades en mg de 10,11-dihidrocarbamazepina e iminoestilbeno en la porción de Carbamazepina en ensayo por la fórmula siguiente:

$$100C(r_i/r_E)$$

en la cual *C* es la concentración en mg por ml de 10,11-dihidrocarbamazepina o iminoestilbeno en la *Solución estándar* y *r_i* y *r_E* son las respuestas de los picos de 10,11-dihidrocarbamazepina o iminoestilbeno en la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, respectivamente. Calcular las cantidades en mg de todas las otras impurezas presentes en la porción de Carbamazepina en ensayo por la fórmula siguiente:

$$100C(r_i/r_E)$$

en la cual r_i es la respuesta del pico de cualquier otra impureza y r_E es la respuesta del pico de carbamazepina obtenido en la *Solución estándar*: no debe contener más de 0,2 % de cualquier impureza individual y la suma de impurezas totales (incluidos 10,11-dihidrocarbamazepina e iminoestilbeno) no debe ser mayor de 0,5 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 230 nm y una columna de 15 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por grupos nitrilo unidos químicamente a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 0,75 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, metanol y tetrahidrofurano (85:12:3), preparar 1 litro. Agregar 0,22 ml de ácido fórmico, mezclar y agregar 0,5 ml de trietilamina. Mezclar. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Metanol y agua (1:1).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Carbamazepina SR-FA en metanol y diluir cuantitativamente con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg por ml. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con *Diluyente*.

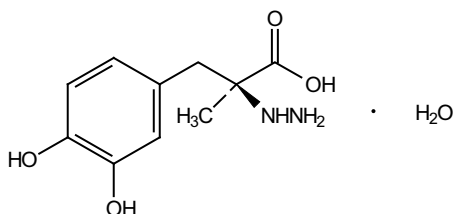
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Carbamazepina, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver y completar a volumen con metanol. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, disolver y completar a volumen con *Diluyente*.

Solución de resolución - Disolver en metanol cantidades exactamente pesadas de Carbamazepina SR-FA y 10,11-dihidrocarbamazepina y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con metanol para obtener una solución de aproximadamente 0,1 y 0,5 mg por ml, respectivamente. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con *Diluyente*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución R entre los picos de 10,11-dihidrocarbamazepina y carbamazepina no debe ser menor de 1,70. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 15 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{15}H_{12}N_2O$ en la porción de Carbamazepina en ensayo.

CARBIDOPA



$C_{10}H_{14}N_2O_4 \cdot H_2O$ PM: 244,2 38821-49-7

Anhidra PM: 226,2 28860-95-9

Definición - Carbidopa es el Monohidrato del ácido (-)-L- α -Hidrazino-3,4-dihidroxi- α -metilhidrocínámico. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{10}H_{14}N_2O_4$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Inodoro. Fácilmente soluble en ácido clorhídrico 3 N; poco soluble en agua y metanol; prácticamente insoluble en alcohol, acetona, clorofórmico y éter.

Sustancias de referencia - Carbidopa SR-FA. Metildopa SR-FA. 3-O-Metilcarbidopa SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Pesar 50 mg de Carbidopa, transferir a un matraz de 100 ml, disolver y completar a volumen con una solución de 8,5 g de ácido clorhídrico por litro en metanol. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con el mismo solvente. Examinar entre 230 y 350 nm. (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*): la solución debe presentar un máximo de absorción a 283 nm y la absorbancia específica debe estar comprendida entre 135 y 150 en el máximo de absorción.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre $-22,5^\circ$ y $-26,5^\circ$, calculada como la sustancia seca.

Solución muestra: 10 mg por ml, en una solución de cloruro de aluminio 2 en 3 previamente filtrada y luego ajustada a pH 1,5 con hidróxido de sodio 0,25 N.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metildopa y 3-O-metilcarbidopa

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 282 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución de fosfato - Disolver 14 g de fosfato monobásico de potasio en 1 litro de agua y mezclar.

Fase móvil - *Solución de fosfato* y metanol (98:2). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Transferir una porción exactamente pesada de Metilcarbidopa SR-FA a un matraz aforado de 10 ml, disolver en ácido clorhídrico 0,1 M, agregar 0,5 mg de Metildopa SR-FA y completar a volumen con el mismo solvente.

Solución de resolución - Pesar exactamente alrededor de 5 mg de Carbidopa SR-FA y 5 mg de Metildopa SR-FA, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver en ácido clorhídrico 0,1 M y completar a volumen con el mismo solvente.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Carbidopa, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver con ácido clorhídrico 0,1 M, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de metildopa y carbidopa no debe ser menor de 4,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. La respuesta para cualquier impureza individual obtenida a partir del cromatograma de la *Solución muestra* no debe ser mayor a la respuesta del pico principal obtenida con la *Solución estándar* (0,5 %).

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Pérdida por secado <680>

Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Carbidopa, calentar en una estufa al vacío a 105 $^\circ$ C y a una presión no mayor a 5 mm Hg, hasta peso constante. Enfriar y pesar: debe perder entre 6,9 y 7,9 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 150 mg de Carbidopa y disolver en 75 ml de ácido acético glacial, calentando suavemente si fuera necesario. Dejar enfriar y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 22,62 mg de $C_{10}H_{14}N_2O_4$.

CARBÓN MEDICINAL

Definición - Carbón Medicinal se obtiene a partir de materia vegetal mediante procesos de carbonización destinados a conferir un poder de adsorción elevado.

Caracteres generales - Polvo fino negro y libre de grumos. Inodoro

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Reacción

Calentar a ebullición 3,0 g de Carbón Medicinal con 60 ml de agua durante 5 minutos. Dejar enfriar, restaurar el volumen original agregando agua y filtrar: el filtrado debe ser incoloro y neutro frente al tornasol. [NOTA: retener una porción del filtrado para el ensayo de *Límite de cloruro y sulfato*].

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 4,0 %, determinado sobre 0,50 g.

Sustancias solubles en ácido

Calentar a ebullición 1,0 g de Carbón Medicinal con una mezcla de 20 ml de agua y 5 ml de ácido clorhídrico durante 5 minutos, filtrar en un crisol de porcelana previamente pesado y lavar el residuo con 10 ml de agua caliente. Al filtrado y los lavados combinados agregar 1 ml de ácido sulfúrico, evaporar hasta sequedad y someter a ignición hasta peso constante: el residuo no debe pesar más de 35 mg (3,5 %).

Sulfuro

A 500 mg de Carbón Medicinal agregar 20 ml de agua y 5 ml de ácido clorhídrico y calentar a ebullición suave: los vapores no deben oscurecer un papel humedecido con acetato de plomo (SR).

Compuestos de cianógeno

A 5,0 g de Carbón Medicinal agregar 50 ml de agua y 2 g de ácido tartárico, transferir a un balón conectado a un refrigerante provisto de uniones esmeriladas cuyo extremo se sumerge debajo de la superficie de una mezcla de 2 ml de hidróxido de sodio 1 N y 10 ml de agua, contenidos en un matraz colocado en un baño de hielo. Calentar a ebullición la mezcla en el balón y destilar aproximadamente 25 ml. Diluir el destilado con agua a 50 ml y mezclar. A 25 ml del destilado diluido agregar 12 gotas de sulfato ferroso (SR), calentar la mezcla hasta casi ebullición, enfriar y agregar 1 ml de ácido clorhídrico: no se debe producir color azul.

Componentes no carbonizables

Calentar a ebullición 250 mg de Carbón Medicinal con 10 ml de hidróxido de sodio 1 N durante 5 segundos y filtrar: el filtrado debe ser incoloro.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Una porción de 10 ml del filtrado obtenido en el ensayo de *Reacción* no debe presentar más cloruro que el que contiene 1,5 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,2 %).

Sulfato - Una porción de 10 ml del filtrado obtenido en el ensayo de *Reacción* no debe presentar más sulfato que el que contiene 1,0 ml de ácido sulfúrico 0,020 N (0,2 %).

Límite de metales pesados <590>

Calentar a ebullición 1,0 g de Carbón Medicinal con una mezcla de 20 ml de ácido clorhídrico 3 N y 5 ml de bromo (SR) durante 5 minutos, filtrar y lavar el carbón y el filtro con 50 ml de agua hirviendo. Evaporar hasta sequedad el filtrado y los lavados y agregar al residuo 1 ml de ácido clorhídrico 1 N, 20 ml de agua y 5 ml de ácido sulfuroso. Calentar a ebullición la solución hasta expulsar todo el dióxido de azufre, filtrar si fuera necesario y diluir con agua a 50 ml. A 20 ml de esta solución agregar agua hasta obtener 25 ml: el límite es 0,005 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 120 °C durante 4 horas: no debe perder más de 15,0 % de su peso.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos del ensayo para ausencia de *Salmonella spp.* y *Escherichia coli*.

PODER ADSORBENTE

Pesar exactamente alrededor de 300 mg de Carbón Medicinal, transferir a un matraz aforado de 100 ml con tapón esmerilado y agregar 25 ml de una solución recién preparada de fenazona al 1 %. Agitar durante 15 minutos, filtrar y descartar los primeros 5 ml del filtrado. Transferir 10 ml a un recipiente apropiado, agregar 1,0 g de bromuro de potasio y 20 ml de ácido clorhídrico diluido. Titular con bromato de potasio 0,0167 M, empleando 0,1 ml de rojo de metilo (SR) como indicador, hasta que el color rojo desaparezca [NOTA: cerca del punto final agregar 1 gota cada 15 segundos]. Realizar una determinación con un blanco, empleando 10 ml de la solución de fenazona al 1 %. Calcular la cantidad de fenazona adsorbida por cada 100 g de Carbón Medicinal, por la fórmula siguiente:

$$2,353(a-b)/m$$

en la cual a es el número de ml de bromato de potasio 0,0167 M empleados en la titulación del blanco, b es el número de ml de bromato de potasio 0,0167 M empleados en la titulación del Carbón Medicinal y m es la cantidad en gramos de Carbón Medicinal empleado en la titulación. No menos de 40 g de fenazona debe ser adsorbida por 100 g de Carbón Medicinal, calculados con respecto a la sustancia seca.

CARBONATO SÓDICO HIDROGENADO

NaHCO₃ PM: 84,0 144-55-8

Sinonimia - Bicarbonato de Sodio.

Definición - Carbonato Sódico Hidrogenado debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de NaHCO₃, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco. Estable al aire seco, pero se descompone lentamente en aire húmedo. Sus soluciones recientemente preparadas con agua fría, sin agitación, son alcalinas al tornasol. La alcalinidad aumenta con el tiempo o cuando la solución se agita o se calienta. Soluble en agua; insoluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Una solución de Carbonato Sódico Hidrogenado debe responder a los ensayos para *Sodio* <410> y para *Bicarbonato* <410>.

Carbonato

Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Carbonato Sódico Hidrogenado, disolver sin agitación en 20 ml de agua a una temperatura que no exceda 5 °C. Agregar 2,0 ml de ácido clorhídrico 0,10 N y 2 gotas de fenolftaleína (SR): se debe observar inmediatamente apenas un color rosado débil.

Cuando en el rótulo se indique que el Carbonato Sódico Hidrogenado esté destinado a emplearse en hemodiálisis se debe proceder del siguiente modo.

Aparato (ver Figura) - Consiste en un matraz de 50 ml con un brazo lateral, conectado a una fuente de dióxido de carbono, humedecido por burbujeo a través de una solución saturada de Carbonato Sódico Hidrogenado, con un tapón a través del cual se coloca un tubo de salida, conectado mediante un tubo en "T" a una llave del sistema de venteo y a una bureta de nivel con un reservorio.

Reactivos

Solución saturada de Carbonato Sódico Hidrogenado - Pesar alrededor de 20 g de Carbonato Sódico Hidrogenado, mezclar con 100 ml de agua y dejar sedimentar los cristales no disueltos. Emplear la solución sobrenadante.

Solución de desplazamiento - Pesar exactamente alrededor de 100 g de cloruro de sodio, disolver en

350 ml de agua, agregar aproximadamente 1 g de Carbonato Sódico Hidrogenado y 1 ml de naranja de metilo (SR). Luego de disolver el Carbonato Sódico Hidrogenado, agregar ácido sulfúrico 6 N hasta que la solución se torne rosada. Emplear esta solución para llenar el reservorio del aparato.

Procedimiento - Agregar 25 ml de *Solución saturada de Carbonato Sódico Hidrogenado* al matraz de 50 ml, y purgar el sistema dejando que el dióxido de carbono humedecido entre a través del brazo lateral. Cerrar la entrada de dióxido de carbono, la llave del sistema de venteo y agitar la *Solución saturada de Carbonato Sódico Hidrogenado* hasta que no se observe absorción de dióxido de carbono adicional en lecturas sucesivas de la bureta. Mantener la presión atmosférica en el aparato ajustando la *Solución de desplazamiento* al mismo nivel en el reservorio y en la bureta, observando la lectura de la bureta. Abrir la llave del sistema de venteo e introducir nuevamente dióxido de carbono humedecido a través del brazo lateral del matraz. Cerrar la entrada de dióxido de carbono, la llave del sistema de venteo y agitar vigorosamente la *Solución saturada de Carbonato Sódico Hidrogenado* hasta que no se observe absorción de dióxido de carbono adicional. Repetir el procedimiento de absorción de dióxido de carbono donde dice "Abrir la llave del sistema de venteo..." hasta no observar un cambio mayor de 0,2 ml en la lectura de la bureta. Suspender la agitación, introducir nuevamente dióxido de carbono humedecido a través del brazo lateral del matraz, retirar el tapón del matraz. Pesar exactamente alrededor de 10 g de Carbonato Sódico Hidrogenado y agregar rápidamente al matraz, colocar el tapón, continuar el flujo de dióxido de carbono humedecido durante 30 segundos, luego cerrar la entrada de dióxido de carbono y la llave del sistema de venteo. Agitar vigorosamente la solución en el matraz hasta que cese la absorción de dióxido de carbono, observando el volumen absorbido en la lectura de la bureta. Restaurar la presión atmosférica en el aparato mediante la nivelación de la *Solución de desplazamiento* en el reservorio y en la bureta, detener la agitación. Abrir la llave del sistema de venteo y pasar dióxido de carbono humedecido a través del sistema. Cerrar la entrada de dióxido de carbono y la llave del sistema de venteo y agitar vigorosamente la solución en el matraz hasta que cese la absorción de dióxido de carbono. Determinar el volumen total V en ml de dióxido de carbono absorbido luego de agregar la muestra al matraz y calcular el porcentaje de carbonato en la porción de Carbonato Sódico Hidrogenado en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$273V(6.001P)/[22.400(273 + T)(760M)]$$

en la cual P es la presión atmosférica en mm de Hg; T

es la temperatura ambiente; y M es la cantidad en g de Carbonato Sódico Hidrogenado empleada. [NOTA: mantener la temperatura constante durante la medición del volumen de dióxido de carbono absorbido.] No debe contener más de 0,23 % de carbonato.

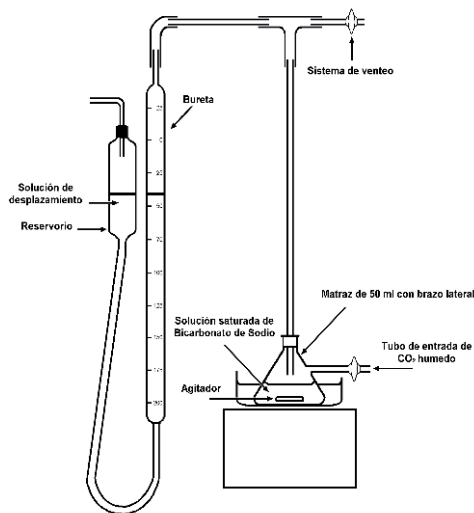


Figura - Aparato para la determinación del carbonato.

Calcio y magnesio

Cuando en el rótulo indique que el Carbonato Sódico Hidrogenado esté destinado a emplearse en hemodiálisis se debe proceder del siguiente modo.

[NOTA: las Soluciones estándar y la Solución muestra pueden modificarse, si fuera necesario, para obtener soluciones de concentraciones apropiadas para el intervalo lineal o de trabajo del aparato.]

Solución de cloruro de potasio - Pesar exactamente alrededor de 10 g de cloruro de potasio en 1.000 ml de ácido clorhídrico 0,36 N.

Soluciones estándar de calcio - Pesar exactamente alrededor de 249,7 mg de carbonato de calcio, previamente secado a 300 °C durante 3 horas y enfriar en un desecador durante 2 horas, transferir a un matraz aforado de 100 ml. Disolver en 6 ml de ácido clorhídrico 6 N, agregar 1 g de cloruro de potasio, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un segundo matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con Solución de cloruro de potasio y mezclar. Esta solución debe contener 100 µg de Ca por ml. Transferir 2,0; 3,0; 4,0 y 5,0 ml de esta solución a sendos matraces aforados de 100 ml (cada uno conteniendo 6 ml de ácido clorhídrico 6 N), completar a volumen con Solución de cloruro de potasio y mezclar. Estas Soluciones estándar de calcio deben contener 2,0; 3,0; 4,0 y 5,0 µg de Ca por ml, respectivamente.

Soluciones estándar de magnesio - Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de magnesio, transferir a un

vaso de precipitados de 250 ml que contenga 20 ml de agua; agregar cuidadosamente 20 ml de ácido clorhídrico, calentando si fuera necesario para completar la reacción. Transferir esta solución a un matraz aforado de 1 litro que contenga 10 g de cloruro de potasio, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml que contenga 1 g de cloruro de potasio, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un segundo matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con Solución de cloruro de potasio y mezclar. Esta solución debe contener 10,0 µg de Mg por ml. Transferir porciones de 2,0; 3,0; 4,0 y 5,0 ml de esta solución a sendos matraces aforados de 100 ml (cada uno conteniendo 6 ml de ácido clorhídrico 6 N), completar a volumen con Solución de cloruro de potasio y mezclar. Estas Soluciones estándar de magnesio deben contener 0,2; 0,3; 0,4 y 0,5 µg de Mg por ml, respectivamente.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 3,0 g de Carbonato Sódico Hidrogenado, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 6 ml de ácido clorhídrico 6 N y 1 g de cloruro de potasio, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento para calcio - Determinar las absorbancias de las Soluciones estándar de calcio y la Solución muestra en la línea de emisión del calcio a 422,7 nm empleando un equipo para espectrofotometría de absorción atómica (ver 440. Espectrofotometría de absorción y emisión atómica) con una lámpara de calcio de cátodo hueco y una llama de óxido nitroso-acetileno, empleando Solución de cloruro de potasio como blanco. Graficar las absorbancias de las Soluciones estándar de calcio en función del contenido de calcio en µg por ml trazando la línea recta que mejor se ajuste a los cuatro valores graficados. A partir del gráfico obtenido determinar la cantidad en µg de Ca por ml de Solución muestra. Calcular el porcentaje de Ca en la porción de Carbonato Sódico Hidrogenado empleada dividiendo este valor por 300; el límite es de 0,01 %.

Procedimiento para magnesio - Determinar con las absorbancias de las Soluciones estándar de magnesio y la Solución muestra en la línea de emisión del magnesio a 285,2 nm empleando un equipo para espectrofotometría de absorción atómica (ver 440. Espectrofotometría de absorción y emisión atómica) con una lámpara de magnesio de cátodo hueco y una llama reductora de aire-acetileno, empleando Solución de cloruro de potasio como blanco. Graficar las absorbancias de las Soluciones estándar de magnesio en función del contenido de magnesio en µg por ml trazando la línea recta que mejor se ajuste a los cuatro valores graficados. A partir del gráfico obtenido determinar la cantidad en µg de Mg por ml de Solu-

ción muestra. Calcular el porcentaje de Mg en la porción de Carbonato Sódico Hidrogenado empleada dividiendo este valor por 300: el límite es 0,004 %.

Cobre

Cuando en el rótulo se indique que el Carbonato Sódico Hidrogenado esté destinado a emplearse en hemodiálisis se debe proceder del siguiente modo.

[NOTA: las *Soluciones estándar* y la *Solución muestra* pueden modificarse, si fuera necesario, para obtener soluciones, de concentraciones apropiadas al intervalo lineal o de trabajo del instrumento.]

Ácido nítrico diluido - Diluir 40 ml de ácido nítrico a 1.000 ml con agua.

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de cobre, transferir a un matraz aforado de 1 litro, disolver en 20 ml de ácido nítrico, completar a volumen con ácido nítrico 0,2 N y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un segundo matraz aforado de 1 litro, completar a volumen con ácido nítrico 0,2 N y mezclar. Esta solución debe contener 10,0 µg de cobre por ml. Almacenar en un envase de polietileno.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 5,0 g de Carbonato Sódico Hidrogenado, transferir a un matraz aforado de plástico de 100 ml y agregar cuidadosamente 4 ml de ácido nítrico. Sonicar durante 30 minutos, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución mezcla - Agregar 20 µl de *Solución estándar* a 10,0 ml de *Solución muestra* y mezclar. Esta solución debe contener 0,02 µg de Cu por ml.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y la *Solución mezcla* en la línea de emisión del cobre a 324,7 nm empleando un equipo para espectrofotometría de absorción atómica (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*) con una lámpara de cobre de cátodo hueco y un horno eléctrico, empleando *Ácido nítrico diluido* como blanco. Graficar las absorbancias de la *Solución muestra* y la *Solución mezcla* en función del contenido de Cu agregado en µg por ml, trazar la línea que contenga los dos puntos y extrapolar hasta que intercepte el eje de las concentraciones. Determinar la cantidad, en el punto de intersección en µg de Cu por ml de la *Solución muestra*. Calcular la cantidad de Cu en la porción de Carbonato Sódico Hidrogenado en ensayo multiplicando este valor por 20: el límite es 1 µg por ml.

Límite de compuestos azufrados

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 2,0 g de Carbonato Sódico Hidrogenado, disolver en 20 ml de agua, evaporar a ebullición hasta 5 ml, agregar 1 ml de bromo (SR), evaporar a sequedad y enfriar. Disolver el residuo en 10 ml de ácido clorhídrico 3 N, evaporar a sequedad y enfriar. Disolver el residuo en 5 ml de ácido clorhídrico 3 N, evaporar a sequedad y enfriar. Disolver el residuo en 10 ml de agua y ajustar a pH 2 con ácido clorhídrico 3 N o hidróxido de amonio 6 N. Si fuera necesario filtrar la solución y lavar el filtrado con dos porciones de 2 ml de agua. Diluir a 20 ml con agua.

Solución estándar - A 30 ml de ácido sulfúrico 0,020 N agregar 1 ml de ácido clorhídrico 0,06 N y diluir a 20 ml con agua.

Procedimiento - Agregar 1 ml de cloruro de bario (SR) a la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, mezclar y dejar reposar durante 30 minutos. La turbidez de la *Solución muestra* debe ser menos intensa que la obtenida con la *Solución estándar*: no debe contener más de 0,015 %.

Sustancias insolubles

Pesar exactamente alrededor de 1 g de Carbonato Sódico Hidrogenado, disolver en 20 ml de agua: la disolución debe ser completa y la solución resultante debe ser límpida.

Determinación de aluminio <140>

Cuando en el rótulo se indique que el Carbonato Sódico Hidrogenado esté destinado a emplearse en hemodiálisis se debe proceder del siguiente modo.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Carbonato Sódico Hidrogenado, transferir a un matraz aforado de plástico de 100 ml y agregar con cuidado 4 ml de ácido nítrico. Sonicar durante 30 minutos, completar a volumen con agua y mezclar. No debe contener más 2 µg por gramo.

Límite de amoníaco

Pesar exactamente alrededor de 1 g de Carbonato Sódico Hidrogenado y calentar en un tubo de ensayo: no se debe desarrollar olor a amoníaco.

Límite de materia orgánica

Cuando en el rótulo se indique que el Carbonato Sódico Hidrogenado esté destinado a emplearse en hemodiálisis se debe proceder del siguiente modo.

Solución de sulfato de plata - Pesar exactamente alrededor de 22 g de sulfato de plata en 2 litros de ácido sulfúrico.

Solución indicadora - Pesar exactamente alrededor de 1,485 g de 1,10-fenantrolina y 695 mg de sulfato ferroso y disolver en agua para obtener 100 ml de solución.

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 850,3 mg de biftalato de potasio, ligeramente molido y secado a 120 °C durante 2 horas, transferir a un matraz aforado de 1 litro, diluir a volumen con agua y mezclar. Transferir 6,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, diluir a volumen con agua y mezclar. Esta solución debe contener el equivalente a

0,06 mg de materia orgánica por ml. Transferir 40,0 ml de esta solución a un balón de 500 ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 20 g de Carbonato Sódico Hidrogenado, transferir a un balón de 500 ml. Agregar 20 ml de agua y agitar por rotación. Con precaución, agregar 20 ml de ácido sulfúrico y mezclar por rotación. [Precaución: realizar esta operación bajo campana].

Blanco - Agregar 40 ml de agua a un balón de 500 ml.

Procedimiento - Proceder con la *Solución estándar*, la *Preparación muestra* y el *Blanco* del siguiente modo: agregar 1 g de sulfato mercúrico y aproximadamente 5 perlas de vidrio, enfriar el balón en un baño de hielo y agregar 5 ml de *Solución de sulfato de plata*. Mientras se mezcla suavemente por rotación en el balón en el baño de hielo, agregar 25,0 ml de dicromato de potasio 0,025 N (SV) y lentamente 70 ml de *Solución de sulfato de plata*. Adosar al balón un refrigerante y calentar a reflujo durante 2 horas. Dejar enfriar el balón durante 10 minutos y lavar el refrigerante con 50 ml de agua, recogiendo los líquidos de lavado en el balón. Agregar agua hasta obtener un volumen de aproximadamente 350 ml. Agregar 3 gotas de *Solución indicadora* y titular, a temperatura ambiente, con sulfato férrico amónico 0,07 N (SV) hasta que la solución cambie de azul verdoso a pardo rojizo. Calcular la cantidad en mg de materia orgánica en la *Preparación estándar*, por la fórmula siguiente:

$$8N(V_B - V_E)$$

en la cual N es la normalidad del sulfato férrico amónico (SV); V_B y V_E son los volúmenes en ml de sulfato férrico amónico 0,07 N (SV) consumido por el *Blanco* y la *Preparación estándar*, respectivamente. El sistema debe contener entre 2,328 y 2,424 mg. Calcular la cantidad en mg de materia orgánica en la porción de Carbonato Sódico Hidrogenado en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$8N(V_B - V_D)$$

en la cual V_D es el volumen en ml de sulfato férrico amónico 0,07 N (SV) consumido por la *Preparación muestra*: el límite es 0,01 %.

Límite de arsénico <540>

Método I.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 1,5 g de Carbonato Sódico Hidrogenado, disolver en 20 ml de ácido sulfúrico 7 N y agregar 35 ml de agua. Omitir el agregado de 20 ml de ácido sulfúrico 7 N especificado en *Procedimiento*. El límite es 2 µg por ml.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Una porción de 0,35 g no debe contener

más cloruro que el correspondiente a 1,48 ml de ácido clorhídrico 0,0010 N (0,015 %).

Límite de hierro <580>

Cuando en el rótulo se indique que el Carbonato Sódico Hidrogenado esté destinado a emplearse en hemodiálisis se debe proceder del siguiente modo.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 2,0 g de Carbonato Sódico Hidrogenado, transferir a un vaso de precipitados, y neutralizar con ácido clorhídrico, observando el volumen de ácido consumido. Transferir la solución así obtenida a un matraz aforado de 25 ml con la ayuda de agua.

Solución estándar - Transferir 1,0 ml de *Solución estándar de hierro* a un matraz aforado de 25 ml y agregar el mismo volumen de ácido clorhídrico empleado para la *Solución muestra*.

Solución blanco - Agregar el mismo volumen de ácido clorhídrico empleado para la *Solución muestra* a un tercer matraz aforado de 25 ml.

Procedimiento - Agregar 50 mg de persulfato de amonio y 2 ml de *Solución de tiocianato de amonio* a cada uno de los matraces con la *Solución estándar*, la *Solución muestra* y la *Solución blanco*, diluir a volumen con agua y mezclar. Determinar las absorbancias de la *Solución estándar* y la *Solución muestra* a la longitud de onda de máxima absorción aproximadamente 480 nm empleando un equipo para espectrofotometría, emplear la *Solución blanco* para llevar a cero la lectura del aparato: la absorbancia de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la de la *Solución estándar*: no debe contener más de 5 µg por g.

Límite de metales pesados <590>

Pesar exactamente alrededor de 4,0 g de Carbonato Sódico Hidrogenado y mezclar con 5 ml de agua y 19 ml de ácido clorhídrico 3 N, calentar a ebullición y mantener la temperatura durante 1 minuto. Agregar 1 gota de fenoltaleína (SR), luego agregar suficiente hidróxido de amonio 6 N gota a gota, hasta obtener un color rosado débil. Enfriar y diluir con agua a 25 ml: el límite es 5 µg por g.

Pérdida por secado <680>

Pesar exactamente alrededor de 4 g de Carbonato Sódico Hidrogenado, secar sobre gel de sílice durante 4 horas: no debe perder más de 0,25 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

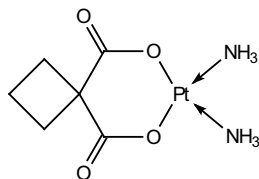
Pesar exactamente alrededor de 3 g de Carbonato Sódico Hidrogenado, mezclar con 100 ml de agua, agregar rojo de metilo (SR) y titular con ácido clorhídrico 1 N (SV). Agitando constantemente, agregar el ácido lentamente hasta que la solución se torne débil-

mente rosada. Calentar la solución hasta ebullición, enfriar y continuar la titulación hasta que el color rosado débil no desaparezca luego del calentamiento a ebullición. Cada ml de ácido clorhídrico 1 N equivale a 84,01 mg de NaHCO_3 .

ROTULADO

Indicar en el rótulo cuando el Carbonato Sódico Hidrogenado esté destinado a emplearse en hemodiálisis.

CARBOPLATINO



$C_6H_{12}N_2O_4Pt$ PM: 371,2 41575-94-4

Definición - Carboplatino es (SP-4-2)-Diamino[1,1-ciclobutanodicarboxilato (2-)-O,O'] platino. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_6H_{12}N_2O_4Pt$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino incoloro. Moderadamente soluble en agua; muy poco soluble en acetona y alcohol. Funde aproximadamente a 200 °C, con descomposición.

Sustancia de referencia - Carboplatino SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

Precaución - Evitar el contacto con la piel y mucosas. Carboplatino es citotóxico.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. En fase sólida.

Cristalinidad

Colocar partículas de Carboplatino en aceite mineral, sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas deben presentar birrefringencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

Determinación del pH <250>

Entre 5,0 y 7,0; determinado sobre una solución de aproximadamente 10 mg por ml.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,5 %. Emplear formamida anhidra como solvente.

Transmitancia

Preparar una solución de Carboplatino de aproximadamente 10 mg por ml. Determinar el porcentaje de transmitancia (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) en celdas de 1 cm a 440 nm, empleando agua como blanco: la transmitancia no debe ser menor de 97 %.

Materia insoluble en agua

Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Carboplatino, transferir a un vaso de precipitados de 150 ml, agregar 100 ml de agua y disolver agitando con una barra magnética durante 30 minutos. Filtrar al vacío, a un crisol previamente pesado. Lavar el vaso de precipitados con agua y transferir los líquidos de lavado al crisol. Secar a 130 ± 10 °C hasta peso constante: el residuo no debe ser mayor de 0,5 %.

Límite de ácido 1,1-ciclobutanodicarboxílico

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 220 nm y una columna de 30 cm x 4,0 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Reactivo A - Disolver 8,5 g de sulfato ácido de tetrabutilamonio en 80 ml de agua. Agregar 3,4 ml de ácido fosfórico y ajustar a pH 7,55 con hidróxido de sodio 10 N.

Fase móvil - Agregar 20 ml de *Reactivo A* a una mezcla de 880 ml de agua y 100 ml de acetonitrilo y mezclar. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de ácido 1,1-ciclobutanodicarboxílico en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg por ml. Transferir 2,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Carboplatino, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en *Fase móvil*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución de aptitud del sistema - Mezclar 1,0 ml de la *Solución estándar* con 1,0 ml de la *Preparación estándar*, preparada según se indica en *Valoración*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,65 para carboplatino y 1,0 para ácido 1,1-ciclobutanodicarboxílico; la eficiencia de la columna determinada a partir del pico del ácido 1,1-ciclobutanodicarboxílico no debe ser menor de 1.500 platos teóricos; la resolución *R* entre los picos de carboplatino y ácido 1,1-ciclobutanodicarboxílico no debe ser menor de 2,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 10 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo, volúmenes iguales (aproximadamente 100 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos del ácido 1,1-ciclobutanodicarboxílico. Calcular el porcentaje de ácido 1,1-ciclobutanodicarboxílico en la porción de Carboplatino en ensayo, en relación a las respuestas de los picos de ácido 1,1-ciclobutanodicarboxílico obtenidos a partir de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. No debe contener más de 0,5 %.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Diluir cuantitativamente un volumen de la *Preparación estándar*, preparada según se indica en *Valoración*, con agua para obtener una solución de aproximadamente 2,5 µg de Carboplatino SR-FA por ml.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* según se indica en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. La suma de las respuestas de todos los picos, a excepción de las de carboplatino y ácido 1,1-ciclobutanodicarboxílico, obtenidas a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor de 2 veces la respuesta del pico de carboplatino obtenida con la *Solución estándar* y ningún pico debe presentar una respuesta mayor que la del pico de carboplatino obtenido con la *Solución estándar*. No debe contener más de 0,25 % de ninguna impureza individual y la suma de todas las impurezas no debe ser mayor de 0,5 %.

Contenido de platino

[NOTA: limpiar perfectamente todo el material de vidrio con ácido nítrico y enjuagar con agua para impedir la formación de un espejo de platino]. Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Carboplatino, transferir a un vaso de precipitados de 600 ml, agregar 400 ml de agua y disolver lentamente con calentamiento hasta casi ebullición, sobre una placa calefactora con aislante, agitando con frecuencia con una varilla de vidrio. Cuando la disolución sea completa, retirar el aislante y calentar a ebullición durante aproximadamente 10 minutos. Retirar el vaso de precipitados de la placa calefactora, dejar enfriar durante 1 minuto sin agitar y filtrar a través de papel de filtro cuantitativo de porosidad fina, recolectando el filtrado en un vaso de precipitados de 600 ml, completando la transferencia al filtro con agua caliente. Lavar el

filtro con agua caliente. Colocar el vaso de precipitados con el filtrado y los líquidos de lavado combinados sobre una placa calefactora y evaporar hasta un volumen de aproximadamente 300 ml. Colocar una varilla de vidrio en el vaso de precipitados y calentar la solución hasta ebullición. Agregar lentamente en el centro del vaso de precipitados, gota a gota, 10,0 ml de hidrato de hidracina al 85 %. [Precaución - La hidracina es tóxica.] Agregar 2 gotas de hidróxido de sodio 10 N, calentar a ebullición durante 10 minutos para coagular el precipitado, enfriar y filtrar a través de papel de filtro cuantitativo, de porosidad media y libre de cenizas. Lavar el vaso de precipitados con agua caliente y verter los líquidos de lavado sobre el filtro. Limpiar el vaso de precipitados y la varilla de agitación con pequeños trozos de la misma clase de papel empleado para esta filtración y colocar éstos y el filtro que contiene el precipitado en un crisol de porcelana, previamente calcinado hasta peso constante. Secar sobre una placa calefactora cubierta con un aislante, aumentar lentamente la temperatura hasta carbonizar y someter a ignición durante 1 hora a 800 °C. Enfriar en un desecador y pesar nuevamente: el peso del platino obtenido se debe encontrar entre 52,0 y 53,0 % del Carboplatino en ensayo, calculado sobre la sustancia anhidra.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 230 nm y una columna de 30 cm × 4,0 mm con fase estacionaria constituida por una capa monomolecular de aminopropilsilano químicamente unido a un soporte de gel de sílice totalmente poroso, de 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo y agua (87:13). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Carboplatino SR-FA en agua y diluir con agua para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml. [NOTA: emplear esta solución dentro de las 2 horas de preparada].

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Carboplatino, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver y completar a volumen con agua y mezclar. [NOTA: emplear esta solución dentro de las 2 horas de preparada].

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de capacidad no debe ser menor de 3,0; la eficiencia de la columna no debe ser menor de 2.500 platos teóricos, el factor de asimetría

ía no debe ser mayor de 2,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,2 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_6H_{12}N_2O_4Pt$ en la porción de Carboplatino en ensayo.

CARBOXIMETILCELULOSA CÁLCICA

Definición - Carboximetilcelulosa Cálcica es la Sal de calcio del éter policarboximetilado de la celulosa y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o blanco-amarillento. Higroscópico. Prácticamente insoluble en acetona, alcohol, cloroformo y éter. Se hincha con agua para formar una suspensión. El pH de una suspensión obtenido por agitación de 1 g con 100 ml de agua esta comprendido entre 4,5 y 6,0.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Agitar completamente 100 mg de Carboximetilcelulosa Cálcica con 10 ml de agua, agregar 2 ml de hidróxido de sodio 1 N y dejar reposar durante 10 minutos [NOTA: conservar esta solución para los ensayos de *Identificación B y C*]. Transferir 1 ml de esta solución a un matraz de 5 ml y completar a volumen con agua. A una gota de la solución así obtenida agregar 0,5 ml de ácido cromotrópico (SR) y calentar en un baño de agua durante 10 minutos: debe desarrollar color rojo-púrpura.

B - Agitar 5 ml de la solución preparada en el ensayo de *Identificación A* con 10 ml de acetona: se debe formar un precipitado floculado blanco.

C - Agitar 5 ml de la solución preparada en el ensayo de *Identificación A* con 1 ml de cloruro férrico (SR): se debe formar un precipitado floculado pardo.

D - Someter a ignición 1 g de Carboximetilcelulosa Cálcica, disolver el residuo en una mezcla de agua y ácido acético 6 N (10:5) y filtrar si fuera necesario. Calentar a ebullición, dejar enfriar y neutralizar con hidróxido de amonio 6 N: la solución así obtenida debe responder a los ensayos para *Calcio* <410>.

Alcalinidad

Agitar 1,0 g de Carboximetilcelulosa Cálcica con 50 ml de agua recientemente hervida y enfriada y agregar 2 gotas de fenolftaleína (SR): no se debe desarrollar color rojo.

Determinación del residuo de ignición <270>

Entre 10,0 y 20,0 % determinado entre 450 y 550 °C. [NOTA: secar previamente la muestra.]

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Agitar 0,80 g de Carboximetilcelulosa Cálcica con 50 ml de agua, disolver en 10 ml de hidróxido de sodio 1 N y agregar agua hasta 100 ml (*Solución muestra*). Calentar 20 ml de *Solución muestra* con 10 ml de ácido nítrico 2 N en baño de agua hasta obtener un precipitado floculado, dejar enfriar, centrifugar y remover el sobrenadante. Lavar el precipitado con tres porciones de 10 ml de agua centrifugando cada vez. Combinar los sobrenadantes y los líquidos de lavado, completar con agua hasta 100 ml y mezclar: 25 ml de esta solución no debe contener más cloruro que el que corresponde a 0,20 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,36 %).

Sulfato - A 1 ml de ácido clorhídrico agregar 10 ml de la *Solución muestra* preparada en *Cloruro*, calentar en un baño de agua hasta obtener un precipitado floculado, dejar enfriar, centrifugar y remover el sobrenadante. Lavar el precipitado con tres porciones de 10 ml de agua centrifugando cada vez. Combinar los sobrenadantes y los líquidos de lavado, completar con agua hasta 100 ml y mezclar: 25 ml de esta solución no debe presentar más sulfato que el que corresponde a 0,21 ml de ácido sulfúrico 0,020 N (1,0 %).

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %, agregando 1 ml de una solución de clorhidrato de hidroxilamina al 20 % a la solución del residuo.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 10,0 % de su peso.

CARBOXIMETILCELULOSA SÓDICA

9004-32-4

Definición - Carboximetilcelulosa Sódica es la Sal sódica del éter policarboximetilado de la celulosa. Debe contener no menos de 6,5 por ciento y no más de 9,5 por ciento de sodio, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo o gránulos blancos o blanco-amarillentos. Higroscópico. Fácilmente dispersable en agua para formar una solución coloidal. Insoluble en alcohol, éter y mayoría de solventes orgánicos

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Agregar 1 g de Carboximetilcelulosa Sódica a 50 ml de agua en agitación constante y continuar la agitación hasta obtener una solución transparente [NOTA: conservar esta solución para el ensayo de *Identificación B*]. Transferir 1 ml de esta solución a un tubo de ensayo, agregar 1 ml de agua y 5 gotas de 1-naftol (SR). Inclinar el tubo y agregar cuidadosamente 2 ml de ácido sulfúrico para formar una fase: se debe desarrollar color rojo púrpura en la interfase.

B - A 5 ml de la solución obtenida en el ensayo de *Identificación A* agregar 5 ml de cloruro de bario (SR): se debe formar un precipitado fino y blanco.

C - Una porción de la solución obtenida en el ensayo de *Identificación A* debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

Determinación de la viscosidad <190>

Pesar exactamente una porción de Carboximetilcelulosa Sódica, calculada sobre la sustancia seca, para obtener 200 g de solución de carboximetilcelulosa de la concentración indicada en el rótulo para este ensayo. Transferir a un recipiente apropiado y previamente pesado, que contenga 180 ml de agua en agitación constante, continuar la agitación hasta obtener la porción completamente humectada y agregar suficiente cantidad de agua hasta obtener una mezcla de 200 g. Dejar reposar y agitar ocasionalmente hasta obtener para completar la solución. Ajustar a una temperatura de $25,0 \pm 0,2$ °C y determinar la viscosidad usando un viscosímetro rotatorio. La viscosidad de soluciones de 2 % o mayor concentración no debe ser menos de 80,0 %

ni más de 120,0 % de lo indicada en el rótulo. La viscosidad de soluciones menores de 2 % de concentración no debe ser menos de 75,0 % ni más de 140,0 % de lo indicada en el rótulo.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 10,0 % de su peso.

Determinación del pH <250>

Preparar una solución de Carboximetilcelulosa Sódica al 1 %: el pH debe estar comprendido entre 6,5 y 8,5.

Impurezas orgánicas volátiles <560>

Método I.

Límite de metales pesados <590>

Método II. Emplear 1,0 g de Carboximetilcelulosa Sódica. El límite es 20 ppm.

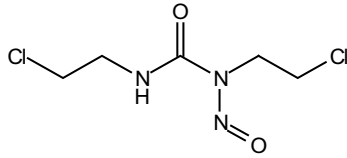
VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Carboximetilcelulosa Sódica, transferir a un recipiente apropiado, agregar 80 ml de ácido acético glacial y calentar en un baño a ebullición durante 2 horas. Dejar enfriar a temperatura ambiente y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) determinado el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 2,30 mg de Na.

ROTULADO

Indicar en el rótulo la viscosidad de Carboximetilcelulosa Sódica en concentraciones conocidas.

CARMUSTINA



$C_5H_9Cl_2N_3O_2$ PM: 214,1 154-93-8

Definición - Carmustina es *N,N'*-bis(2-Cloroetil)-*N*-nitrosourea. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_5H_9Cl_2N_3O_2$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo granular, amarillento. Muy soluble en cloruro de metileno; fácilmente soluble en alcohol; muy poco soluble en agua.

Sustancia de referencia - Impureza A de Carmustina SR-FA: 1,3-bis(2-cloroetil)urea.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto, en un refrigerador.

Precaución - Manipular con cuidado evitando su inhalación y el contacto con la piel.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. Proceder según se indica en *Identificación por medio de espectros de referencia*.

Límite de impureza A

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloruro de metileno y metanol (90:10).

Solución muestra - Disolver 100 mg de Carmustina en 5 ml de cloruro de metileno y mezclar.

Solución estándar A - Disolver 2 mg de Impureza A de Carmustina SR-FA en 10 ml de cloruro de metileno y mezclar.

Solución estándar B - Diluir 1 ml de la *Solución muestra* a 10 ml con cloruro de metileno. A 5 ml de esta solución agregar 5 ml de *Solución estándar A*.

Revelador 1 - Dietilamina.

Revelador 2 - Nitrato de plata (SR).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 2 μ l de la *Solución muestra* y 2 μ l de las *Soluciones estándar A* y *B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 1* y calentar a 125 °C durante 10 minutos. Dejar enfriar y pulverizar sobre la placa con *Revelador 2*. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 366 nm hasta que aparezcan manchas de color marrón oscuro: la mancha correspondiente a Impureza A de Carmustina en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar A* (1 %). El ensayo sólo es válido si el cromatograma obtenido con la *Solución estándar B* presenta dos manchas completamente separadas.

Determinación de agua <120>

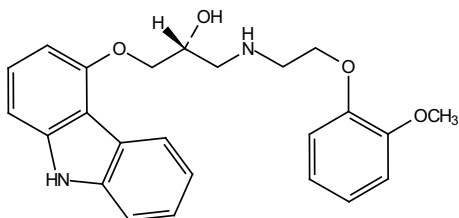
Titulación volumétrica directa. No más de 1 %, determinado sobre 0,5 g de Carmustina.

VALORACIÓN

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Carmustina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en 30 ml de alcohol absoluto, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 3,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Determinar la absorbancia de la *Preparación muestra* en una celda de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 230 nm, empleando agua como blanco. Calcular el contenido de $C_5H_9Cl_2N_3O_2$ empleando 270 como valor de coeficiente de extinción específica $E(1\%, 1\text{ cm})$.

CARVEDILOL



C₂₄H₂₆N₂O₄

PM: 406,5

72956-09-3

Definición - Carvedilol es (2RS)-1-(9H-Carbazol-4-iloxi)-3-[[2-(2-metoxifenoxi)etil]amino]2-propanol. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de C₂₄H₂₆N₂O₄, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Poco soluble en alcohol; prácticamente insoluble en agua y en ácidos diluidos. Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Impureza C de Carvedilol SR-FA: (2RS)-1-[bencil[2-(2-metoxifenoxi)etil]amino]3-(9H-carbazol-4-iloxi)2-propanol.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. Proceder según se indica en *Identificación por medio de espectros de referencia*. [NOTA: si el espectro obtenido presenta diferencias con respecto al espectro de referencia, disolver la muestra en 2-propanol, evaporar a sequedad y registrar nuevamente el espectro empleando el residuo].

Pérdida por secado <680>

Secar en estufa entre 100 y 105 °C hasta peso constante: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 240 nm y una columna de 12,5 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. Mantener a temperatura aproximadamente a 55 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución de fosfato monobásico de potasio - Disolver 1,77 g de fosfato monobásico de potasio en agua y diluir a 650 ml. Ajustar a pH 2,0 con ácido fosfórico.

Fase móvil - **Solución de fosfato monobásico de potasio** y acetonitrilo (65:35). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud de sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Carvedilol, transferir a un matraz aforado de 25 ml, disolver y completar a volumen con **Fase móvil**.

Solución estándar A - Transferir 1,0 ml de **Solución muestra** a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con **Fase móvil** y mezclar. Transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con **Fase móvil** y mezclar.

Solución estándar B - Pesar exactamente alrededor de 5 mg de Impureza C de Carvedilol SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en 5 ml de **Solución muestra**, completar a volumen con **Fase móvil** y mezclar.

Solución estándar C - Transferir 1 ml de **Solución estándar B** a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con **Fase móvil**. Transferir 2,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con **Fase móvil** y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la **Solución estándar B** y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de carvedilol y de impureza C de carvedilol no debe ser menor de 17; los tiempos de retención relativos a carvedilol deben ser aproximadamente 0,6 para impureza A de carvedilol [1-[[9-[2-hidroxi-3-[[2-2(metoxifenoxi)etil]amino]propil]-9H-carbazol-4-il]oxi]-3-[[2-(2-metoxifenoxi)etil]amino]2-propanol], 3,5 para impureza C de carvedilol y 6,7 para impureza B de carvedilol [1,1'-[[2-(metoxifenoxi)etil]nitrilo]bis[3-(9H-carbazol-4-iloxi)2-propanol]].

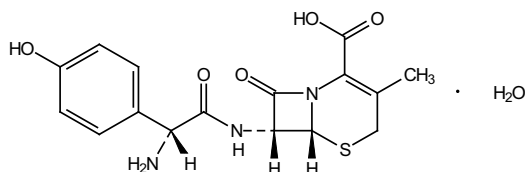
Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la **Solución muestra**, la **Solución estándar A**, la **Solución estándar B** y la **Solución estándar C**, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos durante ocho veces el tiempo de retención del pico de carvedilol. Para el cálculo del contenido de impureza A multiplicar la respuesta del pico de la impureza A de carvedilol por 2. La respuesta del pico de impureza C de carvedilol no debe ser mayor de dos veces la respuesta del pico correspondiente obtenido a partir de la **Solución estándar C** (0,02 %); la respuesta del pico de impu-

reza A de carvedilol no debe ser mayor de dos veces la respuesta del pico principal obtenido a partir de la *Solución estándar A* (0,2 %); ninguna otra impureza debe ser mayor que la respuesta del pico principal obtenido a partir de la *Solución estándar A* (0,1 %); la suma de todos los picos, excepto el pico principal, no debe ser mayor a cinco veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (0,5 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta inferior a la del pico principal obtenido con la *Solución estándar C* (0,01 %).

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 350 mg de Carvedilol, disolver en 60 ml de ácido acético glacial y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente (ver 780. *Volumetría*) Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 40,65 mg de $C_{24}H_{26}N_2O_4$.

CEFADROXILO



$C_{16}H_{17}N_3O_5S \cdot H_2O$	PM: 381,4	66592-87-8
Hemihidrato	PM: 372,4	119922-85-9
Anhidro	PM: 363,4	50370-12-2

Definición - Cefadroxilo es Monohidrato de ácido [6*R*-[6 α ,7 β (*R*)-7-(*R**)]]-7-[[amino-(4-hidroxifenil)acetil]amino]-3-metil-8-oxo-5-tia-1-aza-biciclo[4.2.0]oct-2-eno-2-carboxílico. Debe contener no menos de 950 μ g y no más de 1.050 μ g de $C_{16}H_{17}N_3O_5S$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Poco soluble en agua; prácticamente insoluble en alcohol, cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Cefadroxilo SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +165,0° y +178,0°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en agua.

Determinación del pH <250>

Entre 4,0 y 6,0, determinado sobre una suspensión de aproximadamente 50 mg por ml.

Cristalinidad

Colocar partículas de Cefadroxilo en aceite mineral, sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico de polarización: las partículas deben presentar birrefringencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 4,2 y 6,0 %. La forma hemihidratada debe contener entre 2,4 y 4,5 %.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromato-*

grafía) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo, alcohol, agua y ácido fórmico (14:5:5:1).

Solvente - Alcohol, agua y ácido clorhídrico 2,4 N (75:22:3).

Solución muestra - Disolver una cantidad exactamente pesada de Cefadroxilo en *Solvente* para obtener una solución de aproximadamente 25 mg por ml.

Solución estándar A - Diluir 1,0 ml de la *Solución muestra* a 100 ml con *Solvente* y mezclar.

Solución estándar B - Disolver cantidades exactamente pesadas de ácido 7-aminodesacetoxicefalosporánico y *D*- α -4-hidroxifenilglicina en *Solvente* para obtener una solución de aproximadamente 0,25 mg de cada una por ml.

Solución de resolución - Mezclar 1,0 ml de *Solución muestra* y 1,0 ml de *Solución estándar B*.

Revelador - Emplear una solución preparada disolviendo 3 g de ninhidrina en 100 ml de una solución de metabisulfito de sodio al 4,55 %.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 2 μ l de la *Solución muestra*, 2 μ l de las *Soluciones estándar A* y *B* y 4 μ l de la *Solución de resolución*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*, dejar secar y examinar los cromatogramas: ninguna mancha secundaria en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* que corresponda al ácido 7-aminodesacetoxicefalosporánico o a *D*- α -4-hidroxifenilglicina debe ser más intensa que la mancha correspondiente obtenida con la *Solución estándar B* (1,0 %); a excepción de la mancha principal y las correspondientes al ácido 7-aminodesacetoxicefalosporánico o *D*- α -4-hidroxifenilglicina, ninguna mancha debe ser más intensa que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A* (1,0 %). El ensayo sólo es válido si el cromatograma obtenido a partir de la *Solución de resolución* presenta tres manchas completamente separadas.

Límite de dimetilnilina <570>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 230 nm y una columna de 25 cm \times 4 mm con fase estacionaria constituida por

octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Solución reguladora de pH 5,0 - Disolver 13,6 g de fosfato monobásico de potasio en agua para obtener 2 litros de solución. Ajustar a pH 5,0 con hidróxido de potasio 10 N y mezclar.

Fase móvil - Solución reguladora de pH 5,0 y acetonitrilo (960:40). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Cefadroxilo SR-FA en *Solución reguladora de pH 5,0* para obtener una solución de aproximadamente 1,06 mg por ml. Esta solución contiene el equivalente a 1.000 μg de cefadroxilo ($\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$) por ml. [NOTA: preparar esta solución en el día de su uso.]

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 212 mg de Cefadroxilo, transferir a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con *Solución reguladora de pH 5,0* y agitar mecánicamente durante 5 minutos hasta disolución. [NOTA: preparar esta solución en el día de su uso.]

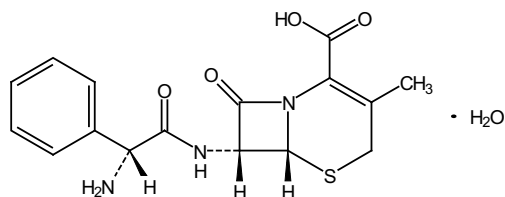
Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de capacidad k' debe estar comprendido entre 2,0 y 3,5; la eficiencia de la columna para el pico de cefadroxilo no debe ser menor de 1.800 platos teóricos; el factor de asimetría para el pico de cefadroxilo no debe ser mayor de 2,2; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$ en la porción de Cefadroxilo en ensayo.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si Cefadroxilo es hemihidrato o anhidro.

CEFALEXINA



C₁₆H₁₇N₃O₄S · H₂O PM: 365,4 23325-78-2

Anhidra PM: 347,4 15686-71-2

Definición - Cefalexina es el Ácido [6*R*-[6 α ,7 β (*R**)]-7-[(aminofenilacetil)amino]-3-metil-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-eno-2-carboxílico, monohidrato. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de C₁₆H₁₇N₃O₄S, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Poco soluble en agua; prácticamente insoluble en alcohol, cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Cefalexina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>. El espectro de absorción ultravioleta de una solución de Cefalexina 1 en 50.000 debe presentar máximos y mínimos a las mismas longitudes de onda que una solución similar de Cefalexina SR-FA. La absorptividad, calculada sobre la sustancia anhidra, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 262 nm, debe estar comprendida entre 95,0 y 104,0 % de la de la Cefalexina SR-FA, considerando la potencia de la *Sustancia de Referencia*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +149° y +158°, sobre la sustancia anhidra.

Solución muestra: 5 mg por ml, en Solución reguladora de ftalato neutralizada pH 4,4 (ver *Soluciones reguladoras* en *Soluciones*).

Cristalinidad

Colocar partículas de Cefalexina en aceite mineral sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas deben presentar birrefringencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

gencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

Determinación del pH <250>

Entre 4,0 y 5,5; determinado sobre una suspensión acuosa de aproximadamente 5,0 mg por ml.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 4,0 y 8,0 %.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Proceder según se indica en *Valoración*, excepto que el caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución A - Disolver 1,0 g de 1-pentanosulfonato de sodio en una mezcla de 1 litro de agua y 15 ml de trietilamina. Ajustar a pH 2,5 ± 0,1 con ácido fosfórico.

Solución B - Disolver 1,0 g de 1-pentanosulfonato de sodio en una mezcla de 300 ml de agua y 15 ml de trietilamina. Ajustar a pH 2,5 ± 0,1 con ácido fosfórico, agregar 350 ml de acetonitrilo, 350 ml de metanol y mezclar.

Fase móvil - Emplear mezclas variables de *Solución A* y *Solución B*. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*). Programar el cromatógrafo del siguiente modo:

Tiempo (minutos)	Solución A (%)	Solución B (%)	Etapas
0-1	100	0	Isocrático
1-33,3	100→0	0→100	Gradiente lineal
33,3-34,3	0	100	Isocrático

Diluyente - Disolver 18 g de fosfato monobásico de potasio en 1 litro de agua.

Solución estándar A - Disolver una cantidad exactamente pesada de Cefalexina SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,08 mg por ml.

Solución estándar B - Disolver una cantidad exactamente pesada de Cefalexina SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,16 mg por ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Cefalexina, transferir a un matraz aforado de 5 ml, disolver en *Diluyente*, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución estándar A*, la *Solución estándar B* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos de cefalexina en el cromatograma obtenido a partir de las *Soluciones estándar A* y *B* y de todos los picos, distintos al de cefalexina, en el cromatograma obte-

nido a partir de la *Solución muestra*. Graficar las respuestas de los picos de cefalexina obtenidos a partir de las *Soluciones estándar A y B* en función de la concentración en mg por ml, calculada sobre la sustancia anhidra. Hallar la ecuación de la recta que mejor ajuste entre estos los dos puntos y el cero. A partir de la ecuación de la recta y de las respuestas de los picos obtenidos con la *Solución muestra*, determinar la concentración en mg por ml de cada sustancia relacionada en el cromatograma de la *Solución muestra*. Calcular el porcentaje de cada sustancia relacionada. No debe contener más de 1,0 % de ninguna sustancia relacionada individual; y la suma de todas las sustancias relacionadas no debe ser mayor de 5,0 %.

Límite de dimetilanilina <570>

Cumple con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro, de baja acidez. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Solución de fosfato - Disolver 13,6 g de fosfato monobásico de potasio en 800 ml de agua y completar a 1 litro con el mismo solvente.

Fase móvil - Agua, *Solución de fosfato*, acetonitrilo y metanol (83:10:5:2). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

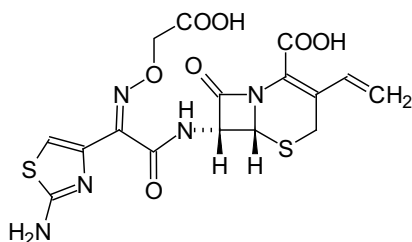
Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Cefalexina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en agua, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Cefalexina, transferir a un matraz aforado de 250 ml, disolver en agua, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{16}H_{17}N_3O_4S$ en la porción de Cefalexina en ensayo.

CEFIXIMA



$C_{16}H_{15}N_5O_7S_2 \cdot 3H_2O$ PM: 507,5 79350-37-1

Definición - Cefixima es Ácido [6R-[6 α ,7 β (Z)]]-7-[[2-amino-4-tiazolil][(carboximetoxi)imino]acetil]amino]-3-etenil-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4,2,0]octo-2-eno-2-carboxílico. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$, calculada sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Ligeramente higroscópico. Soluble en metanol; moderadamente soluble en etanol; poco soluble en agua; prácticamente insoluble en acetato de etilo.

Sustancia de referencia - Cefixima SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

[NOTA: si los espectros obtenidos presentan diferencias, disolver por separado la sustancia en ensayo y la *Sustancia de referencia* en metanol, evaporar hasta sequedad y registrar nuevamente los espectros sobre los residuos].

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico correspondiente a cefixima en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución estándar*.

C - Pesar alrededor de 2 mg de Cefixima y colocarlos en un tubo de ensayo. Humedecer con 0,05 ml de agua y agregar 2 ml de ácido sulfúrico-formaldehído (SR). Mezclar por rotación: la solución debe presentar color amarillo. Colocar el tubo de ensayo en un baño de agua durante 1 minuto: se debe desarrollar color naranja.

Determinación del pH <250>

Entre 2,6 y 4,1; determinado sobre una solución de Cefixima de aproximadamente 0,05 mg por ml, en agua libre de dióxido de carbono.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 9,0 y 12,0 %; determinada sobre 200 mg.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %; determinado sobre 1,0 g.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar A y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Transferir 1,0 ml de la *Preparación estándar A* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* preparada según se indica en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas durante al menos tres veces el tiempo de retención del pico principal y medir la respuestas de todos los picos. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ningún pico, a excepción del pico principal, debe presentar una respuesta mayor que la mitad de la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (0,5 %), la suma de las respuestas de todos los picos, a excepción del pico principal, no debe ser mayor que tres veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (3,0 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor de 0,1 veces la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar*.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 12,5 cm \times 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μ m de diámetro. Mantener la columna aproximadamente a 40 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución de hidróxido de tetrabutilamonio - Disolver 8,2 g de hidróxido de tetrabutilamonio en agua y diluir a 800 ml con el mismo solvente. Ajustar a pH 6,5 con ácido fosfórico diluido y diluir a 1 litro con agua.

Fase móvil - *Solución de hidróxido de tetrabutilamonio* y acetonitrilo (75:25). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar A - Pesar exactamente alrededor de 25,0 mg de Cefixima SR-FA, transferir a un matraz aforado de 25 ml, disolver con *Fase*

móvil, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

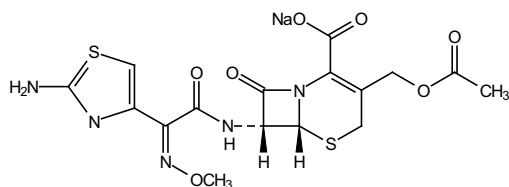
Preparación estándar B - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Cefixima SR-FA y disolver en 10 ml de agua. Calentar en baño de agua durante 45 minutos, enfriar e inyectar de inmediato.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 25,0 mg de Cefixima, transferir a un matraz aforado de 25 ml, disolver con *Fase móvil*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar B* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de cefixima y el isómero *E* debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación estándar A* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad en porcentaje de $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$ en la porción de Cefixima en ensayo.

CEFOTAXIMA SÓDICA



$C_{16}H_{16}N_5NaO_7S_2$ PM: 477,5 64485-93-4

Definición - Cefotaxima Sódica es la sal Sódica del ácido [6R-[6 α ,7 β (Z)]]-3-(acetiloxi)metil-7-[[2-amino-4-tiazolil](metoxiimino)acetil]amino]-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-eno-2-carboxílico. Debe contener no menos de 96,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{16}H_{16}N_5NaO_7S_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o amarillo pálido. Higroscópico. Fácilmente soluble en agua; poco soluble en metanol; prácticamente insoluble en solventes orgánicos.

Sustancia de referencia - Cefotaxima Sódica SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

C - Una solución de Cefotaxima Sódica debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

Aspecto de la solución

Transferir 2,5 g de Cefotaxima Sódica a un matraz aforado de 25 ml, disolver en agua libre de dióxido de carbono, completar a volumen con el mismo solvente, mezclar y examinar inmediatamente: la solución debe ser límpida. Determinar la absorbancia de esta solución (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) a 430 nm, en una celda de 1 cm, empleando agua libre de dióxido de carbono como blanco: la absorbancia no debe ser mayor de 0,20. Transferir 10 ml de esta solución a un tubo de ensayo, agregar 1 ml de ácido acético glacial, mezclar y examinar inmediatamente: la solución debe ser límpida.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 6,5; determinado sobre una solución 1 en 10.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre + 58° y + 64°.

Solución muestra: 10 mg por ml.

Pérdida por secado <680>

Secar entre 100 y 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 3,0 % de su peso.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico, Solución reguladora de fosfato pH 7,0, Fase móvil y Preparación estándar A - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Diluir 1,0 ml de la *Preparación estándar A* a 100 ml con *Fase móvil*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas durante al menos ocho veces el tiempo de retención del pico principal y medir las respuestas de todos los picos. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta de ningún pico, a excepción del pico principal, debe ser mayor que la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (1,0 %); y la suma de las respuestas de todos los picos no debe ser mayor que tres veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (3,0 %).

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que Cefotaxima Sódica es estéril no debe contener más de 0,20 Unidades de Endotoxina por mg de cefotaxima.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que Cefotaxima Sódica es estéril debe cumplir con los requisitos según se indica en *Método de filtración por membrana*.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 235 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución reguladora de fosfato pH 7,0 - Disolver 3,5 g de fosfato monobásico de potasio y 11,6 g de fosfato dibásico de sodio en 1 litro de agua y ajustar a pH 7,0.

Fase móvil - Solución reguladora de fosfato pH 7,0 y metanol (100:18). Filtrar y desgasificar.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Cefotaxima Sódica SR-FA, transferir a un matraz aforado de 25 ml, disolver en Fase móvil, completar a volumen con Fase móvil y mezclar.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Cefotaxima Sódica, transferir a un matraz aforado de 25 ml, disolver en Fase móvil, completar a volumen con Fase móvil y mezclar.

Solución de resolución - A 4,0 ml de Preparación muestra, agregar 1,0 ml de ácido clorhídrico diluido y calentar a 40 °C durante 2 horas. A esta solución agregar 5,0 ml de Solución reguladora de fosfato pH 6,6 y 1,0 ml de hidróxido de sodio al 8,5 %.

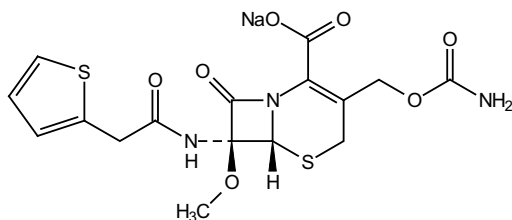
Aptitud del sistema (ver 100. Cromatografía) - Cromatografiar la Solución de resolución y registrar las respuestas de los picos según se indica en Procedimiento: el ensayo solo es válido si el pico de cefotaxima eluye como segundo pico principal y la resolución R entre los dos picos principales no es menor de 3,5. Cromatografiar la Preparación estándar y registrar las respuestas de los picos según se indica en Procedimiento: el factor de asimetría para el pico de cefotaxima no debe ser mayor de 2; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la Preparación estándar y la Preparación muestra, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad en porcentaje de $C_{16}H_{16}N_5NaO_7S_2$ en la porción de Cefotaxima Sódica en ensayo.

ROTULADO

Cuando Cefotaxima Sódica esté destinada a formas farmacéuticas de administración parenteral, indicar en el rótulo que es estéril.

CEFOXITINA SÓDICA



$C_{16}H_{16}N_3NaO_7S_2$ PM: 449,4 33564-30-6

Definición - Cefoxitina Sódica es la sal Sódica del ácido (6*R*-*cis*)-3-[[[aminocarbonil]oxi]metil]-7-metoxi-8-oxo-7-[(2-tienilacetil)amino]-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-eno-2-carboxílico. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{16}H_{16}N_3NaO_7S_2$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Muy higroscópico. Muy soluble en agua; soluble en metanol; moderadamente soluble en alcohol; prácticamente insoluble en éter.

Sustancia de referencia - Cefoxitina Sódica SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases herméticos, en un lugar fresco.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar A*.

C - Una solución de Cefoxitina Sódica (1 en 20) debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

Aspecto de la solución

Transferir 2,5 g de Cefoxitina Sódica a un matraz aforado de 25 ml, disolver en agua libre de dióxido de carbono, completar a volumen con el mismo solvente, mezclar y examinar inmediatamente: la solución debe ser límpida.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +206° y +214° calculada sobre la sustancia anhidra.

Solución muestra: 10 mg de Cefoxitina Sódica por ml, en metanol.

Determinación del pH <250>

Disolver 250 mg de Cefoxitina Sódica en agua libre de dióxido de carbono y diluir a 25 ml con el mismo solvente. Diluir 2 ml de esta solución a 20 ml con agua libre de dióxido de carbono. El pH debe estar comprendido entre 4,2 y 7,0.

Absorbancia

Disolver 100 mg de Cefoxitina Sódica en agua y diluir a 100,0 ml con el mismo solvente. Transferir 2,0 ml de esta solución a un matraz de 100 ml y completar a volumen con una solución de 42 mg de bicarbonato de sodio por ml. Examinar entre 220 y 350 nm (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*): debe presentar un máximo de absorción a 236 nm y un máximo de absorción a 262 nm. El coeficiente de extinción específica $E(1\%, 1\text{ cm})$ a 262 nm debe estar comprendido entre 190 y 210, con respecto a la sustancia anhidra.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 1,0%; determinada sobre 500 mg.

Pureza Cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, que contenga aproximadamente 13% de sulfato de calcio hemihidratado, con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo, acetona, ácido acético glacial y agua (50:20:10:10).

Solución muestra - Disolver 250 mg de Cefoxitina Sódica en agua y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar - Transferir 0,5 ml de la *Solución muestra* a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 μ l de la *Solución muestra* y 5 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Dejar secar al aire y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm: ninguna mancha secundaria en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser más intensa que la mancha obtenida con la *Solución estándar* (0,5%).

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que Cefoxitina Sódica está destinada a la preparación de formas farmacéuticas parenterales no debe contener más de 0,13 Unidades de Endotoxinas por mg de cefoxitina.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que Cefoxitina Sódica está destinada a la preparación de formas farmacéuticas parenterales, debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos equipado con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, acetonitrilo y ácido acético glacial (81:19:1). Filtrar y degasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar A - Pesar exactamente alrededor de 25,0 mg de Cefoxitina Sódica SR-FA, transferir a un matraz aforado de 25 ml, disolver en agua y completar a volumen con el mismo solvente.

Preparación estándar B - Pesar exactamente alrededor de 20,0 mg de ácido 2-(2-tienil)acético, transferir a un matraz aforado de 25 ml, disolver en agua y completar a volumen con el mismo solvente.

Preparación estándar C - Mezclar 1,0 ml de *Preparación estándar A* con 5,0 ml de *Preparación estándar B*.

Preparación muestra - Disolver 25,0 mg de Cefoxitina Sódica en agua y diluir a 25,0 ml con el mismo solvente.

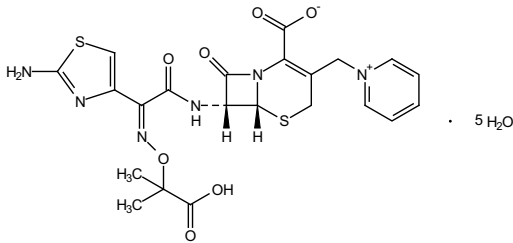
Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar C* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los dos picos principales debe ser mayor de 3,5. Cromatografiar la *Preparación estándar A* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar A* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad en porcentaje de $C_{16}H_{16}N_3NaO_7S_2$ en la porción de Cefoxitina Sódica en ensayo.

ROTULADO

Indicar en el rótulo cuando corresponda que Cefoxitina Sódica es estéril y apirógena.

CEFTAZIDIMA



$C_{22}H_{22}N_6O_7S_2 \cdot 5H_2O$ PM: 636,7 78439-06-2

Anhidro

PM: 546,6

Definición - Cefprozil es [6R-[6 α ,7 β (Z)]-1-[[7-[[2-amino-4-tiazolil] [(1-carboxi-1-metiletoxi) imino] acetil] amino]-2-carboxi-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-3-il] metil] piridinio, pentahidrato. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{22}H_{22}N_6O_7S_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Soluble en álcalis y dimetilsulfóxido; poco soluble en dimetilformamida, metanol y agua; insoluble en acetona, alcohol, cloroformo, dioxano, éter, acetato de etilo y tolueno.

Sustancias de referencia - Cefprozil Pentahidrato SR-FA. Delta 3-cefprozil SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. En fase sólida.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Determinación del pH <250>

Entre 3,0 y 4,0, determinado en una solución de aproximadamente 5 mg por ml.

Cristalinidad

Colocar partículas de Cefprozil en aceite mineral, sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas presentan birrefringencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

Pérdida por secado <680>

Secar aproximadamente 300 mg de Cefprozil, exactamente pesados, al vacío a una presión no mayor de 5 mm Hg a 60 °C durante 3 horas: debe perder entre 13,0 y 15,0 % de su peso.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indica que Cefprozil es estéril, debe cumplir con los requisitos en *Método de filtración por membrana*, empleando *Solución A* con el agregado de 10 g de bicarbonato de sodio cada 1 litro de *Solución A*, antes de la esterilización.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indica que Cefprozil es estéril, no debe contener más de 0,1 Unidades de Endotoxina por mg de Cefprozil.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 15 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Solución reguladora de pH 7 - Transferir 42,59 g de fosfato dibásico de sodio anhidro y 27,22 g de fosfato monobásico de potasio a un matraz aforado de 1 litro, disolver con agua, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Fase móvil - Mezclar 40 ml de acetonitrilo y 200 ml de *Solución reguladora de pH 7* en un matraz aforado de 2 litros, completar a volumen con agua y mezclar. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación madre del estándar - Pesar exactamente alrededor de 29 mg de Cefprozil SR-FA, transferir a un matraz aforado de 25 ml que contenga 2,5 ml de *Solución reguladora de pH 7* y agitar para disolver. Completar a volumen con agua y mezclar. [NOTA: proteger esta solución de la luz].

Preparación estándar - Inmediatamente antes de la cromatografía, transferir 5,0 ml de *Solución madre del estándar* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con agua y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 100 μ g de Cefprozil por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 115 mg de Cefprozil, transferir a un matraz aforado de 100 ml que contenga 10,0 ml de *Solución reguladora de pH 7* y agitar para disolver. Completar a volumen con agua y mezclar. [NOTA: proteger esta solución de la luz]. Inmediatamente

antes de la cromatografía, transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, diluir a volumen con agua y mezclar.

Solución de resolución - Preparar una solución de Delta 3-ceftazidima SR-FA en *Solución reguladora de pH 7* de aproximadamente 0,1 mg por ml. Inmediatamente antes de la cromatografía, mezclar 1 ml de esta solución con 8 ml de agua y 1 ml de *Solución madre del estándar*.

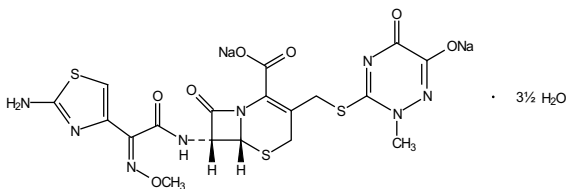
Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de ceftazidima y de delta-3-ceftazidima no debe ser menor de 2,0. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría para el pico de ceftazidima no debe ser menor de 0,75 ni mayor de 1,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{22}H_{22}N_6O_7S_2$ en la porción de Cefotaxima en ensayo.

ROTULADO

Cuando la Cefotaxima esté destinada a la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral u otras formas farmacéuticas estériles, indicar en el rótulo que es estéril.

CEFTRIAJONA SÓDICA



$C_{18}H_{16}N_8Na_2O_7S_3 \cdot 3\frac{1}{2}H_2O$ PM: 661,6 104376-79-6

Anhidro PM: 598,6

Definición - Ceftriaxona Sódica es la Sal sódica del ácido [6R-[6 α ,7 β (Z)]]-7-[[2-amino-4-tiazolil(metoxiimino)acetil]amino]-8-oxo-3-[[[(1,2,5,6-tetrahydro-2-metil-5,6-dioxo-1,2,4-triazin-3-il)tio]metil]-5-tia-1-azobiciclo[4.2.0]oct-2-eno-2-carboxílico. Debe contener no menos de 96,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{18}H_{16}N_8Na_2O_7S_3 \cdot 3\frac{1}{2}H_2O$ calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino casi blanco o amarillo pálido. Ligeramente higroscópico. Fácilmente soluble en agua; moderadamente soluble en metanol; muy poco soluble en alcohol.

Sustancias de referencia - Ceftriaxona Sódica SR-FA. Impureza A de Ceftriaxona Sódica SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* debe ser similar al obtenido con la *Preparación estándar*.

C - Debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 6,0 y 8,0; determinado sobre una solución 1 en 10.

Cristalinidad

Colocar partículas de Ceftriaxona Sódica en aceite mineral, sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas deben presentar birrefringencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 8,0 y 11,0 %.

Sustancias Relacionadas

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución de resolución y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 30 mg de Ceftriaxona Sódica, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en *Fase móvil*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Solución estándar - Transferir 1,0 ml de la *Solución muestra* a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, registrar los cromatogramas durante al menos 2 veces el tiempo de retención de ceftriaxona y medir la respuesta de todos los picos. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ningún pico, a excepción del pico principal, debe presentar una respuesta mayor que la del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (1,0 %). La suma de las respuestas de todos los picos, a excepción del pico principal, no debe ser mayor que cuatro veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (4,0 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor de 0,1 vez la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar*.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que la Ceftriaxona Sódica es estéril, debe cumplir con los requisitos según se indica en *Método de filtración por membrana*.

Ensayos de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que la Ceftriaxona Sódica es estéril no debe contener más de 0,20 unidades de endotoxina por mg de ceftriaxona.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Solución A - Transferir 0,908 g de fosfato dibásico de potasio a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a volumen con agua.

Solución B - Transferir 2,38 g de fosfato monobásico de potasio a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a volumen con agua.

Solución reguladora de pH 7,0 - Mezclar 38,9 ml de *Solución A* y 61,1 ml de *Solución B*. Ajustar a pH $7,0 \pm 0,1$ con ácido fosfórico o hidróxido de potasio 10 N.

Solución reguladora de pH 5,0 - Transferir 20,17 g de ácido cítrico a un matraz aforado de 1 litro, disolver en 800 ml de agua, ajustar a pH $5,0 \pm 0,1$ con solución de hidróxido de sodio al 42 % y completar a volumen con agua.

Fase móvil - Disolver 2 g de bromuro de tetradecilamonio y 2 g de bromuro de tetraheptilamonio en una mezcla de 500 ml de acetonitrilo, 440 ml de agua, 55 ml de *Solución reguladora de pH 7,0* y 5 ml de *Solución reguladora de pH 5,0*. Filtrar y desgaseificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 30 mg de Ceftriaxona Sódica, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en *Fase móvil*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Ceftriaxona Sódica SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,3 mg por ml.

Solución de resolución - Pesar exactamente alrededor de 5 mg de Ceftriaxona Sódica SR-FA y 5 mg de Impureza A de Ceftriaxona Sódica SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en *Fase móvil*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

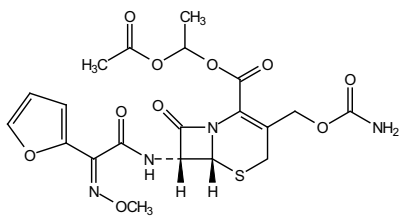
Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* durante aproximadamente 2 veces el tiempo de retención de ceftriaxona y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de ceftriaxona sódica y de Impureza A de ceftriaxona sódica no debe ser menor de 3.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el contenido en porcentaje de $C_{18}H_{16}N_8Na_2O_7S_3$ en la porción de Ceftriaxona Sódica en ensayo.

ROTULADO

Cuando Ceftriaxona Sódica esté destinada a la preparación de formas farmacéuticas inyectables, indicar en el rótulo que es estéril.

CEFUROXIMA AXETILO



y epímero

C₂₀H₂₂N₄O₁₀S PM: 510,5 64544-07-6

Definición - Cefuroxima Axetilo es [6*R*-[6 α ,7 β (*Z*)]]-3-[[[(aminocarbonil)oxi]metil]-7-[[2-furanil(metoxiimino)acetil]amino]-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-eno-2-carboxilato-1-acetoxietilo. Debe contener no menos de 96,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de una mezcla de los diastereoisómeros amorfos de C₂₀H₂₂N₄O₁₀S, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo amorfo blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en acetona; soluble en cloroformo, acetato de etilo y metanol; poco soluble en alcohol absoluto; insoluble en agua y éter.

Sustancia de referencia - Cefuroxima Axetilo SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Preparación estándar D*.

Cristalinidad

Colocar partículas de Cefuroxima Axetilo en aceite mineral, sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas deben ser amorfas y no deben presentar birrefringencia o posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 1,5 %.

Sustancias relacionadas

Proceder según se indica para *Valoración*. Calcular el porcentaje de sustancias relacionadas a partir de las respuestas de los picos obtenidos en el cromatograma de la *Preparación muestra*. La suma de las respuestas de los picos correspondientes a los isómeros *E*, localizados por comparación a iguales tiempos de retención en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación estándar C*, no debe ser mayor de 1,0 %; la suma de las respuestas de los picos correspondientes a los Δ^3 isómeros, localizados por comparación a iguales tiempos de retención en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación estándar B*, no debe ser mayor de 1,5 %; la respuesta de ninguna otra impureza individual debe ser mayor de 0,5 % y la suma de las respuestas de todos los picos no debe ser mayor de 3,0 %. Ignorar cualquier pico con una respuesta inferior a 0,05 veces la respuesta de la suma de los dos picos principales obtenidos a partir de la *Preparación estándar A*.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 278 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por trimetilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución de fosfato monobásico de amonio 0,2 M - Disolver 23,0 g de fosfato monobásico de amonio en 1 litro de agua.

Fase móvil - *Solución de fosfato monobásico de amonio 0,2 M* y metanol (62:38). Filtrar y desgaseificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Preparación muestra - [NOTA: preparar inmediatamente antes de su uso]. Pesar exactamente alrededor de 10,0 mg Cefuroxima Axetilo y transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en *Fase móvil*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Preparación estándar A - Transferir 1,0 ml de *Preparación muestra* a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Preparación estándar B - Calentar a 60 °C 5,0 ml de *Preparación muestra* durante 1 hora para obtener los Δ^3 isómeros.

Preparación estándar C - Exponer 5,0 ml de *Preparación muestra* a luz ultravioleta de 254 nm durante 24 horas para obtener los isómeros *E*.

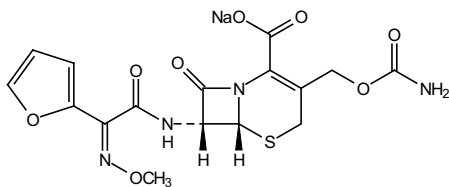
Preparación estándar D - [NOTA: preparar inmediatamente antes de su uso]. Pesar exactamente alrededor de 10,0 mg Cefuroxima Axetilo y transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en *Fase*

móvil, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar las *Preparaciones estándar A, B, C* y *D* y registrar las respuestas según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos al diastereoisómero A de cefuroxima axetilo (segundo pico) deben ser aproximadamente 0,9 para el diastereoisómero B de cefuroxima axetilo, 1,2 para los Δ^3 isómeros y 1,7 y 2,1 para los *E* isómeros; la resolución *R* entre los picos de los diastereoisómeros A y B en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación estándar D* no debe ser menor de 1,5; la resolución *R* entre los picos correspondientes al diastereoisómero A y al Δ^3 isómeros no debe ser menor de 1,5; la desviación estándar relativa de la suma de los picos correspondientes a los diastereoisómeros A y B para seis inyecciones repetidas de la *Preparación estándar D* no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo, volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de las *Preparación estándar A, B, C* y *D* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuesta de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{20}H_{22}N_4O_{10}S$ a partir de la suma de las respuestas de los dos picos de los diastereoisómeros, en la porción de Cefuroxima Axetilo en ensayo, a partir de las respuestas de los picos de cefuroxima axetilo obtenidos con la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar D*.

CEFUROXIMA SÓDICA



y enantiómero

$C_{16}H_{15}N_4NaO_8S$ PM: 446,4 56238-63-2

Definición - Cefuroxima Sódica es la Sal sódica del ácido [6R-[6 α ,7 β (Z)]]-3-[[aminocarbonil oxo]metil]-7-[[2-furanil(metoxiimino)acetil]amino]-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-eno-2-carboxílico. Debe contener no menos de 96,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{16}H_{15}N_4NaO_8S$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o amarillo claro. Ligeramente higroscópico. Fácilmente soluble en agua; soluble en metanol; muy poco soluble en acetato de etilo, alcohol, cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Cefuroxima Sódica SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto, a una temperatura no mayor de 25 °C.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Preparación estándar*.

C - Debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 5,5 y 8,5; determinado sobre una solución preparada del siguiente modo: disolver 2,0 g de Cefuroxima Sódica en agua libre de dióxido de carbono y diluir a 20,0 ml con el mismo solvente. Diluir 2,0 ml de esta solución a 20,0 ml con agua libre de dióxido de carbono.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +59° y +66°; determinado sobre la sustancia anhidra.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 3,5 %.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Solución reguladora de pH 3,4, Fase móvil, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra*.

Solución estándar - Transferir 1,0 ml de *Solución muestra* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. Registrar el cromatograma de la *Solución muestra* durante al menos tres veces el tiempo de retención del pico de cefuroxima y medir las respuestas de todos los picos. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta del pico correspondiente a descarbamoilcefuroxima no debe ser mayor a la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (1,0 %) y la respuesta de ninguna otra impureza individual debe ser mayor a la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (1,0 %). La suma de las respuestas de todos los picos en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor a tres veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (3,0 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor de 0,05 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (0,05 %).

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que Cefuroxima Sódica es estéril, no debe contener más de 0,10 UE por mg de Cefuroxima.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que Cefuroxima Sódica es estéril, debe cumplir con los requisitos según se indica en *Método de filtración por membrana*.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 273 nm y una columna 12,5 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por hexilsilano unido químicamente a partículas porosas de sílice de 5 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Solución reguladora de acetato pH 3,4 - Disolver 6,01 g de ácido acético glacial y 0,68 g de acetato de sodio en agua y diluir a 1 litro con el mismo solvente.

Fase móvil - Solución reguladora de acetato pH 3,4 y acetonitrilo (99:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Cefuroxima Sódica SR-FA y transferir a un matraz aforado de 25 ml, disolver en agua, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Cefuroxima Sódica y transferir a un matraz aforado de 25 ml, disolver en agua, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Solución de aptitud del sistema - Calentar 20 ml de la *Preparación estándar* en un baño de agua a 60 °C durante 10 minutos. Enfriar e inyectar de inmediato.

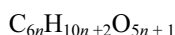
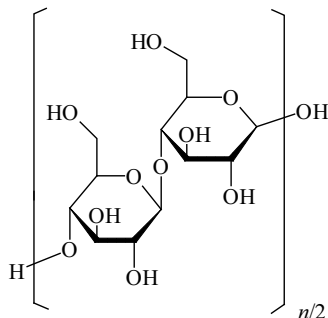
Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de cefuroxima sódica y descarbamoilcefuroxima no debe ser menor de 2,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad en porcentaje de $C_{16}H_{15}N_4NaO_8S$ en la porción de Cefuroxima Sódica en ensayo.

ROTULADO

Cuando Cefuroxima Sódica está destinada para la preparación de formas farmacéuticas inyectables, se debe indicar en el rótulo que es estéril.

CELULOSA MICROCRISTALINA



9004-34-6

Definición - Celulosa Microcristalina es celulosa parcialmente depolimerizada y purificada preparada a partir de α -Celulosa, obtenida en forma de pulpa a partir de materiales vegetales fibrosos con ácidos minerales. Celulosa Microcristalina debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco, fino o granuloso. Prácticamente insoluble en acetona, ácidos diluidos, agua, alcohol, solución de hidróxido de sodio al 5 % y tolueno.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe cumplir con el ensayo de *Identificación A* en *Celulosa polvo*.

B - Pesar exactamente alrededor de 1,3 g de Celulosa Microcristalina y proceder según se indica en el ensayo de *Identificación B* en *Celulosa polvo*. El grado de polimerización debe ser mayor de 350.

Conductividad <70>

A 5 g de Celulosa Microcristalina agregar 40 ml de agua, agitar durante 20 minutos y centrifugar. Determinar la conductividad del sobrenadante luego de que la lectura obtenida sea estable con un conductímetro previamente calibrado con una solución de calibración estándar de cloruro de potasio de $100 \mu\text{S cm}^{-1}$. Determinar la conductividad del agua empleada en la preparación de la sustancia en ensayo: la conductividad del sobrenadante no debe exceder a la del agua en más de $75 \mu\text{S cm}^{-1}$.

Determinación del pH <250>

El pH del sobrenadante obtenido en el ensayo de *Conductividad* debe estar comprendido entre 5,0 y 7,5.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105°C durante 3 horas: no debe perder más de 7,0 % de su peso.

Sustancias solubles en agua

Agitar 5,0 g de Celulosa Microcristalina con 80 ml de agua durante 10 minutos, filtrar al vacío con un papel de filtro apropiado y transferir el filtrado a una cápsula de evaporación previamente pesada. Evaporar a sequedad en un baño de agua y secar a 105°C durante 1 hora. Enfriar en un desecador y pesar. La diferencia entre el peso del residuo y el peso obtenido con un blanco no debe ser mayor de 12,5 mg (0,25 %).

Sustancias solubles en éter

Proceder según se indica en *Sustancias solubles en éter* en *Celulosa polvo*: la diferencia entre el peso del residuo y el peso obtenido con un blanco no debe ser mayor de 5,0 mg (0,05 %).

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

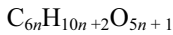
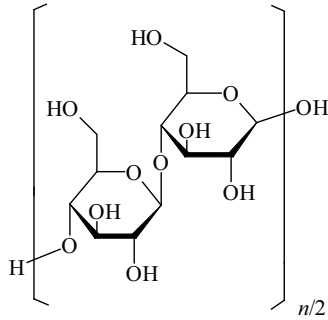
Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos cuando se ensaya según se indica en 90. *Control higiénico de productos no obligatoriamente estériles* en *Celulosa polvo*.

ROTULADO

Indicar en el rótulo el grado de polimerización.

CELULOSA POLVO



9004-34-6

Definición - Celulosa Polvo es α -Celulosa, purificada y desintegrada mecánicamente, obtenida en forma de pulpa a partir de materiales vegetales fibrosos. Celulosa Polvo debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco, fino o granuloso. Poco soluble en solución de hidróxido de sodio al 5 %; prácticamente insoluble en acetona, ácidos diluidos, agua, alcohol, tolueno y en la mayoría de los solventes orgánicos.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Transferir 10 mg de Celulosa Polvo a un vidrio de reloj, agregar 2 ml de cloruro de cinc iodado (SR) y dispersar: debe desarrollar color azul-violeta.

B - Pesar exactamente alrededor de 250,0 mg de Celulosa Polvo, transferir a un matraz de 100 ml y agregar 25 ml de agua y 25 ml de hidróxido de cuprietilendiamina (SR). Inmediatamente purgar la solución con nitrógeno, tapar y agitar hasta disolver. Transferir 7 ml de esta solución a un viscosímetro apropiado y dejar equilibrar la solución a $25,0 \pm 0,1$ °C durante no menos de 5 minutos. Medir el tiempo de escurrimiento de esta solución entre las dos marcas del viscosímetro y calcular la viscosidad cinemática v_1 por la siguiente fórmula:

$$t_1 k_1$$

en la cual t_1 es el tiempo en segundos que tarda en escurrir el volumen del líquido y k_1 es la constante del viscosímetro (ver *Calibración de los viscosímetros de tipo capilar en 190. Determinación de la viscosidad*). Medir el tiempo de escurrimiento de una solución de hidróxido de cuprietilendiamina (SR) y agua (1:1) entre las dos marcas de un vis-

cosímetro apropiado y calcular la viscosidad cinemática v_2 por la siguiente fórmula:

$$t_2 k_2$$

en la cual t_2 es el tiempo en segundos que tarda en escurrir el volumen del líquido y k_2 es la constante del viscosímetro (ver *Calibración de los viscosímetros de tipo capilar en 190. Determinación de la viscosidad*). Determinar la viscosidad relativa η_{rel} en la porción de Celulosa Polvo en ensayo por la fórmula siguiente:

$$v_1/v_2$$

Determinar la viscosidad intrínseca $[\eta]_c$ por medio de la tabla correspondiente (ver *Tabla de viscosidad intrínseca en Tablas*) y calcular el grado de polimerización G_p por la fórmula siguiente:

$$\frac{95[\eta]_c}{P[(100-b)/100]}$$

en la cual P es el peso en g de la porción de Celulosa Polvo en ensayo y b es el valor obtenido en porcentaje en el ensayo *Pérdida por secado*: el grado de polimerización debe ser mayor de 440.

Determinación del pH <250>

Mezclar 10 g de Celulosa Polvo con 90 ml de agua y dejar reposar durante 1 hora con ocasional agitación. El pH del sobrenadante debe estar comprendido entre 5,0 y 7,5.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 6,5 % de su peso.

Sustancias solubles en agua

Mezclar 6,0 g de Celulosa Polvo con 90 ml de agua recientemente hervida y enfriada y dejar reposar durante 10 minutos agitando ocasionalmente. Filtrar al vacío, descartar los primeros 10 ml del filtrado y filtrar nuevamente, si es necesario, para obtener un líquido límpido. Transferir 15 ml del filtrado a una cápsula de evaporación previamente pesada. Evaporar a sequedad en un baño de agua y secar a 105 °C durante 1 hora. Enfriar en un desecador y pesar. La diferencia entre el peso del residuo y el peso obtenido con un blanco no debe ser mayor de 15,0 mg (1,5 %).

Sustancias solubles en éter

Transferir 10 g de Celulosa Polvo a una columna cromatográfica de 20 mm de diámetro y agregar 50 ml de éter libre de peróxido. Evaporar el eluido a sequedad en una cápsula de evaporación previamente pesada con la ayuda de corriente de aire y una campana de extracción. Luego de evaporado el éter, secar el residuo a 105 °C durante 30 minutos. Enfriar en un desecador y pesar: la diferencia entre

el peso del residuo y el peso obtenido con un blanco no debe ser mayor de 15,0 mg (0,15 %).

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,3 % calculado sobre la sustancia seca.

Impureza orgánicas volátiles <520>

Método II.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

El recuento de microorganismos aerobios viables no debe ser mayor que 10^3 bacterias ni 10^2 hongos por gramo. La sustancia en ensayo debe cumplir con el *Ensayo para Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* y con el *Ensayo para Salmonella spp.* y *Escherichia coli*.

ROTULADO

Indicar en el rótulo el grado de polimerización.

CELULOSA, ACETATO DE

Acetato de celulosa.

Diacetato de celulosa. 9035-69-2

Triacetato de celulosa. 9012-09-3

Definición - Acetato de Celulosa es celulosa parcial o completamente acetilada. Debe contener no menos de 29,0 por ciento y no más de 44,8 por ciento, en peso, de grupos acetilo (C_2H_3O), calculado sobre la sustancia seca. El contenido de grupos acetilo no debe ser menor de 90,0 por ciento y no mayor de 110,0 por ciento del indicado en el rótulo y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo o gránulos de color blanco, blanco-amarillento o blanco-grisáceo. Higroscópico. Soluble en acetona, ácido fórmico y en una mezcla de partes iguales de cloruro de metileno y metanol; prácticamente insoluble en agua y alcohol.

Sustancia de referencia - Acetato de Celulosa SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. Secar una porción de Acetato de Celulosa y preparar una solución al 10 % en dioxano. Colocar 1 gota de la solución entre dos placas de cloruro de sodio y extenderla. Separar las placas, calentarlas a 105 °C durante 1 hora y colocar nuevamente una sobre otra: el espectro de absorción infrarroja debe presentar máximos sólo a las mismas longitudes de onda que el de una preparación similar de Acetato de Celulosa SR-FA, tratada de la misma manera.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de ácidos libres

Pesar exactamente alrededor de 5 g de Acetato de Celulosa y transferir a un erlenmeyer de 250 ml. Agregar 150 ml de agua libre de dióxido de carbono, tapar, agitar suavemente por rotación y dejar reposar durante 3 horas. Filtrar a través de papel y lavar el erlenmeyer y el filtro con agua, agregando los lavados al filtrado. Agregar fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,01 N (SV). Calcular el porcentaje de ácidos libres en la porción de Acetato de Celulosa en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$0,06005V/P$$

en la cual V es el volumen en ml de hidróxido 0,01 N (SV) consumido y P es el peso en g de Acetato de Celulosa en ensayo, sobre la sustancia seca: no debe contener más de 0,1 % de ácido acético.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 5,0 % de su peso.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

No debe presentar más de 10^3 microorganismos aerobios viables totales por gramo, de los cuales no más de 10^2 son hongos por gramo, determinados mediante recuento en placa. Debe cumplir con el *Ensayo para Salmonella ssp. y Escherichia coli.*

Contenido de acetilo

Cuando en el rótulo se indique que acetato de celulosa contiene no más de 42,0 % de grupos acetilo, proceder del siguiente modo.

Pesar exactamente alrededor de 2 g de Acetato de Celulosa y transferir a un erlenmeyer de 500 ml. Agregar 100 ml de acetona y entre 5 a 10 ml de agua, tapar y agitar con un agitador magnético hasta disolución completa. Agregar 30 ml, exactamente medidos, de hidróxido de sodio 1,0 N (SV), agitando constantemente: se debe obtener un precipitado finamente dividido exento de grumos de celulosa regenerada. Tapar nuevamente el erlenmeyer y agitar con un agitador magnético durante 30 minutos. Agregar 100 ml de agua previamente calentada a 80 °C, lavando las paredes del erlenmeyer, agitar durante 2 minutos y dejar enfriar a temperatura ambiente. Titular el exceso de solución de hidróxido de sodio con ácido sulfúrico 1,0 N (SV), empleando fenolftaleína (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Calcular el porcentaje de acetilo en la porción de Acetato de Celulosa en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$4,305(B - V)/P$$

en la cual B y V son los volúmenes en ml de ácido sulfúrico 1,0 N (SV) consumidos por el blanco y la muestra, respectivamente y P es el peso en g de Acetato de Celulosa en ensayo, sobre la sustancia seca.

Cuando en el rótulo se indique que acetato de celulosa contiene más de 42,0 % de grupos acetilo, proceder del siguiente modo.

Pesar exactamente alrededor de 2 g de Acetato de Celulosa, transferir a un erlenmeyer de 500 ml,

agregar 30,0 ml de dimetilsulfóxido y 100 ml de acetona y agitar durante 16 horas mediante un agitador magnético. Con la ayuda de una pipeta, agregar lentamente 30 ml de hidróxido de sodio 1 N (SV), con agitación constante. Tapar el erlenmeyer, agitar durante 6 minutos y dejar reposar sin agitar durante 60 minutos. Agitar nuevamente y agregar 100 ml de agua previamente calentada a 80 °C, lavando las paredes del erlenmeyer. Agitar durante 2 minutos y dejar enfriar a temperatura ambiente. Agregar 4 a 5 gotas de fenolftaleína (SR) y titular el exceso de hidróxido de sodio con ácido clorhídrico 0,5 N (SV). Agregar un exceso exactamente medido (aproximadamente 0,5 ml) de ácido clorhídrico 0,5 N (SV), agitar durante 5 minutos y dejar reposar durante 30 minutos. Titular con hidróxido de sodio 0,5 N (SV) hasta punto final rosado permanente, bajo agitación constante. Calcular el número neto de miliequivalentes de hidróxido de sodio consumido y corregir este valor con el promedio de dos blancos. Calcular el porcentaje de acetilo en la porción de Acetato de Celulosa en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$4,305n/P$$

en la cual n es el valor corregido del número de miliequivalentes de hidróxido de sodio consumidos y P es el peso en g de Acetato de Celulosa en ensayo, sobre la sustancia seca.

ROTULADO

Indicar en el rótulo el contenido, en porcentaje, de grupos acetilo.

CELULOSA, ACETOFTALATO DE

9004-38-0

Definición - Acetofталato de Celulosa es el producto de la reacción de acetato de celulosa y anhídrido ftálico. Debe contener no menos de 21,5 por ciento ni más de 26,0 por ciento de grupos acetilo (C_2H_3O) y no menos de 30,0 por ciento ni más de 36,0 por ciento de grupos ftalil(o-carboxibenzoil) ($C_8H_5O_3$) calculados sobre la sustancia anhidra y libre de ácidos. Acetofталato de Celulosa debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o escamas incoloras, que fluye fácilmente. Higroscópico. Fácilmente soluble en acetona; soluble en dietilenglicol; prácticamente insoluble en agua, etanol y cloruro de metileno. Se disuelve en soluciones de álcalis diluidas.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. Proceder según se indica en *Identificación por medio de espectros de referencia*.

Determinación de la viscosidad <190>

Pesar exactamente una porción de Acetofталato de Celulosa, equivalente a 15 g de Acetofталato de Celulosa anhidra y disolver en 85 g de una mezcla de acetona anhidra y agua (249:1, en peso): la viscosidad aparente, determinada a $25,0 \pm 0,2$ °C debe estar comprendida entre 45 y 90 centipoises.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 5,0 %, empleando una mezcla de alcohol absoluto y cloruro de metileno (3:2) como solvente, en lugar de metanol.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %, determinado a 600 ± 50 °C.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

Límite de ácidos libres

Pesar exactamente alrededor de 3,0 g de Acetofталato de Celulosa, transferir a un erlenmeyer con tapón de vidrio, agregar 100 ml de metanol diluido (1 en 2), tapar y agitar durante 2 horas.

Filtrar y lavar el erlenmeyer y el filtro con dos porciones de 10 ml de metanol diluido (1 en 2), agregando los lavados al filtrado. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), empleando fenoltaleína (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco empleando 120 ml de metanol al 50 % y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Calcular el porcentaje de ácido libre en la porción de Acetofталato de Celulosa en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$0,8306V/P$$

en la cual V es el volumen corregido, en ml de hidróxido de sodio 0,1 N consumido y P es el peso en g de Acetofталato de Celulosa en ensayo, sobre la sustancia anhidra: no debe contener más de 3,0 % como ácido ftálico.

Contenido de ftalilo

Pesar exactamente alrededor de 1 g de Acetofталato de Celulosa, transferir a un erlenmeyer y agregar 50 ml de una mezcla de alcohol y acetona (3:2). Agregar una gota de fenoltaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Calcular el porcentaje de ftalilo, sobre la sustancia libre de ácidos, en la porción de Acetofталato de Celulosa en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$100[(1,491V/P) - 1,795B]/(100 - B)$$

en la cual V es el volumen corregido, en ml de hidróxido de sodio 0,1 N consumido, P es el peso en g de Acetofталato de Celulosa en ensayo, sobre la sustancia anhidra y B es el porcentaje de ácido determinado en *Límite de ácidos libres*.

Contenido de acetilo

Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Acetofталato de Celulosa, transferir a un erlenmeyer con tapón de vidrio y agregar 25,0 ml de hidróxido de sodio 0,1 N (SV). Conectar el erlenmeyer a un refrigerante y calentar a reflujo durante 30 minutos. Enfriar, agregar 5 gotas de fenoltaleína (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*).

Calcular el contenido de ácidos libres y combinados, como acetilo, en la porción de Acetofталato de Celulosa en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$0,4305(V/P)$$

en la cual V es el volumen corregido, en ml de hidróxido de sodio 0,1 N consumido y P es el peso en g de Acetofталato de Celulosa en ensayo, sobre la sustancia anhidra.

Calcular el porcentaje de acetilo en la porción de Acetofalato de Celulosa libre de ácidos en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$[100(A - 0,5182B)/(100 - B)] - 0,5772C$$

en la cual A es el contenido de ácidos libres y combinados, como acetilo, B es el porcentaje de ácido determinado en *Límite de ácidos libres* y C es el porcentaje de ftalilo determinado en *Contenido de ftalilo*.

CERA EMULSIONANTE

Definición - Cera Emulsionante es un sólido ceroso preparado a partir de *Alcohol Cetoestearílico* conteniendo un derivado polioxietilénico de un éster de ácido graso con sorbitán y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Sólido ceroso de color blanco amarillento. Fácilmente soluble en cloroformo y éter; soluble en alcohol; insoluble en agua.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Determinación del punto de fusión <260>

Debe estar comprendido entre 50 y 54 °C. Fundir lentamente mientras se mezcla una cantidad apropiada de Cera Emulsionante hasta que alcance una temperatura de 90 a 92 °C. Dejar enfriar a una temperatura entre 8 y 10 °C por encima del punto de fusión esperado. Enfriar el bulbo de un termómetro apropiado a 5 °C (ver 720. *Termómetros*), secar con un paño y sumergirlo en la sustancia en ensayo fundida hasta cubrirlo totalmente. Retirar el termómetro de inmediato y sostenerlo en posición vertical lejos del calor hasta que la superficie se opaque. Fijar el termómetro en forma segura en un tubo de ensayo de modo tal que el extremo inferior se encuentre a 15 mm del fondo del tubo. Colocar el tubo de ensayo en un baño de agua a una temperatura entre 10 y 15 °C y dejarlo a esa temperatura durante 30 minutos. Elevar la temperatura del baño a 30 °C a razón de 2 °C por minutos. Una vez alcanzado los 30 °C, incrementar 1 °C por minuto hasta que caiga la primera gota de Cera Emulsionante fundida desde el termómetro y registrar la temperatura. Realizar esta determinación dos veces más con una porción recién fundida de la sustancia en ensayo. Si la variación de las tres determinaciones es menor de 1 °C, realizar el promedio de las tres determinaciones; de lo contrario, realizar dos determinaciones más y tomar el promedio de las cinco.

Determinación del pH <250>

Entre 5,5 y 7,0. Preparar una dispersión de 3 g de Cera Emulsionante en 100 ml de agua calentando hasta 55 °C, mezclar y dejar enfriar hasta 25 °C.

Determinación del índice de hidroxilo <480>

Entre 178 y 192.

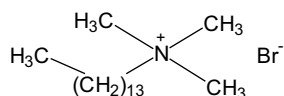
Determinación del índice de yodo <480>

No más de 3,5.

Determinación del índice de saponificación <480>

No más de 14.

CETRIMIDA



$C_{17}H_{38}BrN$

PM: 336,4

Definición - Cetrimida es Bromuro de Trimetil tetradecil amonio. Puede contener pequeñas cantidades de bromuro de dodecil trimetil amonio y bromuro de hexadecil trimetil amonio. Debe contener no menos de 96,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{17}H_{38}BrN$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco y voluminoso. Fácilmente soluble en agua y alcohol, prácticamente insoluble en éter.

Sustancia de referencia - Cetrimida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Disolver alrededor de 0,25 g de Cetrimida en alcohol y diluir a 25 ml con el mismo solvente. Registrar el espectro de absorción entre 260 y 280 nm: la absorbancia de la solución no debe ser mayor de 0,05.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetona, acetato de sodio al 27 % y metanol (20:35:45).

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Cetrimida SR-FA, disolver en agua y diluir a 5 ml con el mismo solvente.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Cetrimida, disolver y diluir a 5 ml con agua.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 1 μ l de la *Solución muestra* y 1 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y secar con aire caliente. Dejar enfriar y revelar con vapores de yodo. La mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se

debe corresponder en color, tamaño y valor de R_f con la de la *Solución estándar*.

C - Debe responder a los ensayos para *Bromuros* <410>.

Acidez o alcalinidad

Disolver 2,0 g de Cetrimida en agua libre de dióxido de carbono y diluir a 100 ml con el mismo solvente. A 50 ml de esta solución agregar 0,1 ml de púrpura de bromocresol (SR1): no se deben consumir más de 0,1 ml de ácido clorhídrico 0,1 N o hidróxido de sodio 0,1 N para virar el color del indicador.

Aminas y sales e aminas

Disolver 5,0 g de Cetrimida en 30 ml de una mezcla de ácido clorhídrico 1 N y metanol (1:99) y agregar 100 ml de alcohol isopropílico. Eliminar el dióxido de carbono con burbujeo de nitrógeno, agregar gradualmente 15 ml de hidróxido de tetrabutil amonio 0,1 M (SV) y registrar los valores de la curva de titulación potenciométrica (ver 780. *Volumetría*). Si la curva presenta dos puntos de inflexión, el volumen de hidróxido de tetrabutil amonio agregado entre los mismos no debe ser mayor de 2,0 ml.

Pérdida por secado <680>

Secar entre 100 y 105 °C durante dos horas: no debe perder más de 2,0 % de su peso.

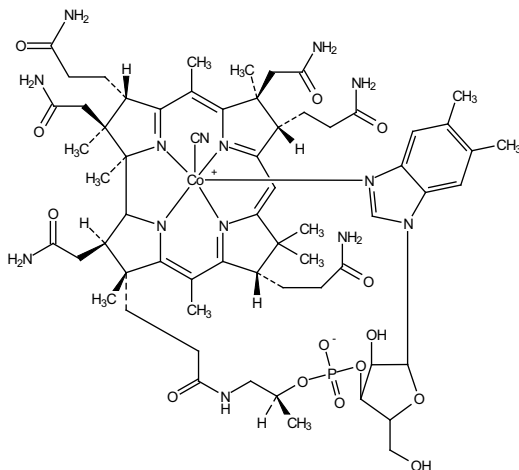
Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,5 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 2,0 g de Cetrimida, disolver en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Transferir 25 ml de esta solución a una ampolla de decantación, agregar 25 ml de cloroformo, 10 ml de hidróxido de sodio 0,1 N y 10 ml de una solución de yoduro de potasio al 5 % recientemente preparada, agitar, dejar separar las fases y descartar la fase clorofórmica. Agitar la fase acuosa con tres porciones de 10 ml de cloroformo cada una y descartar la fase clorofórmica. Agregar 40 ml de ácido clorhídrico, dejar enfriar y titular con yodato de potasio 0,05 M hasta que la coloración parda oscura desaparezca. Agregar 2 ml de cloroformo y continuar a titulación, agitando vigorosamente, hasta que el color de la fase clorofórmica no cambie. Realizar una titulación con un blanco empleando una mezcla de 10 ml de una solución de yoduro de potasio al 5 % recientemente preparada, 20 ml de agua y 40 ml de ácido clorhídrico, y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de yodato de potasio 0,05 M equivale a 33,6 mg de $C_{17}H_{38}BrN$.

CIANOCOBALAMINA



$C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$ PM: 1355,4 68-19-9

Sinonimia - Vitamina B₁₂.

Definición - Cianocobalamina debe contener no menos de 96,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales de color rojo oscuro o polvo cristalino o amorfo de color rojo. La forma anhidra es muy higroscópica y expuesta al aire puede absorber hasta un 12 % de agua. Soluble en alcohol; moderadamente soluble en agua; insoluble en acetona, cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Cianocobalamina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar el espectro de absorción obtenido en *Valoración*. La *Solución muestra* debe presentar máximos a 278 ± 1 nm y 361 ± 1 nm y a 550 ± 2 nm. La relación A_{361}/A_{278} se debe encontrar entre 1,70 y 1,90 y la relación A_{361}/A_{550} debe estar comprendida entre 3,15 y 3,40.

B - Fundir aproximadamente 1 mg de Cianocobalamina con aproximadamente 50 mg de piro-sulfato de potasio en un crisol de porcelana. Enfriar, deshacer la masa con una varilla de vidrio, agregar 3 ml de agua y disolver por calentamiento a ebullición. Agregar 1 gota de fenoltaleína (SR) y una solución de hidróxido de sodio 1 en 10, gota a gota, hasta color rosado incipiente. Agregar 500 mg de

acetato de sodio, 0,5 ml de ácido acético 1 N y 0,5 ml de solución de sal nitroso R (1 en 500): debe aparecer inmediatamente un color rojo o rojo anaranjado. Agregar 0,5 ml de ácido clorhídrico y calentar a ebullición durante 1 minuto: el color rojo no debe desaparecer.

C - Disolver aproximadamente 5 mg de Cianocobalamina en 5 ml de agua en un balón de destilación de 50 ml conectado a un refrigerante corto. Agregar al balón 2,5 ml de ácido hipofosforoso, calentar a ebullición durante 10 minutos. Destilar 1 ml en un tubo de ensayo que contenga 1 ml de solución de hidróxido de sodio 1 en 50. Agregar 4 gotas de solución saturada de sulfato ferroso amónico en frío al destilado, agitar, agregar aproximadamente 30 mg de fluoruro de sodio y calentar el contenido a ebullición. Agregar de inmediato, gota a gota, ácido sulfúrico 5 N hasta que la solución se torne transparente, luego agregar 3 a 5 gotas más del ácido: debe desarrollar color azul o verde azulado.

Pérdida por secado <680>

Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Cianocobalamina, secar al vacío 105 °C y a una presión de no más de 5 mm Hg durante 2 horas, enfriar y pesar: no debe perder más de 12,0 % de su peso.

Pseudo cianocobalamina

Disolver 1,0 mg de Cianocobalamina en 20 ml de agua dentro de una ampolla de decantación, agregar 5 ml de una mezcla de tetracloruro de carbono y cresol (50:50) y agitar durante aproximadamente 1 minuto. Dejar separar, transferir la fase inferior a una segunda ampolla de decantación, agregar 5 ml de ácido sulfúrico 5 N, agitar y dejar separar las fases, centrifugando si fuera necesario: la fase superior debe ser incolora o presentar una coloración no más intensa que una mezcla de 0,15 ml de permanganato de potasio 0,10 N y 250 ml de agua.

VALORACIÓN

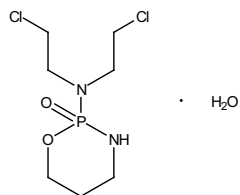
Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Cianocobalamina SR-FA en agua y diluir cuantitativamente y en etapas con agua para obtener una solución de aproximadamente 30 µg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 30 mg de Cianocobalamina, transferir, con la ayuda de agua, a un matraz aforado de 1 litro, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Determinar concomitantemente las absorbancias de ambas soluciones en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 361 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando agua como blanco. Cal-

cular la cantidad en mg de $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$ en la
Cianocobalamina en ensayo.

CICLOFOSFAMIDA



$C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P \cdot H_2O$ PM: 279,1 6055-19-2

Anhidra PM: 261,1 50-18-0

Definición - Ciclofosfamida es *N,N*-bis(2-cloroetil)tetrahidro-2*H*-1,3,2-oxazafosforin-2-amino-2-óxido, monohidrato. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco. Se licua cuando pierde el agua de hidratación. Soluble en agua y alcohol.

Sustancia de referencia - Ciclofosfamida SR-FA. [NOTA: realizar la determinación de agua por *Titulación volumétrica directa* inmediatamente antes de su uso y emplear este valor para expresar la concentración como ciclofosfamida anhidra.]

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto, a una temperatura entre 2 y 30 °C.

Precaución - Manipular con cuidado la Ciclofosfamida ya que es un potente agente citotóxico.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención, relativo al estándar interno, del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Determinación del pH <250>

Entre 3,9 y 7,1, determinado sobre una solución al 1 %. [NOTA: realizar la determinación 30 minutos luego de preparada la solución.]

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 5,7 y 6,8 %.

Límite de metales pesados <590>

Disolver 1,0 g de Ciclofosfamida en 25 ml de agua y filtrar si fuera necesario: no más de 0,002 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 195 nm y una columna de 30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Agua y acetonitrilo (70:30). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución del estándar interno - Transferir 185 mg de *Etilparabeno* a un matraz aforado de 1 litro, disolver en 250 ml de alcohol, completar a volumen con agua y mezclar.

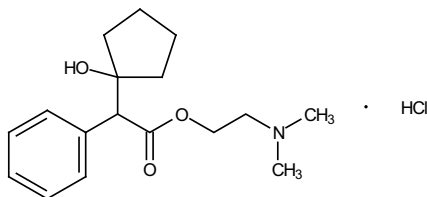
Preparación estándar - Pesar exactamente una cantidad de Ciclofosfamida SR-FA, equivalente a 25 mg de ciclofosfamida anhidra, transferir a un matraz aforado de 50 ml, agregar aproximadamente 25 ml de agua y agitar hasta disolver. Agregar 5,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con agua y mezclar. Esta solución contiene aproximadamente 0,5 mg de ciclofosfamida anhidra por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente una cantidad de Ciclofosfamida, equivalente a 200 mg de ciclofosfamida anhidra, transferir a un matraz aforado de 200 ml, agregar 50 ml de agua, agitar aproximadamente 5 minutos, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 25 ml de esta solución y 5 ml de *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,7 para ciclofosfamida y 1,0 para etilparabeno; la resolución *R* entre los picos de ciclofosfamida y etilparabeno no debe ser menor de 2; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 25 μl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$ en la porción de Ciclofosfamida en ensayo.

CICLOPENTOLATO, CLORHIDRATO DE



$C_{17}H_{25}NO_3 \cdot HCl$ PM: 327,9 5870-29-1

Definición - Clorhidrato de Ciclopentolato es Clorhidrato del ácido $\pm\alpha$ -(1-hidroxiciclopentil)benzoacético 2-(dimetilamino)etil éster. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{17}H_{25}NO_3 \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco. Sus soluciones son ácidas al tornasol. Funde aproximadamente a 138 °C. Muy soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol; insoluble en éter.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Ciclopentolato SR-FA

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto, en un sitio frío.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Una solución 1 en 500 debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 5,5, determinado sobre una solución 1 en 100.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,05 %.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico, Solución reguladora de fosfato, Fase móvil y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* preparada según se indica en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 20 μ l de la *Solución muestra*, registrar el cromatograma durante un período no

menor a dos veces el tiempo de retención del ciclopentolato y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cada pico, con excepción del pico del solvente y el pico de ciclopentolato, en la porción de Clorhidrato de Ciclopentolato en ensayo, en relación a la suma de las respuestas de todos los picos, excluyendo el pico del solvente. No debe contener más de 1,0 % de cualquier impureza individual y no más de 2,0 % de impurezas totales.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 220 nm y una columna de 15 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por hexilsilano químicamente unido a partículas totalmente porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Solución reguladora - Disolver 660 mg de fosfato dibásico de amonio en 1 litro de agua. Ajustar a pH 3,0 \pm 0,1 con ácido fosfórico y mezclar.

Fase móvil - Acetonitrilo y *Solución reguladora* (7:3). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

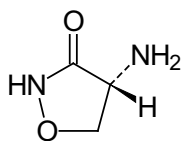
Preparación estándar - Disolver en agua una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Ciclopentolato SR-FA, diluir cuantitativamente y en etapas con agua, si fuera necesario, y mezclar hasta obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Clorhidrato de Ciclopentolato, transferir a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 3.000 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad en mg de $C_{17}H_{25}NO_3 \cdot HCl$ en la porción de Clorhidrato de Ciclopentolato en ensayo.

CICLOSERINA



$C_3H_6N_2O_2$

PM: 102,1

68-41-7

Definición - Cicloserina es D-4-amino-3-isoxazolidinona. Debe tener una potencia no menor de 900 μg de $C_3H_6N_2O_2$ por mg, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino de color blanco a amarillo pálido. Higroscópico, se deteriora al absorber agua. Sus soluciones son dextróginas. Fácilmente soluble en agua; poco soluble en etanol.

Sustancia de referencia - Cicloserina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Disolver alrededor de 1 mg de Cicloserina en 10 ml de hidróxido de sodio 0,1 N. A 1 ml de la solución resultante, agregar 3 ml de ácido acético 1 N y 1 ml de una mezcla, preparada una hora antes de su uso, de partes iguales de solución de nitroprusiato de sodio 1 en 25 en hidróxido de sodio 4 N: se debe desarrollar gradualmente un color azul.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre $+108^\circ$ y $+114^\circ$.

Solución muestra: 50 mg por ml, en hidróxido de sodio 2 N.

Determinación del pH <250>

Entre 5,5 y 6,5; determinado sobre una solución 1 en 10.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,5 %. El residuo carbonizado debe ser humedecido con 2 ml de ácido nítrico y 5 gotas de ácido sulfúrico.

Cristalinidad

Colocar partículas de Cicloserina en aceite mineral sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas deben presentar birrefringencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

Productos de condensación

Su absorbancia a 285 nm (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*), determinada sobre una solución de Cicloserina de aproximadamente 0,40 mg por ml en hidróxido de sodio 0,1 N, no debe ser mayor de 0,80.

Pérdida por secado <680>

Secar aproximadamente 100 mg de Cicloserina en un recipiente con tapa capilar al vacío, a 60°C durante 3 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 219 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unidos a partículas de sílice porosa de 5 μm de diámetro. Mantener la columna aproximadamente a 30°C . El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 0,5 g de 1-decano sulfonato de sodio en 800 ml de agua, agregar 50 ml de acetonitrilo, 5 ml de ácido acético glacial y mezclar. Ajustar a pH 4,4 con hidróxido de sodio 1 N. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

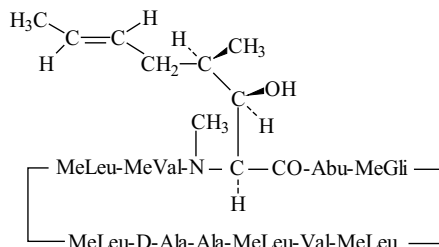
Preparación estándar - Disolver cuantitativamente una cantidad exactamente pesada de Cicloserina SR-FA en solución reguladora de fosfato pH 6,8 (ver *Soluciones reguladoras en Reactivos y Soluciones*) para obtener una solución de aproximadamente 0,4 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Cicloserina, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en solución reguladora de fosfato pH 6,8 (ver *Soluciones reguladoras en Reactivos y Soluciones*), completar a volumen con la misma solución reguladora y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 1,8; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad en μg de $C_3H_6N_2O_2$ en cada mg de Cicloserina en ensayo.

CICLOSPORINA



$C_{62}H_{111}N_{11}O_{12}$ PM: 1.202,6 59865-13-3

Sinonimia - Ciclosporina A.

Definición - Ciclosporina es [R-[R*,R*-(E)]]- (L-alanil-D-alanil-N-metil-L-leucil-N-metil-L-leucil-L-valil-3-hidroxi-N,4-dimetil-L-2-amino-6-octenil-L- α -aminobutiril-N-metilglicil-N-metil-L-leucil-L-valil-N-metil-L-leucil)cíclica. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,5 por ciento de $C_{62}H_{111}N_{11}O_{12}$ (Ciclosporina A), calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Soluble en acetona, alcohol, metanol y cloruro de metileno; poco soluble en hidrocarburos saturados; prácticamente insoluble en agua.

Sustancias de referencia - Ciclosporina SR-FA. Ciclosporina para aptitud del sistema SR-FA: mezcla 100:1 de Ciclosporina y Ciclosporina U.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. En fase sólida.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en Valoración. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la Preparación muestra se debe corresponder con el obtenido en la Preparación estándar.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: entre -185° y -193° ; determinado sobre la sustancia seca.

Solución muestra: 5 mg por ml.

Sustancias relacionadas

Empleando los cromatogramas obtenidos en Valoración, calcular el porcentaje de cada impureza individual en la porción de Ciclosporina en ensayo, relacionando la respuesta del pico de cada impureza individual en la Preparación muestra con la res-

puesta del pico correspondiente a ciclosporina en la Preparación estándar B. No debe contener más de 0,7 % de cualquier impureza individual y la suma de todas las impurezas no debe ser mayor de 1,5 %. Ignorar cualquier pico con una respuesta menor de 0,05 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a $60^{\circ}C$, 100 mg de Ciclosporina, exactamente pesados, en un recipiente con tapa provista de un capilar, al vacío, a una presión no mayor a 5 mm Hg, durante 3 horas: no debe perder más de 2,0 % de su peso.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 210 nm, un tubo capilar de acero inoxidable de 1,0 m \times 0,25 mm conectado entre el inyector y una columna de 25 cm \times 4,0 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 5 μm de diámetro. Mantener el tubo y la columna a $80^{\circ}C$. El caudal debe ser aproximadamente 1,2 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, acetonitrilo, *ter*-butil metil éter y ácido fosfórico (520:430:50:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver Aptitud del sistema en 100. Cromatografía).

Diluyente - Acetonitrilo y agua (1:1).

Preparación estándar A - Disolver una cantidad exactamente pesada de Ciclosporina SR-FA en Diluyente para obtener una solución de aproximadamente 1,25 mg por ml.

Preparación estándar B - Transferir 2,0 ml de la Preparación estándar A a un matraz aforado de 250 ml y completar a volumen con Diluyente. Esta solución contiene aproximadamente 0,01 mg de Ciclosporina SR-FA por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Ciclosporina, transferir a un matraz aforado de 20 ml, disolver y completar a volumen con Diluyente.

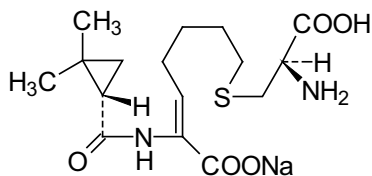
Solución de resolución - Preparar una solución de Ciclosporina para aptitud del sistema SR-FA en Diluyente de aproximadamente 1,25 mg por ml.

Aptitud del sistema (ver 100. Cromatografía) - Cromatografiar la Solución de aptitud del sistema y registrar las respuestas de los picos según se indica en Procedimiento: el pico correspondiente a ciclosporina U y el pico correspondiente a ciclosporina se deben resolver por completo. Cromatografiar la Preparación estándar A y registrar las respuestas de los picos según se indica en Procedimiento: la des-

viación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %. Cromatografiar la *Preparación estándar B* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 10,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de las *Preparaciones estándar A* y *B* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el porcentaje de $C_{62}H_{111}N_{11}O_{12}$ (Ciclosporina A) en la porción de Ciclosporina en ensayo, relacionando las respuestas de los picos de ciclosporina obtenidos en la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar A*, respectivamente.

CILASTATINA SÓDICA



$C_{16}H_{25}N_2NaO_5S$ PM: 380,4 81129-83-1

Definición - Cilastatina Sódica es (Z)-7-[[*(R)*-2-Amino-2-carboxietil]tia]-2-[[*(S)*-2,2-dimetilciclopropanocarboxamido]-2-heptenoato de sodio. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,5 por ciento de $C_{16}H_{25}N_2NaO_5S$, calculado sobre la sustancia. Cilastatina Sódica debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco a amarillo claro. Higroscópico. Soluble en agua y metanol.

Sustancia de referencia - Cilastatina de Amonio SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto, en un sitio frío.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. En *fase sólida*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Pureza cromatográfica*. El tiempo de retención del pico de cilastatina en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, se debe corresponder con el obtenido con una solución de Cilastatina de Amonio SR-FA preparada del mismo modo.

C - Someter a ignición una porción de Cilastatina Sódica, en un alambre de platino, sobre una llama no luminosa: debe impartir una intensa coloración amarilla a la llama.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +41,5° y +44,5°; determinada sobre la sustancia.

Solución muestra: 10 mg por ml, en metanol: ácido clorhídrico (120:1).

Determinación del pH <250>

Entre 6,5 y 7,5; determinado sobre una solución 1 en 100.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 2,0 %.

Límite de solventes

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de

ionización a la llama y una columna de 30 m × 0,53 mm con fase estacionaria constituida por una película líquida de 1,0 μm de espesor de compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular (aproximadamente 15.000) con un ligando di-epóxido. Mantener la columna a 50 °C durante 2,5 minutos, luego incrementar la temperatura a razón de 8 °C por minuto hasta alcanzar los 70 °C y mantener a esta temperatura durante 30 segundos. Mantener el inyector y el detector a 160 y 250 °C, respectivamente. Emplear helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 9 ml por minuto.

Solución del estándar interno - Transferir 0,5 ml de alcohol *n*-propílico a un matraz aforado de 1 litro, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución estándar - Transferir 2,0 ml de acetona, 0,50 ml de metanol y 0,50 ml de óxido de mesitilo a un matraz aforado de 1 litro, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 2,0 ml de esta solución y 2,0 ml de *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Esta solución contiene aproximadamente 316 μg de acetona, 79 μg de metanol y 86 μg de óxido de mesitilo por ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Cilastatina Sódica y transferir a un matraz aforado de 10 ml. Agregar 2,0 ml de *Solución del estándar interno* y aproximadamente 5 ml de agua. Disolver mediante agitación, completar a volumen con agua y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,26 para acetona, 0,35 para metanol, 0,67 para alcohol *n*-propílico y 1,0 para óxido de mesitilo; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas, determinada a partir de la relación de respuestas de cada pico respecto al de alcohol *n*-propílico, no debe ser mayor de 5,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 1 μl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, empleando la técnica de lavado con solvente (agua), registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos correspondientes a acetona, metanol, alcohol *n*-propílico y óxido de mesitilo. Calcular la cantidad en porcentaje de cada uno de estos solventes en la porción de Cilastatina Sódica en ensayo, relacionando las respuestas de los picos de cada analito con la del estándar interno, obtenidos a partir de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. No debe contener más de 1,0 % de acetona, no más de 0,5 % de metanol y no más de 0,4 % de óxido de mesitilo.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 210 nm y una columna de 25 cm × 4,5 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. Mantener la columna aproximadamente a 50 °C. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto. Programar el cromatógrafo del siguiente modo:

Tiempo (minutos)	Solución A (%)	Solución B (%)	Etapas
0-30	15→100	85→0	Gradiente lineal

Solución A - Ácido fosfórico diluido (1 en 1.000) y acetonitrilo (70:30). Filtrar y desgasificar.

Solución B - Ácido fosfórico diluido (1 en 1.000). Filtrar y desgasificar.

Fase móvil - Emplear mezclas variables de *Solución A* y *Solución B* según se indica en *Sistema cromatográfico*. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Solución muestra - Preparar una solución de Cilastatina Sódica en agua que contenga aproximadamente 1,6 mg por ml.

Aptitud del sistema (ver *100. Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución muestra* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de capacidad k' no debe ser menor de 10; la eficiencia de la columna no debe ser menor de 3.000 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 4,5.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución muestra* y agua (como blanco de solvente) registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos.

Calcular la pureza cromatográfica, en porcentaje, en la porción de Cilastatina Sódica en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$100r_M/(r_T - r_B - r_A)$$

en la cual r_M es la respuesta del pico de cilastatina obtenido a partir de la *Solución muestra*, r_T es la suma de las respuestas de todos los picos obtenidos con la *Solución muestra*, r_B es la suma de las respuestas de todos los picos obtenidos con el blanco y r_A es la respuesta del pico correspondiente a sustancias no retenidas, que pudieran estar presentes (como por ejemplo acetona) y aparecer en el frente de solvente del cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*. El porcentaje de pureza cromatográfica no debe ser menor de 98,5 %.

Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Cilastatina Sódica en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$100r_i/(r_T - r_B - r_A)$$

en la cual r_i es la respuesta del pico de cada impureza individual obtenida a partir de la *Solución muestra* y los términos restantes son los definidos anteriormente. No debe contener más de 0,5 % de cualquier impureza individual.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que Cilastatina Sódica es estéril, no debe contener más de 0,17 Unidades de Endotoxina por mg de Cilastatina.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que Cilastatina Sódica es estéril, debe cumplir con los requisitos cuando se ensaya según se indica en *Método de filtración por membrana*; empleando 6 g de Cilastatina Sódica en 200 ml de *Solución A*.

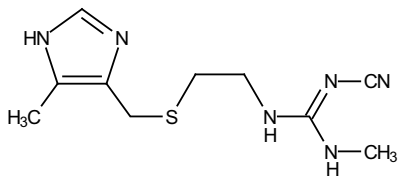
VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 300 mg de Cilastatina Sódica, transferir a un erlenmeyer, agregar 30 ml de metanol y 5 ml de agua. Agregar ácido clorhídrico 0,1 N hasta pH de aproximadamente 3. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) hasta el tercer punto de inflexión. Calcular la diferencia del volumen empleado, en ml, entre el primer y el tercer punto de inflexión. Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 19,02 mg de $C_{16}H_{25}N_2NaO_5S$.

ROTULADO

Cuando Cilastatina Sódica esté destinada a preparaciones de administración parenteral, indicar en el rótulo que es estéril.

CIMETIDINA



C₁₀H₁₆N₆S PM: 252,3 51481-61-9

Definición - Cimetidina es *N*-Ciano-*N'*-metil-*N''*-[2-[[[(5-metil-1*H*-imidazol-4-il)metil]tio]etil]-guanidina. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de C₁₀H₁₆N₆S, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en metanol; soluble en alcohol y polietilenglicol 400; moderadamente soluble en alcohol isopropílico; poco soluble en agua y cloroformo; prácticamente insoluble en éter. Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Cimetidina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. [NOTA: secar previamente la muestra y la *Sustancia de referencia*.]

B - Absorción ultravioleta <470>

El espectro de absorción ultravioleta de una solución 1 en 80.000 en ácido sulfúrico 0,1 N debe presentar máximos y mínimos a las mismas longitudes de onda que una solución similar de Cimetidina SR-FA.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 139 y 144 °C.

Pérdida por secado <680>

Secar a 110 °C durante 2 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 220 nm y una columna de

25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 940 mg de 1-hexanosulfonato de sodio en una mezcla preparada con 240 ml de metanol, 0,3 ml de ácido fosfórico (85%) y agua suficiente para obtener 1 litro. Filtrar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Preparar una solución de Cimetidina SR-FA en *Fase móvil* con una concentración de aproximadamente 0,80 μg por ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Cimetidina y transferir a un matraz aforado de 250 ml. Disolver en aproximadamente 50 ml de *Fase móvil*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Sonicar durante 15 minutos y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar la respuesta de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de capacidad *k'* no debe ser menor de 3,0; la eficiencia de la columna no debe ser menor de 2.000 platos teóricos; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 μl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos. La suma de las respuestas de todos los picos, con excepción del pico principal, en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor de cinco veces la respuesta del pico principal obtenida con la *Solución estándar* y ninguna respuesta individual debe ser mayor que la respuesta principal obtenida con la *Solución estándar*.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 220 nm y una columna de 30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Transferir 200 ml de metanol y 0,3 ml de ácido fosfórico a un matraz aforado de 1 litro, completar a volumen con agua, mezclar.

Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

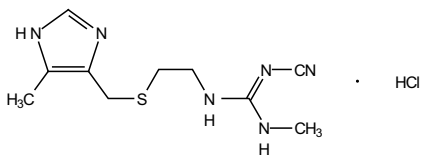
Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Cimetidina SR-FA en 1 parte de metanol y diluir la solución metanólica cuantitativamente con 4 partes de agua a volumen para obtener una solución de aproximadamente 0,4 mg por ml. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 10 µg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Cimetidina y transferir a un matraz aforado de 250 ml. Disolver en 50 ml de metanol, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de capacidad k' no debe ser menor de 0,6; la eficiencia de la columna no debe ser menor de 1.000 platos teóricos; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad en mg de $C_{10}H_{16}N_6S$ en la porción de Cimetidina en ensayo.

CIMETIDINA, CLORHIDRATO DE



$C_{10}H_{16}N_6S \cdot HCl$ PM: 288,8 70059-30-2

Definición - Clorhidrato de Cimetidina es Clorhidrato de *N*-ciano-*N'*-metil-*N''*-[2-[[5-metil-1*H*-imidazol-4-il]metil]tio]etil]guanidina. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{10}H_{16}N_6S \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco. Fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol; muy poco soluble en cloroformo; prácticamente insoluble en éter.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Cimetidina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: ácido sulfúrico 0,1 N.

Concentración: 14 µg por ml.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico y Fase móvil - Proceder según se indica en *Pureza cromatográfica* en *Cimetidina*.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Clorhidrato de Cimetidina, transferir a un matraz aforado de 250 ml, disolver con *Fase móvil*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Solución muestra diluida - Transferir 1,0 ml de *Solución muestra* a un matraz aforado de 500 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución de resolución - Disolver aproximadamente 50 mg de Clorhidrato de Cimetidina en 10 ml de ácido clorhídrico 1 N y calentar en un baño de vapor durante aproximadamente 10 minutos (o llevar a ebullición sobre una placa calefactora durante aproximadamente 2 minutos) y dejar enfriar. Diluir un volumen apropiado de esta solución con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 2 µg por ml. [NOTA: emplear esta solución dentro de las 24 horas de su preparación. Puede ser necesario ajustar las condiciones de calentamiento para lograr una respuesta satisfactoria de los picos del análogo amida, tal que permita la medición de la resolución entre los picos de cimetidina y el análogo amida].

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de cimetidina y del análogo amida no debe ser menor de 4,0. Cromatografiar la *Solución muestra diluida* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de capacidad *k'* no debe ser menor de 3,0; la eficiencia de la columna no debe ser menor de 2.000 platos teóricos; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 7,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 µl) de *Solución muestra* y la *Solución muestra diluida*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Clorhidrato de Cimetidina en ensayo, relacionando la respuesta del pico de cada impureza individual en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* con la respuesta del pico de cimetidina obtenido con la *Solución muestra diluida*. No debe contener más de 0,2 % de ninguna impureza individual y la suma de todas las impurezas no debe ser mayor de 1,0 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico y Fase móvil - Proceder según se indica en *Valoración* en *Cimetidina*.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Cimetidina SR-FA en una mezcla de agua y metanol (80:20) para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg por ml. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 115 mg de Clorhidrato de Cimetidina,

transferir a un matraz aforado de 250 ml, disolver en aproximadamente 50 ml de agua, agregar 50 ml de metanol y completar a volumen con agua. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de capacidad k' no debe ser menor de 0,6; la eficiencia de la columna no debe ser menor de 1.000 platos teóricos; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad en mg de $C_{10}H_{16}N_6S \cdot HCl$ en la porción de Clorhidrato de Cimetidina en ensayo.

CINC, ÓXIDO DE

ZnO PM: 81,4 1314-13-2

Definición - Óxido de Cinc debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de ZnO, calculado sobre la sustancia recientemente sometida a ignición, y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o blanco amarillento, muy fino, amorfo. Inodoro. Absorbe gradualmente dióxido de carbono del aire. Soluble en ácidos diluidos; insoluble en agua y alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe presentar color amarillo al calentar que desaparece al enfriar.

B - Disolver una porción de Óxido de Cinc en ácido clorhídrico 3 N y agregar un ligero exceso de ácido. Esta solución debe responder a los ensayos para *Cinc* <410>.

Alcalinidad

A 1,0 g de Óxido de Cinc agregar 10 ml de agua caliente y mezclar. Agregar 2 gotas de fenolftaleína (SR) y filtrar: si desarrolla color rojo, no debe consumir más de 0,30 ml de ácido clorhídrico 0,10 N para decolorar la solución.

Pérdida por calcinación <670>

Pesar exactamente alrededor de 2 g de Óxido de Cinc y someter a ignición a 500 °C hasta peso constante: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Límite de arsénico <540>

Método I. No más de 6 ppm.

Carbonato y color de la solución

A 2,0 g de Óxido de Cinc agregar 10 ml de agua y mezclar. Agregar 30 ml de ácido sulfúrico 2 N y calentar en un baño de vapor con agitación constante: la solución no debe presentar efervescencia y debe ser transparente e incolora.

Plomo

A 2 g de Óxido de Cinc agregar 20 ml de agua, agitar, agregar 5 ml de ácido acético glacial y calentar en un baño de vapor hasta obtener una solución. Agregar 5 gotas de cromato de potasio (SR): no debe producir turbidez ni precipitado.

Hierro y otros metales pesados

Enfriar la solución obtenida en *Carbonato y color de la solución* y transferir dos porciones de 5 ml a sendos matraces aforados y agregar ferrocianuro

de potasio (SR) y sulfuro de sodio (SR): se debe producir un precipitado blanco, respectivamente

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 1,5 g de Óxido de Cinc recientemente sometido a ignición, agregar 2,5 g de cloruro de amonio y disolver en 50 ml de ácido sulfúrico 1 N (SV) calentando suavemente, si fuera necesario. Agregar naranja de metilo (SR) y titular el exceso de ácido sulfúrico 1 N (SV) con hidróxido de sodio 1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido sulfúrico 1 N equivale a 40,70 mg de ZnO.

CINC, SULFATO DE

ZnSO ₄	PM: 161,5	7733-02-0
Monohidrato	PM: 179,5	7446-19-7
Heptahidrato	PM: 287,6	7446-20-0

Definición - Sulfato de Cinc contiene una o siete moléculas de agua de hidratación. La forma monohidrato debe contener no menos de 89,0 por ciento y no más de 90,4 por ciento de ZnSO₄, correspondiente a no menos de 99,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de ZnSO₄ · H₂O y la forma heptahidrato debe contener no menos de 55,6 por ciento y no más de 61,0 por ciento de ZnSO₄, correspondiente a no menos de 99,0 por ciento y no más de 108,7 por ciento de ZnSO₄ · 7H₂O. Sulfato de Cinc debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Prismas incoloros y transparentes o agujas pequeñas. Puede presentarse como un polvo cristalino blanco, granular. Inodoro y eflorescente al aire seco. Sus soluciones son ácidas al tornasol. La forma monohidrato es fácilmente soluble en agua y prácticamente insoluble en alcohol. La forma heptahidrato es muy soluble en agua; fácilmente soluble en glicerina e insoluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Una solución de Sulfato de Cinc debe responder a los ensayos para *Cinc* y para *Sulfato* <410>.

Acidez

Una solución de Sulfato de Cinc, equivalente a 28 mg por ml de ZnSO₄, no debe desarrollar color rosa frente al agregado de naranja de metilo (SR).

Límite de arsénico <540>

Método I. Disolver una porción de Sulfato de Cinc, equivalente a 215 mg de ZnSO₄, en 35 ml de agua: el límite es 14 ppm.

Límite de plomo <600>

Solución de comparación - Transferir 5 ml de agua a un tubo de Nessler y agregar 0,50 ml de *Solución estándar de plomo (10 ppm)* (ver 590. *Límite de metales pesados*) y 10 ml de *Solución de cianuro de potasio* al 10 %.

Solución muestra - Transferir una porción de Sulfato de Cinc, equivalente a 0,25 g de ZnSO₄, a un tubo de Nessler, disolver en 5 ml de agua y agregar 10 ml de *Solución de cianuro de potasio* al

10 %, mezclar y dejar que la mezcla se torne transparente.

Procedimiento - Agregar a cada tubo, por separado, 0,1 ml de sulfuro de sodio (SR) y mezclar. Luego de 5 minutos el color de la *Solución muestra* no debe ser más intenso que el color de la *Solución de comparación* (0,002 %).

Metales alcalinos y alcalino térreos

Transferir una porción de Sulfato de Cinc, equivalente a 1,12 g de ZnSO₄, a un matraz aforado de 200 ml y disolver en aproximadamente 150 ml de agua. Precipitar el cinc completamente con sulfuro de amonio (SR) y completar a volumen con agua. Mezclar y filtrar, descartando la primera porción del filtrado. A 100 ml del filtrado obtenido agregar unas pocas gotas de ácido sulfúrico, evaporar hasta sequedad en una cápsula de porcelana previamente pesada y someter a ignición: el peso del residuo no debe ser mayor de 5 mg (0,9 %).

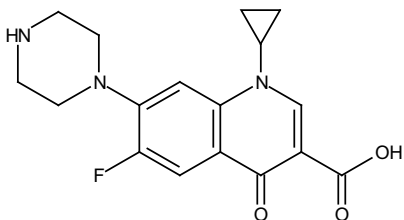
VALORACIÓN

Pesar exactamente una cantidad de Sulfato de Cinc, equivalente de 170 mg de ZnSO₄, y disolver en 100 ml de agua. Agregar 5 ml de solución reguladora de amoníaco-cloruro de amonio (SR) y 0,1 ml de negro de eriocromo (SR). Titular con edetato disódico 0,05 M (SV) hasta punto final azul profundo. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de edetato disódico 0,05 M equivale a 8,075 mg de ZnSO₄.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si se trata de Sulfato de Cinc Monohidrato o Heptahidrato. Indicar en el rótulo el contenido de cinc de cualquier forma farmacéutica oral o parenteral que lo contenga.

CIPROFLOXACINO



$C_{17}H_{18}FN_3O_3$ PM: 331,3 85721-33-1

Sinonimia - Ciprofloxacina.

Definición - Ciprofloxacino es Ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-7-(1-piperazinil)-3-quinolincarboxílico. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{17}H_{18}FN_3O_3$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino amarillo pálido. Soluble en ácido acético diluido; muy poco soluble en alcohol y cloruro de metileno; prácticamente insoluble en agua.

Sustancias de referencia - Ciprofloxacino SR-FA. Impureza A de Ciprofloxacino SR-FA: Ácido 7-cloro-1-ciclopropil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolina (Ácido fluoroquinolónico). Impureza B de Ciprofloxacino SR-FA: Clorhidrato del ácido 7-[(2-aminoetil)amino]-1-ciclopropil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-3-quinolincarboxílico (Análogo etilendiamino).

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria y Fase móvil - Proceder según se indica en *Límite de ácido fluoroquinolónico*.

Solución muestra - Disolver una cantidad de Ciprofloxacino en hidróxido de amonio 6 N para obtener una solución de aproximadamente 10,0 mg por ml.

Solución estándar - Disolver una cantidad de Ciprofloxacino SR-FA en hidróxido de amonio 6 N para obtener una solución de aproximadamente 10,0 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa, en forma de bandas de 1 cm, 5 μ l de la *Solu-*

ción muestra y 5 μ l de la *Solución estándar*. Colocar la placa en una atmósfera de amoníaco durante aproximadamente 15 minutos, luego transferir la placa a una cámara cromatográfica no saturada y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire durante aproximadamente 15 minutos. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 y 366 nm: la intensidad y el valor de R_f de la banda principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* deben ser similares a los obtenidos con la *Solución estándar*.

Transparencia de la solución

Disolver 0,25 g de Ciprofloxacino en 10 ml de ácido clorhídrico 0,1 N: se debe obtener una solución transparente o levemente opalescente.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de cloruro

Agregar 30,0 ml de agua a 0,5 g de Ciprofloxacino, agitar durante 5 minutos y filtrar a través de papel de filtro libre de cloruro. Transferir 15,0 ml del filtrado a un tubo de Nessler de 50 ml, emplear como *Solución muestra*. A un segundo tubo de Nessler de 50 ml, transferir 10,0 ml de una *Solución estándar* de aproximadamente 8,2 μ g de cloruro de sodio por ml, equivalente a 5 μ g de cloruro por ml, agregar 5,0 ml de agua y mezclar. Agregar a cada tubo 1 ml de ácido nítrico 2 N, mezclar, agregar 1 ml de nitrato de plata (SR) y mezclar. La *Solución muestra* no debe presentar más turbidez que la *Solución estándar* (0,02 %).

Límite de sulfato

Disolver 0,5 g de Ciprofloxacino en 5,0 ml de ácido acético 2 N y 15,0 ml de agua (*Solución muestra*). A cada uno de dos tubos de Nessler de 50 ml, transferir 1,50 ml de una *Solución estándar* de aproximadamente 18,1 μ g de sulfato de potasio por ml en alcohol al 30 %, equivalente a 10 μ g de sulfato por ml. Agregar a cada tubo, sucesivamente y agitando continuamente, 1,0 ml de solución de cloruro de bario 1 en 4 y dejar reposar durante 1 minuto. Transferir a uno de los tubos 15,0 ml de la *Solución estándar*, agregar 0,5 ml de ácido acético al 30 % y mezclar. Transferir al segundo tubo 15,0 ml de la *Solución muestra*, agregar 0,5 ml de ácido acético al 30 % y mezclar: la *Solución muestra* no debe presentar más turbidez que la *Solución estándar* (0,04 %).

Límite de ácido fluoroquinolónico

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloruro de metileno, metanol, hidróxido de amonio y acetonitrilo (4:4:2:1).

Solución estándar - Transferir 5,0 mg de Impureza A de Ciprofloxacino SR-FA a un matraz aforado de 50 ml que contenga 0,05 ml de hidróxido de amonio 6 N, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 2,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 10,0 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución muestra - Disolver una cantidad de Ciprofloxacino en ácido acético 0,1 N para obtener una solución de aproximadamente 10,0 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de la *Solución muestra* y 5 µl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y colocar la placa en una cámara apropiada en la cual se ha colocado un vaso de precipitados conteniendo 50 ml de hidróxido de amonio. Luego de 15 minutos, transferir la placa a una cámara y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire durante aproximadamente 15 minutos. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: cualquier mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, a un valor de R_f similar al de la mancha principal en el cromatograma de la *Solución estándar*, no debe ser mayor en tamaño o intensidad que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar* (0,2 %).

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar, Solución de resolución, Preparación muestra y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra*, con respecto a la suma de las respuestas de todos los picos. No debe contener más de 0,2 % de Impureza B de Ciprofloxacino o de cualquier otra impureza individual; la suma de todas las impurezas no debe ser mayor de 0,5 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 120 °C durante 6 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que Ciprofloxacino es estéril, no debe contener más de 0,88 Unidades de Endotoxina por mg de ciprofloxacino.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que Ciprofloxacino es estéril, debe cumplir con los requisitos según se indica en *Método de filtración por membrana*.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 278 nm y una columna de 25 cm × 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. Mantener la temperatura de la columna a 30 ± 1 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Ácido fosfórico 0,025 M, previamente ajustado a pH 3,0 ± 0,1 con trietilamina, y acetonitrilo (87:13). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Ciprofloxacino SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, agregar 0,2 ml de ácido fosfórico al 7 %, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Ciprofloxacino, transferir a un matraz aforado de 50 ml, agregar 0,2 ml de ácido fosfórico al 7 %, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución de resolución - Disolver una cantidad exactamente pesada de Impureza B de Ciprofloxacino SR-FA en la *Preparación estándar* para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg por ml.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,7 para impureza B de ciprofloxacino y 1,0 para ciprofloxacino; la resolución R entre los picos de impureza B de ciprofloxacino y ciprofloxacino no debe ser menor de 6. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna determinada a partir del pico de cipro-

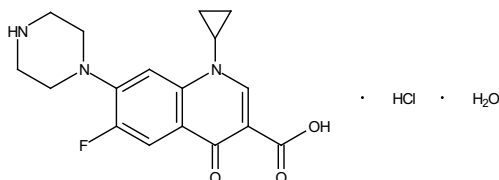
floxacino no debe ser menor de 2.500 platos teóricos; el factor de asimetría para el pico de ciprofloxacino no debe ser mayor de 4,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,5 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ en la porción de Ciprofloxacino en ensayo.

ROTULADO

Cuando Ciprofloxacino está destinado a la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral, indicar en el rótulo que es estéril.

CIPROFLOXACINO, CLORHIDRATO DE



$\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{FN}_3\text{O}_3 \cdot \text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ PM: 385,8 86393-32-0

Sinonimia - Clorhidrato de Ciprofoxacina.

Definición - Clorhidrato de Ciprofloxacino es Monoclorhidrato del ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-7-(1-piperazinil)-3-quinolincarboxílico, monohidrato. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{FN}_3\text{O}_3 \cdot \text{HCl}$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino amarillo pálido. Moderadamente soluble en agua; poco soluble en ácido acético y metanol; muy poco soluble en alcohol absoluto; prácticamente insoluble en acetona, acetonitrilo, acetato de etilo, hexano y cloruro de metileno.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Ciprofloxacino SR-FA. Impureza A de Ciprofloxacino SR-FA: Ácido 7-cloro-1-ciclopropil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolina (Ácido fluoroquinolónico). Impureza B de Ciprofloxacino SR-FA: Clorhidrato del ácido 7-[(2-aminoetil)amino]-1-ciclopropil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-3-quinolincarboxílico (Análogo etilendiamino).

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Preparación estándar*.

C - Una solución de Clorhidrato de Ciprofloxacino debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 3,0 y 4,5, determinado sobre una solución 1 en 40.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 4,7 y 6,7 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Sulfato - Una porción de 375 mg de Clorhidrato de Ciprofloxacino no debe contener más sulfato que el que corresponde a 0,15 ml de ácido sulfúrico 0,020 N (0,04 %).

Límite de ácido fluoroquinolónico

Fase estacionaria, Fase móvil, Solución estándar y Procedimiento - Proceder según se indica en *Límite de ácido fluoroquinolónico* en *Ciprofloxacino*.

Solución muestra - Disolver una porción de Clorhidrato de Ciprofloxacino en agua para obtener una solución de aproximadamente 10,0 mg por ml.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar, Solución de resolución, Preparación muestra y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μl) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, registrar las respuesta de los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra*, con respecto a la suma de las respuestas de todos los picos. No debe contener más de 0,2 % de Impureza B de Ciprofloxacino o de cualquier otra impureza individual y la suma de todas las impurezas no debe ser mayor de 0,5 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

VALORACIÓN

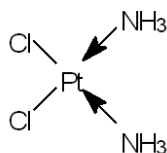
Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución de resolución y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración* en *Ciprofloxacino*.

Preparación estándar - Disolver cuantitativamente en *Fase móvil* una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Ciprofloxacino SR-FA para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Clorhidrato de Ciprofloxacino, transferir a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{17}H_{18}FN_3O_3 \cdot HCl$ en la porción de Clorhidrato de Ciprofloxacino. en ensayo.

CISPLATINO



Cl₂H₆N₂Pt PM: 300,0 15663-27-1

Definición - Cisplatino es *cis*-Diaminodichloroplatino. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de Cl₂H₆N₂Pt, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo amarillo o cristales amarillos o amarillo anaranjados. Se descompone con ennegrecimiento aproximadamente a 270 °C. Moderadamente soluble en dimetilformamida; poco soluble en agua; prácticamente insoluble en alcohol.

Sustancias de referencia - Cisplatino SR-FA. Transplatino SR-FA. Tricloroaminoplatinato de Potasio SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

Precaución - Cisplatino es potencialmente citotóxico. Evitar la inhalación de partículas y el contacto con la piel.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Preparación estándar*.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 1,0 %.

Cristalinidad

Colocar partículas de Cisplatino en aceite mineral, sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas deben presentar birrefringencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

Relación de absorbancias

[NOTA: limpiar todo el material de vidrio con una mezcla de ácido clorhídrico y ácido nítrico (3:1), enjuagar con agua y secar antes de usar. No emplear dicromato para la limpieza. No emplear acetona ni aire presurizado para secar. La solución muestra se debe proteger de la luz y emplear dentro de la primer hora de preparada]. Transferir 98,5 ± 0,5 mg de Cisplatino, previamente molido, a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con ácido clorhídrico 0,1 N. Emplear una barra magnética, agitar a alta velocidad durante 5 minutos y sonicar durante 10 segundos, alternativamente, hasta completar la disolución, invirtiendo el matraz con frecuencia para resuspender las partículas que puedan adherirse al cuello del matraz. Obtener el espectro de absorción (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*), en celdas de 2 cm, empleando ácido clorhídrico 0,1 N como blanco: el cociente entre las absorbancias al máximo de absorción, aproximadamente 301 nm y al mínimo, aproximadamente 246 nm, no debe ser menor de 4,5.

Límite de tricloroaminoplatinato

[NOTA 1: emplear material de vidrio inactivo para preparar la *Solución estándar* y la *Solución muestra*.]

[NOTA 2: emplear la *Solución estándar* y la *Solución muestra* dentro de las cuatro horas siguientes de su preparación.]

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 209 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por gel de sílice de 10 μm de diámetro, químicamente unida a un revestimiento de intercambio aniónico fuertemente básico constituido por grupos amonio cuaternario. El caudal debe ser aproximadamente 2 ml por minuto.

Fase móvil - Transferir 0,8 g de sulfato de amonio a un matraz aforado de 2 litros, disolver en agua y completar a volumen con agua. Filtrar y degasificar. El pH de esta solución debe ser 5,9 ± 0,1. Corregir la fuerza iónica de la *Fase móvil* si fuera necesario (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Pesar exactamente una porción de Tricloroaminoplatinato de Potasio SR-FA, disolver en solución fisiológica (SR) y diluir cuantitativamente con solución fisiológica (SR) para obtener una solución de aproximadamente 6 μg por ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor 50 mg de Cisplatino, transferir a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con solución

fisiológica (SR). Disolver completamente agitando mecánicamente durante 30 minutos.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos correspondientes a la solución fisiológica (SR) y al tricloroaminoplatinato no debe ser menor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 3,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos de tricloroaminoplatinato. Los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 1,0 para cisplatino (en el volumen muerto) y 5,0 para tricloroaminoplatinato. Calcular el porcentaje de tricloroaminoplatinato en la porción de Cisplatino en ensayo, relacionando las respuestas de los picos de tricloroaminoplatinato obtenidos a partir de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, respectivamente. No debe contener más de 1,0 %.

Límite de transplatino

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por gel de sílice irregular de 10 µm de diámetro, totalmente poroso, químicamente unida a un revestimiento de intercambio catiónico fuertemente ácido. Mantener la columna a 45 °C. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto. Acondicionar la columna haciendo pasar *Fase móvil* con un caudal de 2,0 ml por minuto durante 30 minutos, luego a 0,5 ml por minuto durante 30 minutos y luego nuevamente a 2,0 ml por minuto durante 30 minutos.

Fase móvil - Preparar una solución de fosfato monobásico de potasio 0,18 M. Ajustar con ácido fosfórico a pH 3,2. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución madre del estándar - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Transplatino SR-FA, transferir a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con solución fisiológica (SR) y agitar mecánicamente durante 30 minutos para disolver.

Solución estándar de trabajo - Transferir 5,0 ml de *Solución madre del estándar* a un matraz aforado de 25 ml que contenga aproximadamente 12 mg de Cisplatino SR-FA. Completar a volumen con solución fisiológica (SR) y agitar mecánicamente durante 30 minutos para disolver.

Solución estándar - Transferir 10,0 ml de *Solución estándar de trabajo* a un matraz aforado de 50 ml. Agregar 5,0 ml de una solución de tiourea 1 en 200, recientemente preparada, y 5,0 ml de ácido clorhídrico 1 N. Completar a volumen con solución fisiológica (SR) y mezclar. Transferir aproximadamente 10 ml de esta solución a un recipiente con tapa, revestida con politetrafluoroetileno y calentar a 60,0 ± 0,5 °C durante 60 minutos. Enfriar a temperatura ambiente.

Solución madre de la muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Cisplatino, transferir a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con solución fisiológica (SR) y agitar mecánicamente durante 30 minutos para disolver.

Solución muestra - Transferir 10,0 ml de *Solución madre de la muestra* a un matraz aforado de 50 ml y proceder según se indica para *Solución estándar*, comenzando donde dice "Agregar 5,0 ml de una solución de tiourea 1 en 200...".

Solución de resolución - Transferir aproximadamente 10 mg de Cisplatino SR-FA a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con solución fisiológica (SR) y agitar mecánicamente durante 30 minutos para disolver. Transferir 10,0 ml de esta solución y 10,0 ml de *Solución madre del estándar* a un matraz aforado de 50 ml. Proceder según se indica para *Solución estándar*, comenzando donde dice: "Agregar 5,0 ml de una solución de tiourea 1 en 200...".

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el tiempo de retención del transplatino derivatizado debe ser entre 5,0 y 9,0 minutos (de no ser así, hacer los ajustes necesarios en la *Fase móvil* y acondicionar la columna nuevamente). La eficiencia de la columna no debe ser menor de 2.500 platos teóricos; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 4,0 %. Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* no debe ser menor de 1,7.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos de transplatino. Los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 1,0 para cisplatino y 1,3 para transplatino. Calcular el porcentaje de transplatino en la porción de Cisplatino en ensayo, relacionando las respuestas de los picos de transplatino obtenidos a partir de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. No debe contener más de 2,0 %.

Contenido de platino

[NOTA: limpiar perfectamente todo el material de vidrio con ácido nítrico y enjuagar con agua para impedir la formación de un espejo de platino.] Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Cisplatino, transferir a un vaso de precipitados de 600 ml, agregar 300 ml de ácido clorhídrico 0,1 N y disolver lentamente calentando casi hasta ebullición sobre una placa calefactora cubierta con un aislante, agitando frecuentemente con una varilla de vidrio. Proceder según se indica en el ensayo para *Contenido de platino en Carboplatino*, comenzando donde dice: "Cuando la disolución sea completa...": el peso del platino obtenido se debe encontrar entre 64,42 y 65,22 % del peso de Cisplatino en ensayo, calculado sobre la sustancia anhidra.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 310 nm y una columna de 30 cm × 4,0 mm con fase estacionaria constituida por una capa monomolecular de aminopropilsilano químicamente unido a un soporte de gel de sílice poroso, de 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Acetato de etilo, metanol, dimetilformamida y agua desgasificada (25:16:5:5). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

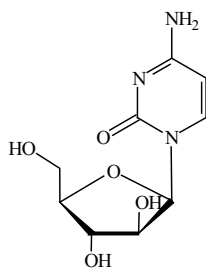
Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Cisplatino SR-FA en dimetilformamida para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml. Emplear esta solución dentro de la hora siguiente a su preparación.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Cisplatino, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en dimetilformamida, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Aptitud del sistema (ver *100. Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar la respuesta de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 40 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $\text{Cl}_2\text{H}_6\text{N}_2\text{Pt}$ en la porción de Cisplatino en ensayo.

CITARABINA



C₉H₁₃N₃O₅

PM: 243,2

147-94-4

Definición - Citarabina es 4-Amino-1-β-D-arabinofuranosil-2(1H)-pirimidinona. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de C₉H₁₃N₃O₅, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Funde aproximadamente a 215 °C. Fácilmente soluble en agua; muy poco soluble en alcohol y cloruro de metileno.

Sustancias de referencia - Citarabina SR-FA. Uracilarabinósido SR-FA

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Pureza cromatográfica*. El tiempo de retención del pico correspondiente a citarabina en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución estándar*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +154° y +160°, con respecto a la sustancia seca.

Solución muestra: 10 mg por ml.

Pureza cromatográfica

Sistema Cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unida a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto. Programar el cromatógrafo del siguiente modo:

Tiempo (minutos)	Solución A (% v/v)	Solución B (% v/v)	Etapas
0-10	100	0	Equilibración
10-20	100→0	0→100	Gradiente Lineal
20-25	0	100	Isocrático
25-30	0→100	100→0	Gradiente Lineal
30-50	100	0	Reequilibración

Solución reguladora pH 7,0 - Preparar una solución de fosfato monobásico de sodio y fosfato dibásico de sodio para obtener concentraciones de 0,01 M de cada uno de ellos. Ajustar a pH 7,0 con hidróxido de sodio 0,1 M o ácido fosfórico, según corresponda.

Solución A - Solución reguladora pH 7,0 y metanol (49:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*). [NOTA: preparar en el día de su uso].

Solución B - Solución reguladora pH 7,0 y metanol (7:3). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*). [NOTA: preparar en el día de su uso].

Fase móvil - Emplear mezclas variables de *Solución A* y *Solución B* según se indica en *Sistema cromatográfico*.

Solución de aptitud del sistema - Disolver cantidades apropiadas de uridina, Uracilarabinósido SR-FA y Citarabina SR-FA en agua para obtener una solución de aproximadamente 0,02; 0,02 y 5,0 mg por ml, respectivamente.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Citarabina SR-FA en agua y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con agua para obtener una solución de aproximadamente 4 μg por ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Citarabina, transferir a un matraz aforado de 5,0 ml, disolver y completar a volumen con agua y mezclar. [NOTA: preparar en el día de su uso].

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,55 para uracilo; 1,14 para uridina; 1,62 para uracilarabinósido y 1,0 para citarabina; la resolución *R* entre los picos de citarabina y uridina no debe ser menor de 1,25. Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 3,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos.

Calcular la cantidad en porcentaje de uracilarabinósido en la porción de Citarabina en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$500(C/P)(r_i/1,34r_E)$$

en la cual *C* es la concentración en mg por ml de Citarabina SR-FA en la *Solución estándar*; *P* es el peso en mg de Citarabina empleado para preparar la *Solución muestra*; 1,34 es el factor de respuesta relativo para uracilarabinósido; *r_i* es la respuesta del pico de uracilarabinósido en la *Solución muestra* y *r_E* es la respuesta del pico de Citarabina SR-FA en la *Solución estándar*. No debe contener más de 0,30 % de uracilarabinósido.

Calcular el porcentaje de todas las otras impurezas en la porción de Citarabina en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$500(C/P)(r_i/Fr_E)$$

en la cual *r_i* es la respuesta del pico de cada impureza individual en la *Solución muestra*; *F* es el factor de respuesta relativo, el cual es igual a 2,5 para el pico de uracilo (con un tiempo de retención relativo de 0,55), igual a 1,5 para los picos con tiempos de retención relativos de 0,38; 0,43 y 1,14 e igual a 1,0 para todos los otros picos que pudieran aparecer. Los demás términos son los definidos anteriormente. No debe contener más de 0,10 % de cualquier impureza individual y no más de 0,30 % de impurezas totales, incluyendo el pico de uracilarabinósido.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,5 %.

Pérdida por secado <680>

Secar alrededor de 250 mg de Citarabina exactamente pesados, sobre pentóxido de fósforo a 60 °C durante 3 horas, a una presión que no exceda los 2 mm Hg: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que Citarabina es estéril, no debe contener más de 0,07 Unidades de Endotoxina por mg de Citarabina.

Ensayos de esterilidad <370>

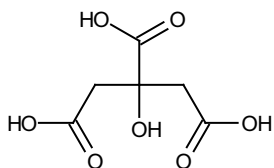
Cuando en el rótulo se indique que Citarabina es estéril, debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Citarabina y disolver en 60 ml de ácido acético glacial.

Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 24,32 mg de C₉H₁₃N₃O₅.

CÍTRICO ANHIDRO, ÁCIDO



C₆H₈O₇

PM: 192,1

77-92-9

Definición - Ácido Cítrico Anhidro es Ácido 2-hidroxi-1,2,3-propanotricarboxílico. Debe contener no menos de 99,5 por ciento ni más de 100,5 por ciento de C₆H₈O₇ calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco cristalino, cristales o gránulos incoloros. Eflorescente en aire seco. Funde aproximadamente a 153 °C con descomposición. Muy soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol; moderadamente soluble en éter.

Sustancia de referencia - Ácido Cítrico SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - A una mezcla de 1 ml de ácido acético glacial y 3 ml de piridina, agregar 5 mg de Ácido Cítrico Anhidro: se debe desarrollar color rojo.

C - Disolver 0,5 g de Ácido Cítrico Anhidro en 5 ml de agua y agregar aproximadamente 7 ml de hidróxido de sodio 1 N para neutralizar la solución. Agregar 10 ml de cloruro de calcio (SR) y calentar a ebullición: se debe formar un precipitado blanco.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 1,0 %

Sustancias fácilmente carbonizables <350>

Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Ácido Cítrico Anhidro pulverizado, transferir a un tubo de ensayo de 175 × 22 mm, previamente enjuagado con 10 ml de ácido sulfúrico (SR) y secado. Agregar 10 ml de ácido sulfúrico (SR), agitar hasta disolver y sumergir en baño de agua a 90 ± 1 °C durante 60 ± 0,5 minutos, manteniendo el nivel del ácido por debajo del nivel de agua durante todo el calentamiento. Enfriar el tubo empleando corriente

de agua y transferir el ácido a un tubo de Nessler: el color obtenido no debe ser más oscuro que el de un volumen similar al de la *Solución de comparación K* (ver 350. *Sustancias fácilmente carbonizables*).

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de sulfato

Solución estándar - A 4,5 ml de solución de sulfato (10 ppm) (SL1), agregar 3 ml de solución de cloruro de bario al 25 %, agitar y dejar reposar durante 1 minuto. A 2,5 ml de esta suspensión agregar 15 ml de solución de sulfato (10 ppm) (SL) y 0,5 ml de ácido acético 5 N y mezclar.

Solución madre de la muestra - Disolver 2,0 g de Ácido Cítrico Anhidro en 10 ml de agua, diluir con agua a 30 ml y mezclar.

Solución muestra - A 4,5 ml de solución de sulfato (10 ppm) (SL1) agregar 3 ml de solución de cloruro de bario al 25 %, agitar y dejar reposar durante 1 minuto. A 2,5 ml de esta suspensión agregar 15 ml de *Solución madre de la muestra* y 0,5 ml de ácido acético 5 N y mezclar.

Luego de 5 minutos, si la *Solución muestra* presenta opalescencia, esta no debe ser más intensa que la de la *Solución estándar* (0,015 %).

Límite de metales pesados <590>

Método I. No más de 0,001 %.

Límite de ácido oxálico

[NOTA: preparar la *Solución estándar* y la *Solución muestra* en forma simultánea.]

Disolver 800 mg de Ácido Cítrico Anhidro en 4 ml de agua. Agregar 3 ml de ácido clorhídrico, 1 g de granalla de cinc, calentar a ebullición durante 1 minuto y dejar reposar durante 2 minutos. Transferir el sobrenadante a un tubo de ensayo que contenga 0,25 ml de solución de clorhidrato de fenilhidracina (1 en 100) y calentar a ebullición. Enfriar rápidamente, transferir a una probeta y agregar igual volumen de ácido clorhídrico y 0,25 ml de solución de ferricianuro de potasio (1 en 20). Agitar y dejar reposar durante 30 minutos. Proceder del mismo modo con 4 ml de una solución de 0,10 mg de ácido oxálico por ml, equivalente a 0,0714 mg de ácido oxálico anhidro por ml. Luego de 5 minutos, la *Solución muestra* debe presentar coloración rosada y no debe ser más intensa que la del control (0,036 %).

Límite de aluminio

[NOTA: cuando en el rótulo se indica que Ácido Cítrico no está destinado a la preparación de soluciones para diálisis, puede estar exento de este requisito.]

Solución reguladora de acetato - Disolver 50 g de acetato de amonio en 150 ml de agua, ajustar con

ácido acético glacial a pH 6,0, completar con agua a 250 ml y mezclar.

Solución blanco - Preparar una mezcla de 10 ml de *Solución reguladora de acetato* y 100 ml de agua. Realizar una extracción con dos porciones de 20 ml y una de 10 ml de una solución de 8-hidroxiquinolina en cloroformo al 0,5 %. Reunir los extractos clorofórmicos en un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con cloroformo y mezclar.

Solución estándar de aluminio - Transferir 352 mg de sulfato de aluminio y potasio a un matraz aforado de 100 ml, agregar una porción de agua y agitar hasta disolver. Agregar 10 ml de ácido sulfúrico diluido, completar a volumen con agua y mezclar. Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución estándar - Preparar una mezcla de 2,0 ml de *Solución estándar de aluminio*, 10 ml de *Solución reguladora de acetato* y 98 ml de agua. Realizar una extracción con dos porciones de 20 ml y una de 10 ml de una solución de 8-hidroxiquinolina en cloroformo al 0,5 %. Reunir los extractos clorofórmicos en un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con cloroformo y mezclar.

Solución muestra - Disolver 20,0 g de Ácido Cítrico Anhidro en 100 ml de agua y agregar 10 ml de *Solución reguladora de acetato*. Realizar una extracción con dos porciones de 20 ml y una de 10 ml de una solución de 8-hidroxiquinolina en cloroformo al 0,5 %. Reunir los extractos clorofórmicos en un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con cloroformo y mezclar.

Procedimiento - Medir la intensidad de la fluorescencia de la *Solución estándar* y de la *Solución muestra* en un fluorómetro a 518 nm, empleando una longitud de onda de excitación a 392 nm (ver 450. *Espectrofotometría de fluorescencia*). Emplear la *Solución blanco* y hacer las correcciones necesarias: la fluorescencia de la *Solución muestra* no debe ser mayor a la de la *Solución estándar* (0,2 µg por g).

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se declara que Ácido Cítrico está destinado a la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral debe contener no más de 0,5 Unidades de Endotoxina por mg.

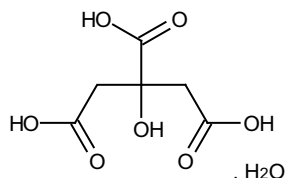
VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 550 mg de Ácido Cítrico Anhidro, disolver en 50 ml de agua, agregar 0,5 ml de fenoltaleína (SR1) y titular con hidróxido de sodio 1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 1 N equivale a 64,03 mg de $C_6H_8O_7$.

ROTULADO

Indicar en el rótulo cuando Ácido Cítrico Anhidro esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas parenterales.

CÍTRICO MONOHIDRATO, ÁCIDO



$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_8$ PM: 210,14 77-92-9

Definición - Ácido Cítrico Monohidrato es Ácido 2-hidroxi-1,2,3-propanotricarboxílico monohidratado, debe contener una molécula de agua de hidratación. Debe contener no menos de 99,5 por ciento ni más de 100,5 por ciento de $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco cristalino, cristales o gránulos incoloros. Muy soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol; moderadamente soluble en éter.

Sustancia de referencia - Ácido Cítrico SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Debe cumplir con el ensayo de *Identificación B* en *Ácido cítrico Anhidro*.

C - Debe cumplir con el ensayo de *Identificación C* en *Ácido cítrico Anhidro*.

Determinación del agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 7,5 % y 9,0 %.

Sustancias fácilmente carbonizables <350>

Debe cumplir con los requisitos cuando se ensaya según se indica en 350. *Sustancias fácilmente carbonizables* en *Ácido Cítrico Anhidro*.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de sulfato

Debe cumplir con los requisitos cuando se ensaya según se indica en *Límite de sulfato* en *Ácido Cítrico Anhidro*.

Límite de metales pesados <590>

Método I. No más de 0,001 %.

Límite de ácido oxálico

Debe cumplir con los requisitos cuando se ensaya según se indica en *Límite de ácido oxálico* en *Ácido Cítrico Anhidro*.

Límite de aluminio

Debe cumplir con los requisitos cuando se ensaya según se indica en *Límite de aluminio* en *Ácido Cítrico Anhidro*.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe cumplir con los requisitos cuando se ensaya según se indica en 330. *Ensayo de endotoxinas bacterianas* en *Ácido Cítrico Anhidro*.

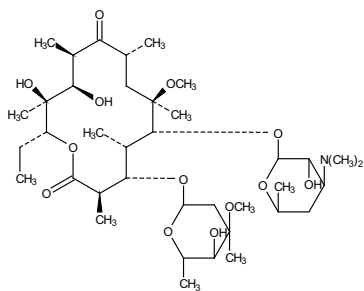
VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 550 mg de Ácido Cítrico Monohidrato, disolver en 50 ml de agua, agregar 0,5 ml de fenolftaleína (SR1) y titular con hidróxido de sodio 1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 1 N equivale a 64,03 mg de $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$.

ROTULADO

Indicar en el rótulo cuando Ácido Cítrico Monohidrato esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas parenterales.

CLARITROMICINA



$C_{38}H_{69}NO_{13}$ PM: 748,0 81103-11-9

Definición - Claritromicina es 6-O-Metileritromicina. Debe contener no menos de 96,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{38}H_{69}NO_{13}$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Soluble en acetona; poco soluble en acetonitrilo, alcohol absoluto, metanol y solución reguladora de fosfatos entre pH 2 a 5; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Claritromicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En Fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -94° y -102° , determinado a 20°C .

Solución muestra: 10 mg por ml, en cloruro de metileno.

Cristalinidad

Colocar partículas de Claritromicina en aceite mineral sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas deben presentar birrefringencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio

Determinación del pH <250>

Entre 8,0 y 10,0, determinado sobre una suspensión 1 en 500 en una mezcla de agua y metanol (19:1).

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 2,0 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %, humedeciendo el residuo carbonizado con 1 ml de ácido sulfúrico.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Solución A, Solución B y Fase móvil - Proceder según se indica en *Valoración*.

Diluyente - Acetonitrilo y agua (50:50).

Solución estándar A - Emplear la *Preparación estándar* obtenida en *Valoración*.

Solución estándar B - Transferir 5,0 ml de *Solución estándar A* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Solución estándar C - Transferir 1,0 ml de *Solución estándar B* a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* obtenida en *Valoración*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar B* y registrar las respuestas según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría para el pico de claritromicina no debe ser mayor de 1,7.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo, volúmenes iguales (aproximadamente 10 μl) de la *Solución estándar C* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. El pico de claritromicina eluye aproximadamente a los 11 minutos. A partir del cromatograma obtenido con la *Solución muestra*, identificar las impurezas que pudieran estar presentes, por sus tiempos de retención relativos a claritromicina, según se indica a continuación:

Impureza	Tiempo de retención relativo
I	0,38
A	0,42
J	0,63
L	0,74
B	0,79
M	0,81
C	0,89
D	0,96
N	1,15
E	1,27
F	1,33
P	1,35

O	1,38
K	1,59
G	1,72
H	1,82

Calcular el porcentaje de cada impureza presente en la *Solución muestra*, en relación al pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar C*. Corregir las respuestas de los picos correspondientes a impureza G e impureza H, empleando como factor de corrección *F* 0,27 y 0,15, respectivamente. No debe contener más de 1,0 % de ninguna impureza individual y no más de cuatro de ellas pueden ser mayores a 0,4 %. La suma de todos los picos no debe ser mayor de 3,5 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 205 nm, una columna de 10 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. La temperatura de la columna se debe mantener a 40 °C y el caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto. Programar el cromatógrafo del siguiente modo:

Tiempo (minutos)	Solución A (%)	Solución B (%)	Etapas
0-32	75→40	25→60	Gradiente lineal
32-34	40	60	Isocrático
34-36	40→75	60→25	Gradiente lineal
36-42	75	25	Isocrático

Solución A - Disolver 4,76 g de fosfato monobásico de potasio en agua, ajustar a pH 4,4 con ácido fosfórico diluido 1 en 10 o hidróxido de potasio al 45 % p/v, según corresponda, y completar a 1 litro con agua. Filtrar.

Solución B - Acetonitrilo.

Fase móvil - Emplear mezclas variables de *Solución A* y *Solución B*, según se indica en *Sistema cromatográfico*. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 75 mg de Claritromicina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver con 25 ml de acetonitrilo, completar a volumen con agua y mezclar.

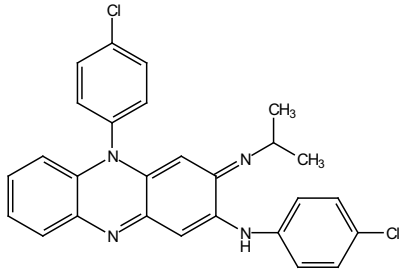
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 75 mg de Claritromicina, transferir a un

matraz aforado de 50 ml, disolver con 25 ml de acetonitrilo, completar a volumen con agua y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,5 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo, volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₃₈H₆₉NO₁₃ en la porción de Claritromicina en ensayo.

CLOFAZIMINA



$C_{27}H_{22}Cl_2N_4$

PM: 473,4

2030-63-9

Definición - Clofazimina es *N*,5-Bis(4-clorofenil)-3,5-dihidro-3-[(1-metiletil)imino]-2-fenacinamina. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,5 por ciento de $C_{27}H_{22}Cl_2N_4$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales de color rojo oscuro. Funde aproximadamente a 217 °C, con descomposición. Soluble en benceno y cloroformo; moderadamente soluble en acetato de etilo, acetona y en alcohol; prácticamente insoluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Clofazimina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto, a temperatura ambiente.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En solución*. Emplear una solución al 5% en cloruro de metileno.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Pureza cromatográfica*. El valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar al obtenido con la *Solución estándar A*.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloruro de metileno y alcohol *n*-propílico (10:1).

Solución de amoníaco - Transferir 1 ml de hidróxido de amonio a un matraz aforado de

100 ml, completar a volumen con agua y mezclar. [NOTA: preparar esta solución en el día de su uso].

Solución estándar A - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clofazimina SR-FA en cloruro de metileno y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg por ml.

Solución estándar B - Diluir una porción de la *Solución estándar A* cuantitativamente con cloruro de metileno para obtener una solución de aproximadamente 0,25 mg por ml.

Solución estándar C - Diluir una porción de la *Solución estándar A* cuantitativamente con cloruro de metileno para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml.

Solución muestra - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clofazimina en cloruro de metileno para obtener una solución de aproximadamente 50 mg por ml.

Procedimiento - Exponer la placa a vapores de amoníaco durante 30 minutos suspendiendo la placa en una cámara cromatográfica que contenga aproximadamente 25 ml de *Solución de amoníaco* y evitando que la placa entre en contacto con el líquido. Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de la *Solución muestra* y 5 µl de las *Soluciones estándar A, B y C*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y secar al aire. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: ninguna mancha secundaria en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser mayor en tamaño e intensidad que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A* (0,1 %) y la suma de las intensidades de las manchas secundarias en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor de 2,0%.

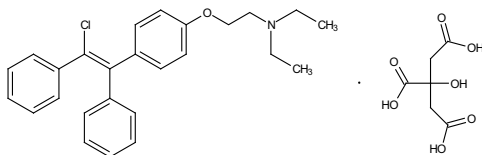
Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 300 mg de Clofazimina, transferir a un erlenmeyer y disolver en 5 ml de cloroformo con la ayuda de calor si fuera necesario. Agregar 20 ml de acetona y 5 ml de ácido acético glacial y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV). Determinar el punto final potenciométricamente, empleando un electrodo de vidrio y un electrodo de calomel con una solución saturada de cloruro de potasio como puente salino y gel de agar como soporte. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 47,34 mg de $C_{27}H_{22}Cl_2N_4$.

CLOMIFENO, CITRATO DE



$C_{26}H_{28}ClNO \cdot C_6H_8O_7$ PM: 598,1 50-41-9

Definición - Citrato de Clomifeno es Citrato de 2-[4-(2-cloro-1,2-difeniletetil)fenoxi]-*N,N*-dietiletanamina. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de una mezcla de los isómeros geométricos *E* y *Z* de $C_{26}H_{28}ClNO \cdot C_6H_8O_7$, calculado sobre la sustancia anhidra. Debe contener no menos de 30,0 por ciento y no más de 50,0 por ciento del Isómero *Z*. Debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o amarillo pálido. Inodoro. Fácilmente soluble en metanol; moderadamente soluble en alcohol; poco soluble en agua y cloroformo; insoluble en éter.

Sustancias de referencia - Citrato de Clomifeno SR-FA. Impureza A de Clomifeno SR-FA: Clorhidrato de (*E,Z*)-2-[4-(1,2-difeniletetil)fenoxi]-*N,N*-dietiletanamina.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe cumplir con los requisitos según se indica en 490. Identificación de bases orgánicas nitrogenadas.

B - Absorción ultravioleta <470>.

Solvente: ácido clorhídrico 0,1 N.

Concentración: 20 µg por ml.

C - Una solución debe responder a los ensayos para Citrato <410>.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 1,0 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Contenido de isómero *Z*

Sistema cromatográfico, *Fase móvil*, *Preparación estándar*, *Solución de resolución* y *Aptitud del sistema* - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* según se indica en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 50 µl de Solución muestra, registrar el cromatograma y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el porcentaje de isómero *Z* en la porción de Citrato de Clomifeno en ensayo, relacionando la respuesta del pico de isómero *Z* con la suma de las respuestas de todos los picos. No debe contener menos de 30,0 ni más de 50,0 % de isómero *Z*.

Sustancias relacionadas

Fase móvil y *Solución de resolución* - Proceder según se indica en *Valoración*.

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 290 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por butilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser de aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Citrato de Clomifeno SR-FA en Fase móvil y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con Fase móvil para obtener una solución de aproximadamente 1,0 µg por ml.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* según se indica en *Valoración*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,9 para la impureza A de clomifeno, 1,0 para el isómero *Z* y 1,2 para el isómero *E*; la resolución, *R* entre la impureza A de clomifeno y el isómero *Z* del citrato de clomifeno no debe ser menor de 1,0; la resolución *R* entre el isómero *Z* y el isómero *E* no debe ser menor de 1,5. Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 2.000 platos teóricos para el isómero *E*; el factor de asimetría para el pico del isómero *E* no debe ser mayor de 3; la desviación estándar relativa de la respuesta de ambos isómeros para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 50 µl de la *Solución muestra*, registrar el cromatograma y medir las respuestas de los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza, en la porción de Citrato de Clomifeno en ensayo, relacionando la respuesta del pico de cada impureza individual con la suma de todos los picos. No debe

contener más de 2,0 % de impureza A de clomifeno ni más de 0,5 % de ninguna impureza individual y la suma de todas las impurezas no debe ser mayor de 2,0 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

[NOTA :emplear material de vidrio inactínico].

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 233 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por butilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser de aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol, agua y trietilamina (55:45:0,3). Ajustar con ácido fosfórico a pH 2,5. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de resolución - Disolver cantidades exactamente pesadas de Impureza A de Clomifeno SR-FA y de Citrato de Clomifeno SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,002 y 0,05 mg por ml, respectivamente.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Citrato de Clomifeno SR-FA en *Fase móvil* y diluir con *Fase móvil* cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, para obtener una solución de aproximadamente 0,05 mg por ml.

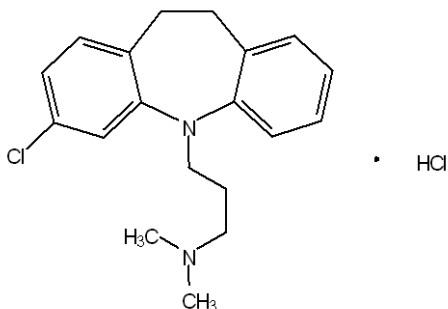
Preparación muestra - Transferir aproximadamente 50 mg de Citrato de Clomifeno exactamente pesados a un matraz aforado de 100 ml, disolver en *Fase móvil*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,9 para la impureza A de clomifeno, 1,0 para el isómero Z y 1,2 para el isómero E; la resolución R entre la impureza A de clomifeno y el isómero Z no debe ser menor de 1,0; la resolución R entre el isómero Z y el isómero E no debe ser menor de 1,5. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de

2.000 platos teóricos para el isómero E; el factor de asimetría para el pico del isómero E no debe ser mayor de 3; la desviación estándar relativa de la respuesta de ambos isómeros para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de Citrato de 2-[4-(2-cloro-1,2-difeniletetil)fenoxi]-N,N-dietiletanamina en la porción de Citrato de Clomifeno en ensayo, a partir de las sumas de las respuestas de los picos de los isómeros E y Z en la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*.

CLOMIPRAMINA, CLORHIDRATO DE



$\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{ClN}_2 \cdot \text{HCl}$ PM: 351,3 17321-77-6

Definición - Clorhidrato de Clomipramina es Monoclorhidrato de 3-cloro-5-[3-(dimetilamino)propil]-10,11-dihidro-5H-dibenz[*b,f*]azepina. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{ClN}_2 \cdot \text{HCl}$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o ligeramente amarillo, algo higroscópico. Fácilmente soluble en agua y cloruro de metileno; soluble en alcohol; prácticamente insoluble en éter.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Clomipramina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Pureza cromatográfica*. La mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra B* se debe corresponder en valor de R_f , intensidad y tamaño, a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A*.

C - Disolver 50 mg de Clorhidrato de Clomipramina en 5 ml de agua y agregar 1 ml de amoníaco (SR). Mezclar, dejar reposar durante 5 minutos y filtrar. Acidificar el filtrado con ácido nítrico diluido y agregar 3 gotas de nitrato de plata (SR): debe responder al ensayo para *Cloruro* <410>.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 191 y 195 °C.

Determinación del pH <250>

Entre 3,5 y 5,0; determinado sobre una solución de aproximadamente 100 mg por ml en agua.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Pureza cromatográfica

[NOTA: preparar las soluciones en el momento de su uso y protegerlas de la luz].

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo, acetona y amoníaco concentrado (75:25:5).

Solución muestra A - Disolver 100 mg de Clorhidrato de Clomipramina en metanol y diluir con el mismo solvente a 5 ml.

Solución muestra B - Diluir 1 ml de la *Solución muestra A* con metanol a 10 ml.

Solución estándar A - Disolver 20 mg de Clorhidrato de Clomipramina SR-FA en metanol y diluir con el mismo solvente a 10 ml.

Solución estándar B - Disolver 20 mg de *Clorhidrato de Imipramina* en metanol y diluir con el mismo solvente a 100 ml.

Solución estándar C - Diluir 1 ml de la *Solución muestra B* con metanol a 50 ml.

Solución estándar D - Diluir 1 ml de la *Solución estándar B* con metanol a 5 ml. A 1 ml de esta solución, agregar 1 ml de la *Solución estándar C*.

Revelador - Preparar una solución de dicromato de potasio al 0,5 % en una solución de ácido sulfúrico al 20 %.

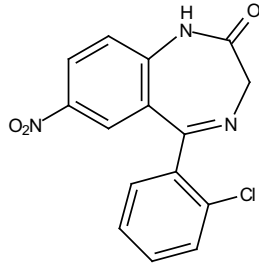
Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 μl de las *Soluciones muestra A* y *B* y 5 μl de las *Soluciones estándar A, B, C* y *D*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*. Examinar la placa inmediatamente. La mancha correspondiente a imipramina en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra A* debe ser menos intensa que la obtenida con la *Solución estándar B* (1,0 %). Ninguna mancha secundaria, a excepción de la mancha principal y de la mancha correspondiente a la imipramina, debe ser más intensa que la obtenida

con la *Solución estándar C* (0,2 %). El ensayo sólo es válido si el cromatograma obtenido con la *Solución estándar D* presenta dos manchas principales completamente separadas.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Clorhidrato de Clomipramina, disolver en 50 ml de alcohol y agregar 1 ml de ácido clorhídrico 0,1 N. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Registrar el volumen agregado entre los dos puntos de inflexión. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 35,13 mg de $C_{19}H_{23}ClN_2 \cdot HCl$.

CLONAZEPAM



$C_{15}H_{10}ClN_3O_3$ PM: 315,7 1622-61-3

Definición - Clonazepam es 5-(2-Clorofenil)-1,3-dihidro-7-nitro-2H-1,4-benzodiazepin-2-ona. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{15}H_{10}ClN_3O_3$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo amarillo claro. Funde aproximadamente a 239 °C. Moderadamente soluble en acetona y cloroformo; poco soluble en alcohol y éter; insoluble en agua.

Sustancias de referencia - Clonazepam SR-FA. Impureza B de Clonazepam SR-FA: 3-Amino-4-(2-clorofenil)-6-nitroquinolin-2(1H)-ona.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 237 y 240 °C.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 15 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas de sílice totalmente porosas de 5 µm de diámetro. El

caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución reguladora - Pesar exactamente alrededor de 6,6 g de fosfato dibásico de amonio anhidro, transferir a un matraz de 1 litro y disolver en 950 ml de agua. Ajustar a pH 8,0 con ácido fosfórico 1 N o hidróxido de sodio 1 N, completar a volumen con agua y mezclar.

Fase móvil - **Solución reguladora**, metanol y tetrahidrofurano (48:42:10). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver 100. *Cromatografía*)

Diluyente - Agua, metanol y tetrahidrofurano (48:42:10).

Solución estándar A - Transferir 1,0 ml de la **Preparación muestra** a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a volumen con **Diluyente**. Transferir 1,0 ml de ésta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con el mismo solvente.

Solución estándar B - Pesar exactamente alrededor de 5 mg de Clonazepam y 5 mg de *Flunitrazepam*, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a volumen con **Diluyente**.

Solución estándar C - Pesar exactamente alrededor de 0,5 mg de Impureza B de Clonazepam SR-FA, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver y completar a volumen con **Diluyente**. Transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a volumen con el mismo solvente.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Clonazepam, transferir a un matraz aforado de 20 ml y completar a volumen con Metanol. Transferir 1 ml de ésta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con **Diluyente**.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la **Solución estándar B** y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 2,1 para impureza B, 2,4 para impureza A ((2-amino-5-nitrofenil)(2-clorofenil)metanona) y 1,0 para clonazepam; la resolución *R* entre los picos de flunitrazepam y clonazepam no debe ser menor de 1,8.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la **Solución estándar A**, **Solución estándar B** y la **Solución muestra**, registrar los cromatogramas durante tres veces el tiempo de retención del clonazepam y medir las respuestas de todos los picos. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la **Solución muestra** debe ser de aproximadamente 7 minutos. En el cromatograma obtenido a partir de la **Solución**

muestra, la respuesta del pico correspondientes a la impureza A de clonazepam no debe ser mayor que la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (0,1 %), la respuesta del pico correspondientes a la impureza B de clonazepam no debe ser mayor que la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar C* (0,1 %), y a excepción del pico principal, la respuesta de ningún pico debe ser mayor que la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar A* (0,1 %). A excepción del pico principal, la suma de las respuestas de todos los picos no debe ser mayor que dos veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (0,2 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta 0,5 veces menor a la del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (0,05 %).

Impurezas orgánicas volátiles <520>

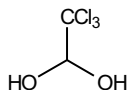
Método III.

Solvente: Dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Pesar exactamente 275 mg de Clonazepam, disolver en 50 ml de ácido acético glacial y titular con ácido perclórico 0,1 M (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 M equivale a 31,57 mg de $C_{15}H_{10}ClN_3O_3$.

CLORAL, HIDRATO DE



$C_2H_3Cl_3O_2$

PM: 165,4

302-17-0

Definición - Hidrato de Cloral es 2,2,2-tricloro-1,1-etanodiol. Debe contener no menos de 99,5 por ciento y no más de 102,5 por ciento de $C_2H_3Cl_3O_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales incoloros, transparentes o blancos. Funde aproximadamente a 55 °C y se volatiliza lentamente cuando se expone al aire. Muy soluble en agua y en aceites fijos; fácilmente soluble en alcohol, cloroformo y éter.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Preparar una solución de Hidrato de Cloral de aproximadamente 1 mg por ml. Transferir 1 ml de esta solución a un erlenmeyer de 125 ml y diluir a aproximadamente 10 ml con agua. Agregar 10 ml de solución de ioduro de 1-etilquinadino 15 en 1.000, previamente filtrada. Agregar 60 ml de alcohol isopropílico, 5 ml de solución de monoetanolamina 0,1 M y 15 ml de agua. Mezclar y calentar en un baño de agua a 60 °C durante 15 minutos: se debe producir una coloración azul.

Acidez

Una solución 1 en 20 de Hidrato de Cloral no debe enrojecer inmediatamente el papel de tornasol azul humedecido.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - A una solución 1 en 10 de Hidrato de Cloral en alcohol, agregar unas gotas de nitrato de plata (SR): cualquier opalescencia producida no debe ser mayor que la que corresponde a 0,10 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,007 %).

Ensayo de sustancias fácilmente carbonizables <350>

Agitar 500 mg de Hidrato de Cloral con 5 ml de ácido sulfúrico (SR) a intervalos de 5 minutos durante 1 hora, en una probeta con tapón de vidrio

previamente enjuagada con ácido sulfúrico (SR) y transferir la mezcla a un tubo de Nessler: el color de la solución no debe ser más intenso que el de la *Solución de comparación P*.

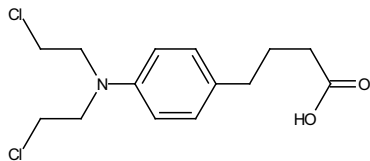
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 4,0 g de Hidrato de Cloral, disolver en 10 ml de agua, agregar 30,0 ml de hidróxido de sodio 1 N (SV) y dejar la mezcla en reposo durante 2 minutos. Agregar unas gotas de fenolftaleína (SR) y titular el álcali residual inmediatamente con ácido sulfúrico 1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 1 N equivale a 165,4 mg de $C_2H_3Cl_3O_2$.

CLORAMBUCILO



$C_{14}H_{19}Cl_2NO_2$ PM: 304,2 305-03-3

Definición - Clorambucilo es Ácido 4-[bis(2-cloroetil)amino]bencenobutanoico. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{14}H_{19}Cl_2NO_2$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo ligeramente granular casi blanco. Fácilmente soluble en acetona; soluble en álcalis diluidos; muy poco soluble en agua.

Sustancia de referencia - Clorambucilo SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

Precaución - Evitar la inhalación y el contacto con la piel.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En solución*. Emplear una solución de Clorambucilo 1 en 125, en disulfuro de carbono y una celda de 1 mm.

B - Disolver 50 mg de Clorambucilo en 5 ml de acetona y diluir con agua a 10 ml. Agregar 1 gota de ácido nítrico al 12,5 % p/v y 4 gotas de nitrato de plata (SR): no se debe observar opalescencia de inmediato (ausencia de ion cloruro). Calentar la solución en un baño de vapor: debe aparecer opalescencia (presencia de cloro ionizable).

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 65 y 69 °C.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,5 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Sustancias relacionadas

[NOTA: realizar todas las operaciones tan rápidamente como sea posible, evitando la exposición a la luz. Preparar las soluciones inmediatamente antes de su uso.]

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno, metanol, heptano y metilacetona (40:25:20:20).

Solución muestra - Disolver 200 mg de Clorambucilo en acetona y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar A - Diluir 1 ml de *Solución muestra* a 50 ml con acetona.

Solución estándar B - Diluir 25 ml de *Solución muestra* a 100 ml con acetona.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de la *Solución muestra* y 5 µl de las *Soluciones estándar A* y *B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente la mitad de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: a excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ninguna mancha debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar A* (2,0 %) y sólo una de ellas puede ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar B* (0,5 %).

Impurezas orgánicas volátiles <520>

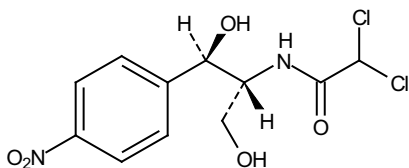
Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Clorambucilo, disolver en 10 ml de acetona, agregar 10 ml de agua y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), empleando fenolftaleína (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 30,42 mg de $C_{14}H_{19}Cl_2NO_2$.

CLORANFENICOL



$C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ PM: 323,1 56-75-7

Definición - Cloranfenicol es [R-(R*,R*)]-2,2-Dicloro-N-[2-hidroxi-1-(hidroximetil)-2-(4-nitrofenil)etil]acetamida. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino, cristales, agujas o escamas alargadas blanco, blanco-grisáceo o blanco-amarillento. Sus soluciones son prácticamente neutras al tornasol. La solución en etanol es dextrorrotatoria y en acetato de etilo es levorrotatoria. Fácilmente soluble en acetato de etilo, acetona, alcohol y propilenglicol; poco soluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Cloranfenicol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. Proceder según se indica en *Identificación por medio de espectros de referencia*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre + 17,0° y + 20,0°.

Solución muestra: 50 mg por ml, en alcohol absoluto. [NOTA: no secar la muestra].

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 7,5, determinado sobre una suspensión acuosa de aproximadamente 25 mg por ml.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 149 y 153 °C.

Cristalinidad

Colocar partículas de Cloranfenicol en aceite mineral, sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas deben presentar birrefringencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

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

Solución madre del estándar - Preparar una solución de Cloranfenicol SR-FA en metanol de aproximadamente 10 mg por ml.

Solución estándar A - Diluir una porción de la *Solución madre del estándar* cuantitativamente con metanol para obtener una solución de aproximadamente 100 µg por ml.

Solución estándar B - Diluir una porción de la *Solución madre del estándar* cuantitativamente con metanol para obtener una solución de aproximadamente 50 µg por ml.

Solución muestra - Disolver una cantidad exactamente pesada de Cloranfenicol en metanol para obtener una solución de aproximadamente 10 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 20 µl de la *Solución muestra* y 20 µl de las *Soluciones estándar A* y *B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente, dejar secar al aire y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm: a excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ninguna mancha debe ser mayor en tamaño o intensidad a la mancha principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar A* (1 %); y la suma de las intensidades de todas las manchas, con excepción de la mancha principal, no debe ser mayor de 2 %.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que el Cloranfenicol es estéril, debe cumplir con los requisitos según se indica en *Método de Filtración por membrana*, empleando 1 g de Cloranfenicol.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que el Cloranfenicol es estéril, no debe contener más de 0,2 Unidades de Endotoxina por mg de Cloranfenicol.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 10 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, metanol y ácido acético glacial (55:45:0,1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Cloranfenicol SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 80 µg por ml. Filtrar una porción de esta solución a través de una membrana de 0,5 µm o de porosidad menor y emplear el filtrado transparente.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Cloranfenicol, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver con *Fase móvil*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Transferir 4,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Filtrar una porción de esta solución a través de una membrana de 0,5 µm o de porosidad menor y emplear el filtrado transparente.

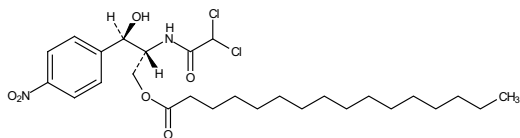
Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna determinada para el pico de cloranfenicol no debe ser menor de 1.800 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₁₁H₁₂Cl₂N₂O₅ en la porción de Cloranfenicol en ensayo.

ROTULADO

Cuando el Cloranfenicol esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas inyectables, indicar en el rótulo que es estéril.

CLORANFENICOL, PALMITATO DE



$C_{27}H_{42}Cl_2N_2O_6$

PM: 561,6

530-43-8

Definición - Palmitato de Cloranfenicol es Palmitato de [*R*-(*R**,*R**)]-2,2-dicloro-*N*-[2-hidroxi-1-(hidroximetil)-2-(4-nitrofenil)etil]acetamida.

Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{27}H_{42}Cl_2N_2O_6$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco, untuoso al tacto. Fácilmente soluble en acetona y cloroformo; soluble en éter; moderadamente soluble en alcohol; muy poco soluble en éter de petróleo; insoluble en agua.

Presenta polimorfismo; la forma termodinámicamente estable tiene una biodisponibilidad reducida cuando se administra por vía oral.

Sustancias de referencia - Cloranfenicol SR-FA. Isómero del Palmitato de Cloranfenicol SR-FA. Dipalmitato de Cloranfenicol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Alcohol y acetato de amonio al 10 % (70:30).

Solución muestra - Disolver 50 mg de Palmitato de Cloranfenicol en una mezcla de 1 ml de hidróxido de sodio 1 N y 5 ml de acetona y dejar reposar durante 30 minutos. Agregar 1,1 ml de ácido clorhídrico 1 N y 3 ml de acetona.

Solución estándar A - Disolver 10 mg de Cloranfenicol SR-FA en acetona y diluir a 5 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 10 mg de ácido palmítico en acetona y diluir a 5 ml con el mismo solvente.

Solución estándar C - Disolver 10 mg de Palmitato de Cloranfenicol en acetona y diluir a 5 ml con el mismo solvente.

Revelador - Una solución alcohólica de diclorofluoresceína al 0,02 % y rodamina B al 0,01 %.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 4 μ l de la *Solución muestra* y 4 μ l de las *Soluciones estándar A, B y C*. Desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*, dejar secar al aire y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm: el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe presentar tres manchas que deben corresponder en valor de R_f a las manchas principales en los cromatogramas obtenidos a partir de las *Soluciones estándar A, B y C*.

B - Disolver 200 mg de Palmitato de Cloranfenicol en 2 ml de piridina, agregar 2 ml de solución de hidróxido de potasio al 10 % y calentar en baño de agua: se debe desarrollar color rojo.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 87 y 95 °C.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +21° y +25°.

Solución muestra: 50 mg por ml, en alcohol absoluto. [NOTA: no secar la muestra.]

Cristalinidad

Colocar partículas de Palmitato de Cloranfenicol en aceite mineral, sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas deben presentar birrefringencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

Acidez

Disolver 1,0 g de Palmitato de Cloranfenicol, por calentamiento a 35 °C, con 5 ml de una mezcla de alcohol al 80 % y éter (1:1), previamente neutralizada empleando fenolftaleína (SR) como indicador. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), empleando fenolftaleína (SR) como indicador, hasta que agitando suavemente aparezca color rosado que persista durante no menos de 30 segundos: no se deben consumir más de 0,4 ml.

Cloranfenicol libre

Disolver 1,0 g de Palmitato de cloranfenicol SR-FA calentando suavemente en 80 ml de xileno. Enfriar, transferir a una ampolla de decantación y agitar con tres porciones de 15 ml de agua. Diluir los extractos acuosos combinados a 50 ml con agua y agitar con 10 ml de tolueno. Dejar separar las fases y descartar la orgánica. Centrifugar

una porción de la fase acuosa y medir la absorbancia, en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 278 nm, con un espectrofotómetro, empleando una solución tratada del mismo modo que la muestra pero sin el agregado de esta, como blanco. Calcular la cantidad de cloranfenicol libre en ppm por la fórmula siguiente:

$$10^4 A / 5,96$$

en la cual A es la absorbancia de la solución en ensayo: no debe contener más de 450 ppm.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Ciclohexano, cloroformo y metanol (50:40:10).

Solución muestra - Disolver 100 mg de Palmitato de Cloranfenicol en acetona y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar A - Disolver 20 mg del Isómero de Palmitato de Cloranfenicol SR-FA en acetona y diluir a 10 ml con el mismo solvente. Diluir 1 ml de esta solución a 10 ml con acetona.

Solución estándar B - Disolver 20 mg de Dipalmitato de Cloranfenicol SR-FA en acetona y diluir a 10 ml con el mismo solvente. Diluir 1 ml de esta solución a 10 ml con acetona.

Solución estándar C - Disolver 5 mg de Cloranfenicol SR-FA en acetona y diluir a 10 ml con el mismo solvente. Diluir 1 ml de esta solución a 10 ml con acetona.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de las *Soluciones estándar A, B y C*. Desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente, dejar secar al aire y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm: en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ninguna mancha correspondiente al isómero de palmitato de cloranfenicol y al dipalmitato de cloranfenicol debe ser más intensa que la mancha correspondiente en los cromatogramas obtenidos con las *Soluciones estándar A y B* (2 %) y a excepción de la mancha principal y las manchas correspondientes al isómero de palmitato de cloranfenicol y dipalmitato de cloranfenicol, ninguna otra mancha debe ser más intensa que la mancha principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar C* (0,5 %).

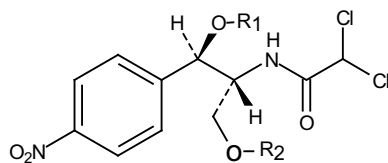
Pérdida por secado <680>

Secar hasta peso constante sobre pentóxido de fósforo, al vacío, a una presión no mayor de 5 mm Hg: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Disolver 90,0 mg de Palmitato de Cloranfenicol en alcohol y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Diluir 10,0 ml de esta solución a 250 ml con alcohol y medir la absorbancia de esta solución, en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 271 nm. Calcular la cantidad de $C_{27}H_{42}Cl_2N_2O_6$ considerando el coeficiente de extinción específica $E(1\%, 1\text{ cm})$ igual a 178.

CLORANFENICOL, SUCCINATO SÓDICO DE



Isómero 1: R₁ = CO-CH₂-CH₂-CO₂Na, R₂ = H.

Isómero 3: R₁ = H, R₂ = CO-CH₂-CH₂-CO₂Na.

C₁₅H₁₅Cl₂N₂NaO₈ PM: 445,2 982-57-0

Definición - Succinato Sódico de Cloranfenicol es una mezcla en cantidades variables de (2*R*,3*R*)-2-[(Dicloroacetil)amino]-3-hidroxi-3-(4-nitrofenil)propil butanodioato de sodio (*Isómero 3*) y de (1*R*,2*R*)-2-[(Dicloroacetil)amino]-3-hidroxi-1-(4-nitrofenil)propil butanodioato de sodio (*Isómero 1*). Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de C₁₅H₁₅Cl₂N₂NaO₈, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o blanco amarillento. Higroscópico. Muy soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol; prácticamente insoluble en éter.

Sustancias de referencia - Cloranfenicol SR-FA. Succinato Sódico de Cloranfenicol SR-FA. Disuccinato Disódico de Cloranfenicol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol y ácido acético diluido (85:14:1).

Solución estándar A - Disolver 20 mg de Succinato Sódico de Cloranfenicol SR-FA en 2 ml de acetona.

Solución estándar B - Disolver 20 mg de Cloranfenicol SR-FA en 2 ml de acetona.

Solución muestra - Disolver 20 mg de Succinato Sódico de Cloranfenicol en 2 ml de acetona.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 2 µl de la *Solución muestra* y 2 µl de las *Soluciones estándar A* y *B*.

Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente, dejar secar al aire y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm: las dos manchas principales en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* deben ser similares en tamaño y valor de *R_f* a las manchas obtenidas con la *Solución estándar A* y sus posiciones deben ser diferentes a las obtenidas con la *Solución estándar B*.

B - Disolver 50 mg de Succinato Sódico de Cloranfenicol en 1 ml de piridina. Agregar 0,5 ml de solución de hidróxido de sodio al 8,5 % p/v y 1,5 ml de agua. Calentar en un baño de agua durante 3 minutos: se debe desarrollar color rojo. Agregar 2 ml de ácido nítrico y enfriar en corriente de agua. Agregar 1 ml de nitrato de plata (SR): se debe formar lentamente un precipitado blanco.

C - Debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

Determinación de pH <250>

Entre 6,4 y 7,0, determinado sobre una solución de 2,5 g de Succinato Sódico de Cloranfenicol en 10 ml de agua libre de dióxido de carbono.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre + 5,0° y + 8,0°, calculada sobre la sustancia anhidra.

Solución muestra: 50 mg por ml, en agua.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 2,0 %.

Cloranfenicol y disuccinato disódico de cloranfenicol

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 275 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, metanol y solución de ácido fosfórico al 2 % (55:40:5). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar A - Disolver 10 mg de Cloranfenicol SR-FA en *Fase móvil* y diluir a 10 ml con *Fase móvil* (*Solución a*). Diluir 5 ml de esta solución a 100 ml con *Fase móvil*.

Solución estándar B - Disolver 10 mg de Disuccinato Disódico de Cloranfenicol SR-FA en *Fase móvil* y diluir a 100 ml con *Fase móvil* (*Solu-*

ción b). Diluir 5 ml de esta solución a 100 ml con *Fase móvil*.

Solución de resolución - Disolver 25 mg de Succinato Sódico de Cloranfenicol en *Fase móvil*, agregar 5 ml de la *Solución a* y 5 ml de la *Solución b* y diluir a 100 ml con *Fase móvil*.

Solución muestra - Disolver 25 mg de Succinato Sódico de Cloranfenicol en *Fase móvil* y diluir a 100 ml con *Fase móvil*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución*, las *Soluciones estándar A* y *B* y la *Solución muestra* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: en el cromatograma obtenido con la *Solución de resolución*, las señales con tiempos de retención correspondientes a los picos principales obtenidos a partir de las *Soluciones estándar A* y *B* deben estar separadas de las señales con tiempo de retención correspondientes a los dos picos principales obtenidos a partir de la *Solución muestra*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución muestra*, la *Solución de resolución* y las *Soluciones estándar A* y *B*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta del pico correspondiente al cloranfenicol no debe ser mayor que la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (2,0 %) y la respuesta del pico correspondiente al disuccinato disódico de cloranfenicol no debe ser mayor que la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar B* (2,0 %).

Ensayo de pirogénos <340>

Cuando Succinato Sódico de Cloranfenicol esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas parenterales, debe cumplir con los requisitos del ensayo. Inyectar a cada conejo 2,5 ml de una solución de aproximadamente 2 mg de Succinato Sódico de Cloranfenicol por ml en *Agua para Inyectables*, por kilogramo de peso corporal.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando Succinato Sódico de Cloranfenicol esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas parenterales, debe cumplir con los requisitos del ensayo.

VALORACIÓN

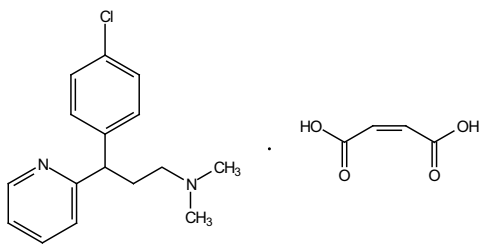
Disolver 200 mg de Succinato Sódico de Cloranfenicol en agua y diluir a 500 ml con el mismo solvente. Diluir 5 ml de esta solución a 100 ml con agua y medir la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 276 nm. Calcular el contenido de $C_{15}H_{15}Cl_2N_2NaO_8$, consi-

derando el coeficiente de extinción específica $E(1\%,1cm)$ igual a 220.

ROTULADO

Cuando el Succinato Sódico de Cloranfenicol esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas parenterales, indicar en el rótulo que es estéril y apiretógeno.

CLORFENIRAMINA, MALEATO DE



$C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$ PM: 390,9 113-92-8

Definición - Maleato de Clorfeniramina es Maleato de 2-[(*p*-cloro)- α -[2-dimetilaminoetil] bencil]piridina. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco, inodoro. Sus soluciones tienen un pH entre 4 y 5. Fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol y cloroformo; poco soluble en éter.

Sustancia de referencia - Maleato de Clorfeniramina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Punto de fusión (ver 260. *Determinación del punto de fusión*): entre 130 y 135 °C.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Ciclohexano, cloroformo y dietilamina (50:40:10).

Solución muestra - Disolver 500 mg de Maleato de Clorfeniramina en cloroformo y diluir a 10,0 ml con el mismo solvente.

Solución estándar - Diluir 1 ml de *Solución muestra* a 50 ml con cloroformo y mezclar. Transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de

10 ml, completar a volumen con cloroformo y mezclar.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente, secar al aire y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm: a excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ninguna mancha debe ser más intensa que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar* (0,2 %). [NOTA: descartar las manchas que aparecen en el origen.]

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Maleato de Clorfeniramina, disolver en 20 ml de ácido acético glacial, agregar 2 gotas de cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 19,54 mg de $C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$.

CLORHÍDRICO, ÁCIDO

HCl PM: 36,5 7647-01-0

Definición - Ácido Clorhídrico debe contener no menos de 36,5 por ciento y no más de 38,0 por ciento, en peso, de HCl y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido incoloro, fumante, con olor irritante característico. Si se diluye en dos veces su volumen de agua, el olor y los vapores desaparecen. Densidad relativa aproximadamente 1,19.

CONSERVACIÓN

En envases de vidrio o de un material inerte de cierre perfecto a una temperatura no mayor de 30 °C.

ENSAYOS

Identificación

Debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación del residuo de ignición <270>

A 20 ml de Ácido Clorhídrico, agregar 2 gotas de ácido sulfúrico, evaporar hasta sequedad y someter a ignición: el peso del residuo no debe ser mayor de 2 mg (0,008 %).

Bromuro o ioduro, bromo o cloro libre, sulfato y sulfito

Solución muestra - Diluir una porción de Ácido Clorhídrico con 2 volúmenes de agua.

Bromuro y ioduro - Agregar 1 ml de cloroformo a 10 ml de la *Solución muestra* y agregar con cuidado, gota a gota, agitando constantemente, una mezcla de cloro (SR) y agua (50:50): el cloroformo no debe desarrollar coloración amarilla, anaranjada o violeta.

Bromo o cloro libre - Agregar 1 ml de ioduro de potasio (SR) y 1 ml de cloroformo a 10 ml de la *Solución muestra* y agitar: el cloroformo no debe desarrollar coloración violeta durante no menos de 1 minuto.

Sulfato - A una mezcla de 3 ml de la *Solución muestra* y 5 ml de agua, agregar 5 gotas de cloruro de bario (SR): no se debe producir turbidez ni precipitado durante 1 hora.

Sulfito - A la solución obtenida en *Sulfato*, agregar 2 gotas de iodo 0,1 N: no se debe producir turbidez ni decoloración del iodo.

Límite de metales pesados <590>

Evaporar 3,4 ml de Ácido Clorhídrico, equivalente a 4 g, en un baño de vapor hasta sequedad, agregar 2 ml de ácido acético 1 N al residuo obtenido y diluir con agua a 25 ml: el límite es 5 ppm.

VALORACIÓN

Transferir aproximadamente 3 ml de Ácido

Clorhídrico a un erlenmeyer con tapón de vidrio, previamente pesado, que contenga aproximadamente 20 ml de agua y pesar. Agregar 25 ml de agua, agregar 3 gotas de rojo de metilo (SR) y titular con hidróxido de sodio 1 N (SV). Cada ml de hidróxido de sodio 1 N equivale a 36,46 mg de HCl.

CLORHÍDRICO DILUIDO, ÁCIDO

Definición - Ácido Clorhídrico Diluido debe contener no menos de 9,5 por ciento y no más de 10,5 por ciento, de HCl y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

FORMULACIÓN

Clorhídrico, ácido 226 ml
Agua c.s.p. 1.000 ml

Transferir la porción de ácido clorhídrico a un matraz aforado de 1 litro, completar a volumen con agua y mezclar.

Caracteres generales - Líquido incoloro. Inodoro. Densidad relativa aproximadamente 1,05.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación del residuo de ignición <270>

A 20 ml de Ácido Clorhídrico Diluido, agregar 2 gotas de ácido sulfúrico, evaporar hasta sequedad y someter a ignición: el peso del residuo no debe ser mayor de 2 mg (0,008 %).

Sulfato

A 3 ml de Ácido Clorhídrico Diluido, agregar 5 ml de agua, mezclar y agregar 5 gotas de cloruro de bario (SR): no se debe producir turbidez ni precipitado durante 1 hora.

Sulfito

A la solución obtenida en *Sulfato*, agregar 2 gotas de iodo 0,1 N: no se debe producir turbidez ni decoloración de iodo.

Bromo o cloro libre

A 10 ml de Ácido Clorhídrico Diluido, agregar 1 ml de ioduro de potasio (SR) y 1 ml de cloroformo y agitar: la fase clorofórmica no debe desarrollar color violeta durante no menos de 1 minuto.

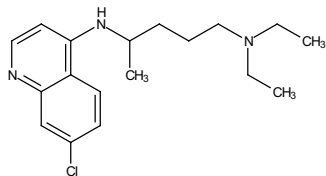
Límite de metales pesados <590>

A 3,8 ml de Ácido Clorhídrico Diluido, equivalente a 4 g, agregar 5 ml de agua y 1 gota de fenoltaleína (SR). Agregar hidróxido de amonio 6 N hasta que la solución desarrolle una ligera coloración rosada. Agregar 2 ml de ácido acético 1 N y diluir con agua a 25 ml. El límite es 5 ppm.

VALORACIÓN

Transferir aproximadamente 10 ml de Ácido Clorhídrico Diluido a un erlenmeyer, agregar 30 ml de agua y 3 gotas de rojo de metilo (SR) y titular con hidróxido de sodio 1 N (SV). Cada ml de hidróxido de sodio 1 N equivale a 36,46 mg de HCl.

CLOROQUINA



$C_{18}H_{26}ClN_3$
54-05-7

PM: 319,9

Definición - Cloroquina es N^4 -(7-Cloro-4-quinolinil)- N^1, N^1 -dietil-1,4-pentanodiamina. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{18}H_{26}ClN_3$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o amarillo claro. Soluble en ácidos diluidos, cloroformo y éter; muy poco soluble en agua.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: ácido clorhídrico diluido (1 en 1.000).

Concentración: 10 μg por ml.

Relación de absorbancias A_{343}/A_{329} : entre 1,00 y 1,15.

B - Punto de fusión <260>. Entre 87 y 92 °C.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 2,0 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

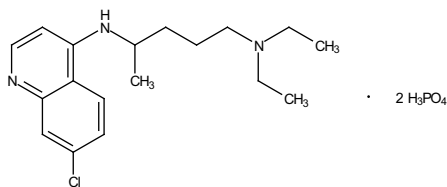
Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Cloroquina, disolver en 50 ml de ácido acético glacial (SR), agregar cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 15,99 mg de $C_{18}H_{26}ClN_3$.

CLOROQUINA, FOSFATO DE



$\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{ClN}_3 \cdot 2\text{H}_3\text{PO}_4$ PM: 515,9 50-63-5

Definición - Fosfato de Cloroquina es Fosfato de N^4 -(7-cloro-4-quinolinil)- N^1, N^1 -diethyl-1,4-pentanodiamina (2:1). Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{ClN}_3 \cdot 2\text{H}_3\text{PO}_4$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Higroscópico. Fácilmente soluble en agua; muy poco soluble en alcohol, éter y metanol.

Presenta dos formas polimórficas, una funde aproximadamente a 195 °C y la otra a 218 °C.

Sustancias de referencia - Fosfato de Cloroquina SR-FA. Sulfato de Cloroquina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. Disolver 100 mg de Fosfato de Cloroquina en 10 ml de agua. Agregar 2 ml de hidróxido de sodio al 8,5 % y agitar con dos porciones de 20 ml de cloroformo. Combinar los extractos clorofórmicos, lavar con agua y secar sobre sulfato de sodio anhidro. Disolver el residuo obtenido con 2 ml de cloroformo. Comparar el espectro obtenido con una solución de Sulfato de Cloroquina SR-FA preparada del mismo modo, excepto que deben pesarse 80 mg de Sulfato de Cloroquina SR-FA.

B - Disolver 100 mg de Fosfato de Cloroquina en agua y diluir a 100,0 ml con el mismo solvente. Diluir 1 ml de esta solución a 100,0 ml con agua y examinar entre 210 y 370 nm: el espectro de absorción ultravioleta de esta solución (ver 470. *Especrofotometría ultravioleta y visible*) debe presentar máximos a 220, 235, 256, 329 y 342 nm. La absorbancia específica a estas longitudes de onda debe estar comprendida entre 600 y 660, 350 y 390, 300 y 330, 325 y 355, 360 y 390, respectivamente.

Determinación del pH <250>

Entre 3,8 y 4,3; determinado sobre una solución preparada disolviendo 2,5 g de Fosfato de Cloroquina en agua libre de dióxido de carbono y diluida a 25 ml con el mismo solvente.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 2,0 %.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, ciclohexano y dietilamina (50:40:10).

Solución muestra - Disolver 500 mg de Fosfato de Cloroquina en agua y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar - Diluir 1 ml de la *Solución muestra* a 100 ml con agua.

Solución estándar diluida - Diluir 5 ml de la *Solución estándar* a 10 ml con agua.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 2 µl de la *Solución muestra*, 2 µl de la *Solución estándar* y 2 µl de la *Solución estándar diluida*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: a excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ninguna mancha debe ser mayor en tamaño o intensidad que la obtenida con la *Solución estándar* (1,0 %) y no más de una mancha debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar diluida* (0,5 %).

Límite de metales pesados <590>

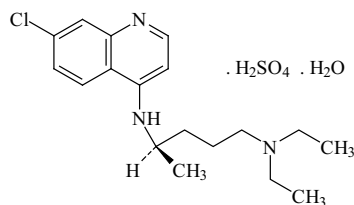
Método IV. Disolver 2 g de Fosfato de Cloroquina en 10 ml de agua. Agregar 5 ml de amoníaco concentrado y agitar con 40 ml de éter. Filtrar la fase acuosa y neutralizar el filtrado con ácido acético glacial. Calentar en un baño de agua para eliminar el éter, dejar enfriar y diluir a 20 ml con agua. Preparar la *Solución estándar* empleando *Solución estándar de plomo* (2 ppm). El límite es 0,002 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Fosfato de Cloroquina, disolver en 50 ml de ácido acético glacial y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con

un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 25,79 mg de $C_{18}H_{26}ClN_3 \cdot 2H_3PO_4$.

CLOROQUINA, SULFATO DE



C₁₈H₂₈ClN₃O₄S . H₂O

PM: 436,0

Definición - Sulfato de Cloroquina es Sulfato de *N*⁴-(7-cloro-4-quinolinil)-*N*¹, *N*¹-dietil-1,4-pentandiamina. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,0 por ciento de C₁₈H₂₈ClN₃O₄S . H₂O, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Funde aproximadamente a 208 °C. Fácilmente soluble en agua y metanol; muy poco soluble en alcohol; prácticamente insoluble en éter.

Sustancia de referencia - Sulfato de Cloroquina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos herméticos.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. Disolver por separado, 0,1 g de Sulfato de Cloroquina y 0,1 g de Sulfato de Cloroquina SR-FA en 10 ml de agua. Agregar a cada uno 2 ml de hidróxido de sodio al 8,5 % p/v y extraer con dos porciones de 20 ml de cloroformo. Combinar las fases clorofórmicas, lavar con agua y secar sobre sulfato de sodio anhidro, evaporar hasta sequedad y disolver los residuos por separado en 2 ml de cloroformo.

B - Absorción ultravioleta <470>. Disolver 0,1 g de Sulfato de Cloroquina en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Diluir 1 ml de esta solución a 100 ml con agua y examinar entre 210 y 370 nm: esta solución debe presentar máximos de absorción a 220, 235, 256, 329 y 342 nm. Las absorptividades específicas en estos máximos deben estar comprendidas entre 730 y 810; entre 430 y 470; entre 370 y 410; entre 400 y 440 y entre 430 y 470, respectivamente.

C - Debe responder a los ensayos para Sulfato <410>.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 206 y 209 °C.

Solución muestra: disolver 25 mg de Sulfato de Cloroquina en 20 ml de agua y agregar 8 ml de ácido pícrico (SR1). Lavar el precipitado con agua, alcohol y finalmente con éter.

Determinación del pH <250>

Entre 4,0 y 5,0; determinado sobre una solución preparada disolviendo 2,0 g de Sulfato de Cloroquina en 25 ml de agua libre de dióxido de carbono.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. Cromatografía) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, ciclohexano y dietilamina (50:40:10).

Solución muestra - Disolver 500 mg de Sulfato de Cloroquina en agua y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar A - Diluir 1 ml de la Solución muestra a 100 ml con agua.

Solución estándar B - Diluir 5 ml de la Solución muestra a 10 ml con agua.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 2 µl de la Solución muestra y 2 µl de las Soluciones estándar A y B. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente, dejar secar al aire y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm: a excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la Solución muestra, ninguna mancha debe ser mayor en tamaño o intensidad que la mancha obtenida con la Solución estándar A (1 %); y no más de una mancha debe ser más intensa que la obtenida con la Solución estándar B (0,5 %).

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 3,0 y 5,0 %; determinado sobre 500 mg de Sulfato de Cloroquina.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

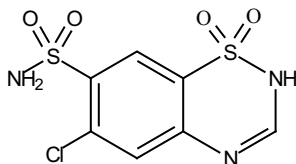
Método IV. Disolver 2 g de Sulfato de Cloroquina en 10 ml de agua. Agregar 5 ml de amoníaco concentrado y agitar con 40 ml de éter. Filtrar la fase acuosa y neutralizar el filtrado con ácido acético glacial. Calentar en un baño de agua para eliminar el éter, dejar enfriar y diluir a 20 ml con agua: 12 ml de esta solución no deben contener más de

0,002 %. Preparar la *Solución estándar* empleando *Solución estándar de plomo (2 ppm)*.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 400 mg de Sulfato de Cloroquina, disolver en 50 ml de ácido acético glacial y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 41,8 mg de $C_{18}H_{28}ClN_3O_4S$.

CLOROTIAZIDA



$C_7H_6ClN_3O_4S_2$ PM: 295,7 58-94-6

Definición - Clorotiazida es 6-Cloro-2H-1,2,4-benzotiazina-7-sulfonamida-1,1-dioxido. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_7H_6ClN_3O_4S_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Inodoro. Funde aproximadamente a 340 °C, con descomposición. Fácilmente soluble en dimetilformamida y dimetilsulfóxido; poco soluble en metanol y piridina; muy poco soluble en agua; prácticamente insoluble en cloroformo y éter.

Sustancias de referencia - Clorotiazida SR-FA. 4-Amino-6-cloro-1,3-benzenodisulfonamida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*. [NOTA: secar previamente a 105 °C durante 1 hora.]

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: hidróxido de sodio 1 en 250.

Concentración: 10 µg por ml.

Las absorbividades a 292 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Disolver 1,0 g de Clorotiazida en una mezcla de 10 ml de agua y 10 ml de hidróxido de sodio 1 en 10. Enfriar en un baño de hielo, agregar 20 ml de agua y 5 ml de ácido nítrico: se debe formar un precipitado blanco. Titular potenciométricamente con nitrato de plata 0,050 N, empleando un sistema de electrodos plata-cloruro de plata: no deben consumirse más de 0,28 ml (0,05 %).

Límite de selenio <610>

No más de 0,003 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 1 hora: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Límite de 4-amino-6-cloro-1,3-benzenodisulfonamida

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar, Preparación muestra y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de 4-amino-6-cloro-1,3-benzenodisulfonamida en la porción de Clorotiazida en ensayo, relacionando las respuestas de los picos de 4-amino-6-cloro-1,3-benzenodisulfonamida obtenidos con la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*. No debe contener más de 1,0 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,2 ml por minuto.

Fase móvil - Fosfato monobásico de sodio 0,1 M y acetonitrilo (9:1). Ajustar a pH 3,0 ± 0,1 con ácido fosfórico. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

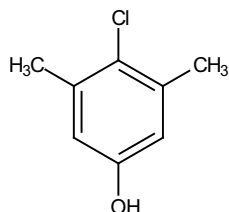
Preparación estándar - [NOTA: un volumen de acetonitrilo que no exceda el 10 % del volumen total de la preparación puede ser empleado para disolver las *Sustancias de referencia*]. Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorotiazida SR-FA y 4-Amino-6-cloro-1,3-benzenodisulfonamida SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,15 mg por ml de Clorotiazida SR-FA y 1,5 µg por ml de 4-Amino-6-cloro-1,3-benzenodisulfonamida SR-FA.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 30 mg de Clorotiazida, transferir a un matraz aforado de 200 ml, disolver en un pequeño volumen de acetonitrilo que no exceda el 10 % del volumen total de la preparación, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. Cromatografía) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,9 para 4-amino-6-cloro-1,3-bencenodisulfonamida y 1,0 para clorotiazida; la resolución *R* entre los picos de 4-amino-6-cloro-1,3-bencenodisulfonamida y clorotiazida no debe ser menor de 3,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,5 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_7H_6ClN_3O_4S_2$ en la porción de Clorotiazida en ensayo.

CLOROXILENOL



C_8H_9ClO PM: 156,6 88-04-0

Definición - Cloroxilenol es 4-Cloro-3,5-dimetil-fenol. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 103,0 por ciento de C_8H_9ClO , calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino o cristales blancos, de olor característico. Fácilmente soluble en alcohol, éter, aceites fijos y en soluciones de hidróxidos alcalinos; muy poco soluble en agua.

Sustancias de referencia - Cloroxilenol SR-FA. Impureza A de Cloroxilenol SR-FA: 2-Cloro-3,5-dimetilfenol.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 114 y 116 °C.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,5 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de hierro <580>

Transferir 0,10 g de Cloroxilenol a un crisol apropiado, agregar 5 gotas de ácido sulfúrico y someter a ignición hasta reducción completa a cenizas. Agregar a la masa carbonizada 10 gotas de ácido sulfúrico y calentar cuidadosamente hasta que no se desprendan vapores blancos. Someter a ignición, a una temperatura entre 500 y 600 °C, hasta carbonizar completamente. Enfriar, agregar 4 ml de ácido clorhídrico 6 N, tapar, digerir en un baño de

vapor durante 15 minutos, destapar y evaporar lentamente en un baño de vapor hasta sequedad. Humedecer el residuo con 1 gota de ácido clorhídrico, agregar 10 ml de agua caliente y digerir durante 2 minutos. Diluir con agua a aproximadamente 25 ml. Filtrar, si fuera necesario, lavar el crisol y el filtro con 10 ml de agua, combinar el filtrado y los lavados en un tubo de Nessler de 50 ml, agregar 2 ml de ácido clorhídrico, diluir con agua a 47 ml y mezclar. No debe contener más de 0,01 %.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Disolver cuantitativamente cantidades exactamente pesadas de Impureza A de Cloroxilenol SR-FA y 3,5-dimetilfenol en cloroformo para obtener una solución de aproximadamente 0,08 mg de cada uno por ml.

Solución muestra - Disolver cuantitativamente una cantidad exactamente pesada de Cloroxilenol en cloroformo para obtener una solución de aproximadamente 40,0 mg por ml.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de 3,5-dimetilfenol y de impureza A de cloroxilenol no debe ser menor de 4,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 10 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 1 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos.

Calcular los porcentajes de 3,5-dimetilfenol ($C_8H_{10}O$) o de Impureza A de Cloroxilenol (C_8H_9ClO) en la porción de Cloroxilenol en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$0,2r_M/r_E$$

en la cual r_M y r_E son las respuestas de los picos de 3,5-dimetilfenol o Impureza A de Cloroxilenol, según corresponda, obtenidas a partir de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, respectivamente: no debe contener más de 0,2 % de 3,5-dimetilfenol ni de Impureza A de Cloroxilenol.

Calcular el porcentaje de cada impureza individual en la porción de Cloroxilenol en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$100r_i/r_t$$

en la cual r_i es la respuesta de cada pico obtenido en la *Solución muestra*, excluyendo el pico de cloroxilenol, de 3,5-dimetilfenol y de la Impureza A de Cloroxilenol y r_t es la suma de las respuestas de

todos los picos : no debe contener más de 0,5 % de cualquier impureza individual.

Calcular el porcentaje total de impurezas en la porción de Cloroxilenol en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$100r_T/r_i$$

en la cual r_T es la suma de las respuestas de todos los picos, excluyendo el pico de cloroxilenol y r_i es la suma de las respuestas de todos los picos, excluyendo el pico del solvente, obtenidos en la *Solución muestra*: no debe contener más de 1,5 % de impurezas totales.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de 1,8 m × 4 mm con fase estacionaria constituida por 3 % de polietilenglicol de peso molecular promedio aproximado 15.000 sobre un soporte de tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada a 900 °C mezclando tierra de diatomea con Na₂CO₃ [NOTA: la tierra silícea se lava con ácidos, luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dime-tildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener la columna, el inyector y el detector a 210 °C. Se debe emplear nitrógeno seco como gas transportador con un caudal de aproximadamente 30 ml por minuto.

Solución del estándar interno - Preparar una solución de *p*-clorofenol en cloroformo de aproximadamente 0,8 mg por ml.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Cloroxilenol SR-FA en *Solución del estándar interno* para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml.

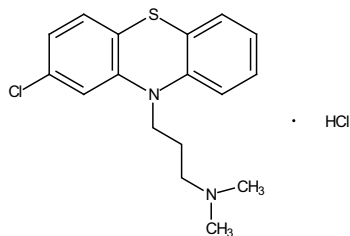
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Cloroxilenol, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en *Solución del estándar interno*, completar a volumen y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de *p*-clorofenol y cloroxilenol no debe ser menor de 2,0; el factor de asimetría para el pico de cloroxilenol no debe ser mayor de 1,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,5 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 2 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las

respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₈H₉ClO en la porción de Cloroxilenol en ensayo.

CLORPROMAZINA, CLORHIDRATO DE



$C_{17}H_{19}ClN_2S \cdot HCl$ PM: 355,3 69-09-0

Definición - Clorhidrato de Clorpromazina es Monoclorhidrato de 2-cloro-*N,N*-dimetil-10*H*-fenotiazin-10-propanamina. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{17}H_{19}ClN_2S \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco, inodoro. Se oscurece por exposición prolongada a la luz y al aire. Muy soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol y cloroformo; insoluble en éter.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Clorpromazina SR-FA

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

[NOTA: en todos los procedimientos siguientes, proteger la muestra, la *Sustancia de Referencia* y sus soluciones de la luz, realizando los procedimientos bajo luz de baja intensidad y empleando material de vidrio inactivo].

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Otras fenotiazinas alquiladas*. El valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución estándar*.

C - Una solución de Clorhidrato de Clorpromazina 1 en 10 debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 195 y 198 °C.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Otras fenotiazinas alquiladas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - [NOTA: preparar en el momento de su uso]. Éter y acetato de etilo (50:50), saturada con hidróxido de amonio.

Solución estándar - Disolver una cantidad apropiada de Clorhidrato de Clorpromazina SR-FA en metanol para obtener una solución de aproximadamente 5 mg por ml.

Solución estándar diluida - Diluir una porción de la *Solución estándar* cuantitativamente y en etapas con metanol para obtener una solución de aproximadamente 25 µg por ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Clorhidrato de Clorpromazina previamente secado, disolver en metanol, diluir a 10 ml y mezclar.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de la *Solución estándar*, 10 µl de la *Solución estándar diluida* y 10 µl de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire durante 20 minutos. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: a excepción de la mancha principal, ninguna mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser mayor en tamaño e intensidad que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar diluida* (0,5 %).

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

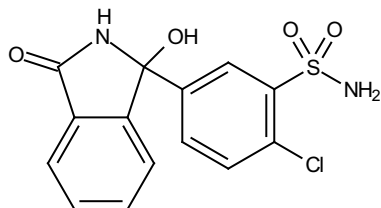
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Clorhidrato de Clorpromazina y disolver en una mezcla de 5 ml de ácido clorhídrico 0,1 N y 50 ml de alcohol y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potiométricamente (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 35,53 mg de $C_{17}H_{19}ClN_2S \cdot HCl$.

CLORTALIDONA



$C_{14}H_{11}ClN_2O_4S$ PM: 338,8 77-36-1

Definición - Clortalidona es 2-Cloro-5-(2,3-dihidro-1-hidroxi-3-oxo-1*H*-isoindol-1-il) benzenosulfonamida. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{14}H_{11}ClN_2O_4S$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o blanco amarillento. Funde por encima de los 215 °C, con descomposición. Soluble en metanol; poco soluble en alcohol; prácticamente insoluble en agua, cloroformo y éter.

Sustancias de referencia - Clortalidona SR-FA. Acido 4'-cloro-3'-sulfamoil-2-benzofenona carboxílico SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*.

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: ácido clorhídrico 2 N en metanol 1 en 50.

Concentración: 100 µg por ml.

Las absorbividades a 275 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 4,0 %.

C - Disolver aproximadamente 50 mg de Clortalidona en 3 ml de ácido sulfúrico: se debe producir un color amarillo intenso.

Pérdida por secado <680>

Pesar exactamente alrededor de 2 g de Clortalidona, secar a 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 0,4 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Agitar 1,0 g de Clortalidona con 40 ml de agua durante 5 minutos y filtrar a través de

papel de filtro libre de cloruro previamente enjuagado con agua: el filtrado no debe presentar más cloruro que el que corresponde a 0,50 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,035 %).

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Límite de ácido 4'-cloro-3'-sulfamoil-2-benzofenona carboxílico (ACC)

Proceder según se indica en *Valoración*. Calcular la cantidad de ACC en la porción de Clortalidona en ensayo, relacionando las respuestas de los picos de CCA y del estándar interno, obtenidos a partir de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*. No debe contener más de 1,0 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas totalmente porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Fosfato dibásico de amonio 0,01 M y metanol (3:2) y ajustar a pH 5,5 ± 0,1 con ácido fosfórico. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución del estándar interno - Preparar una solución de 2,7-naftalenodiol en metanol de aproximadamente 1,0 mg por ml.

Solución de ACC - Preparar una solución de Acido 4'-Cloro-3'-sulfamoil-2-benzofenona carboxílico SR-FA en metanol de aproximadamente 5 µg por ml.

Preparación estándar - Preparar una solución de Clortalidona SR-FA en metanol de aproximadamente 1 mg por ml. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml que contenga 5,0 ml de *Solución del estándar interno* y 10,0 ml de *Solución de ACC*. Completar a volumen con agua y mezclar.

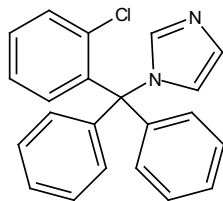
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Clortalidona, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en metanol, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml que contenga 5,0 ml de *Solución del estándar interno* y 10,0 ml de metanol. Completar a volumen con agua y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos de-

ben ser aproximadamente 0,5 para ACC, 0,8 para clortalidona y 1,0 para el estándar interno; la resolución R entre los picos de clortalidona y ACC no debe ser menor de 1,5; la resolución R entre los picos de clortalidona y el estándar interno no debe ser menor de 1,5; los factores de asimetría para los picos de clortalidona y de ACC no deben ser mayores de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 25 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{14}H_{11}ClN_2O_4S$ en la porción de Clortalidona en ensayo.

CLOTRIMAZOL



$C_{22}H_{17}ClN_2$ PM: 344,9 23593-75-1

Definición - Clotrimazol es 1-[(2-Clorofenil)difenilmetil]-1H-imidazol. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_{22}H_{17}ClN_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o amarillo pálido. Funde aproximadamente a 142 °C, con descomposición. Fácilmente soluble en acetona, alcohol, cloroformo y metanol; prácticamente insoluble en agua.

Sustancias de referencia - Clotrimazol SR-FA. Impureza A de Clotrimazol SR-FA [(*o*-Clorofenil)-difenilmetanol].

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Límite de imidazol*. La mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con la mancha principal obtenida con la *Solución estándar B*.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Límite de imidazol

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno, *n*-propanol y amoniaco (90:10:0,5).

Solución estándar A - Preparar una solución de imidazol en alcohol de aproximadamente 100 µg por ml.

Solución estándar B - Preparar una solución de Clotrimazol SR-FA en alcohol de aproximadamente 25 mg por ml.

Solución muestra - Preparar una solución de Clotrimazol en alcohol de aproximadamente 50 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa, 10 µl de la *Solución muestra* y 10 µl de las *Soluciones estándar A* y *B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire durante 5 minutos. Colocar la placa en un recipiente cerrado que contenga 100 g de iodo y dejar en reposo durante 60 minutos. Retirar la placa y observar los cromatogramas: la mancha obtenida a partir de la *Solución muestra*, con un valor de R_f similar a la mancha obtenida con la *Solución estándar A*, no debe ser mayor en tamaño o intensidad que la mancha obtenida con la *Solución estándar A* (0,2 % de imidazol).

Límite de (*o*-clorofenil)-difenilmetanol

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,3 ml por minuto.

Solución de fosfato dibásico de potasio - Disolver 4,35 g de fosfato dibásico de potasio en agua y completar a 1 litro con el mismo solvente.

Fase móvil - Metanol y *Solución de fosfato dibásico de potasio* (68:32). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Solución madre del estándar - Pesar exactamente alrededor de 5 mg de Impureza A de Clotrimazol SR-FA, transferir a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con metanol.

Solución estándar - Transferir 1 ml de *Solución madre del estándar* a un matraz aforado de 100 ml, agregar 25 ml de *Solución de fosfato dibásico de potasio* y completar a volumen con metanol.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Clotrimazol, transferir a un matraz aforado de 10 ml, agregar 5 ml de metanol para disolver y 2,5 ml de *Solución de fosfato dibásico de*

potasio, completar a volumen con metanol y mezclar.

Solución de resolución - Transferir 1 ml de *Solución madre del estándar* y 1 ml de *Solución muestra* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

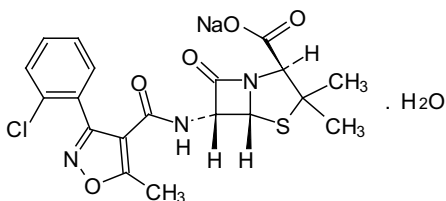
Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de clotrimazol y (o-clorofenil)-difenilmetanol no debe ser menor de 1,9. Los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,8 para (o-clorofenil)difenilmetanol y 1,0 para clotrimazol.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el porcentaje de Impureza A de Clotrimazol en la porción en ensayo. No debe contener más de 0,5 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 300 mg de Clotrimazol, disolver en 80 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 34,48 mg de $C_{22}H_{17}Cl_2N_2$.

CLOXACILINA SÓDICA



$C_{19}H_{17}ClN_3NaO_5S \cdot H_2O$ PM: 475,9 7081-44-9

Definición - Cloxacilina Sódica es la sal monosódica del Ácido [2*S*-(2 α , 5 α , 6 β)]-6-[[[3-(2-clorofenil)-5-metil-4-isoxazolil] carbonil]amino]-3,3-dimetil-7-oxo-4-tia-1-azabiciclo[3.2.0]heptano-2-carboxílico. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Higroscópico. Fácilmente soluble en agua y metanol; soluble en alcohol; poco soluble en cloroformo.

Sustancia de referencia - Cloxacilina Sódica SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto, a una temperatura que no exceda los 25 °C.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Debe cumplir con los ensayos para *Sodio* <410>.

Cristalinidad

Colocar partículas de Cloxacilina Sódica en aceite mineral, sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas deben presentar birrefringencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +160° y +169°, en base a la sustancia anhidra.

Solución muestra: 10 mg por ml, en agua.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 7,5, determinado sobre una solución de aproximadamente 10 mg por ml.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 3,0 y 5,0 %.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que Cloxacilina Sódica es estéril, debe cumplir con los requisitos según se indica en *Método de transferencia directa*, excepto que se debe usar *Medio tioglicolato* con solución de polisorbato 80 (1 en 200) y cantidad suficiente de penicilasa estéril para inactivar la cloxacilina en cada tubo, y *Caldo digerido de caseína-soja* con solución de polisorbato 80 (1 en 200) y cantidad suficiente de penicilasa estéril para inactivar la cloxacilina en cada tubo. Agitar los tubos una vez al día.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 225 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución reguladora de fosfato - Preparar una solución de fosfato monobásico de potasio 0,02 M en agua. Ajustar a pH 6,8 con hidróxido de sodio 2 N.

Fase móvil - *Solución reguladora de fosfato* y acetonitrilo (80:20). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Cloxacilina Sódica SR-FA con *Solución reguladora de fosfato* para obtener una solución de aproximadamente 0,55 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 110 mg de Cloxacilina Sódica y transferir a un matraz aforado de 200 ml. Disolver en *Solución reguladora de fosfato*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría para el pico de cloxacilina no debe ser mayor de 1,8; y la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de cloxacilina $C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$ en la porción de Cloxacilina Sódica en ensayo.

ROTULADO

Cuando la Cloxacilina Sódica esté destinada a la preparación de formas farmacéuticas estériles, indicar en el rótulo que es estéril.

COBRE, SULFATO DE

SO₄Cu.5H₂O PM: 249,7 7758-99-8

Definición - Sulfato de Cobre debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de SO₄Cu calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo azul cristalino o cristales transparentes azules. Fácilmente soluble en agua; soluble en metanol y prácticamente insoluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Disolver 5 g de Sulfato de Cobre en 100 ml de agua [NOTA: conservar esta solución para el ensayo de *Identificación B* y para la *Solución muestra* en *Límite de cloruro*]. Transferir 1 ml de esta solución a un tubo de ensayo, agregar gota a gota una solución de amoníaco 3,4 % p/v, hasta obtener un precipitado azul. El agregado de una mayor cantidad de amoníaco diluido disuelve el precipitado y produce un color azul oscuro.

B - Diluir 1 ml de la solución obtenida en el ensayo de *Identificación A* a 5 ml con agua: la solución debe responder a los ensayos para *Sulfato* <410>.

Aspecto de la solución

Preparar una solución de Sulfato de Cobre en agua de aproximadamente 0,05 g por ml: la solución debe ser clara.

Límite de cloruro

Solución muestra - Diluir 10 ml de la solución obtenida en el ensayo de *Identificación A* a 15 ml con agua.

Procedimiento - A 15 ml de la *Solución muestra* agregar 1 ml de ácido nítrico al 12,5 % p/v y transferir la mezcla a un tubo de ensayo que contenga 1 ml de nitrato de plata (SR) y proteger de la luz. Proceder del mismo modo con una mezcla constituida por 10 ml de solución de cloruro (5 ppm) (SL) y 5 ml de agua. Luego de 5 minutos, si la *Solución muestra* presenta opalescencia, ésta no debe ser más intensa que la del control (0,1 %).

Límite de hierro

Solución muestra - Transferir 0,5 g de Sulfato de Cobre a un matraz aforado de 25 ml, disolver con 10 ml de agua, agregar 2,5 ml de ácido nítrico libre de plomo y completar a volumen con agua.

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar utilizando *Solución de hierro (20 ppm) (SL)*, agregando 2,5 ml de ácido nítrico libre de plomo y diluyendo a 25 ml con agua.

Solución blanco - Transferir 2,5 ml de ácido nítrico libre de plomo a un matraz aforado de 25 ml y completar a volumen con agua.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y de las *Soluciones estándar*, (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica. Método I*) con un espectrofotómetro ajustado a 248,3 nm equipado con una lámpara de cátodo hueco de hierro y una llama de aire-acetileno. Emplear la *Solución blanco* para llevar a cero la lectura del aparato. [NOTA: el cobre podría formar acetiluros explosivos con el acetileno. Limpiar el mechero minuciosamente antes que este se seque.]. La *Solución muestra* no debe contener más de 100 ppm de hierro.

Límite de plomo

Solución muestra - Transferir 2,5 g de Sulfato de Cobre a un matraz aforado de 25 ml, disolver con 10 ml de agua, agregar 2,5 ml de ácido nítrico libre de plomo y completar a volumen con agua.

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar utilizando *Solución de plomo (100 ppm) (SL)*, agregando 2,5 ml de ácido nítrico libre de plomo y diluyendo a 25 ml con agua.

Solución blanco - Transferir 2,5 ml de ácido nítrico libre de plomo a un matraz aforado de 25 ml y completar a volumen con agua.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y de las *Soluciones estándar*, (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica. Método I*) con un espectrofotómetro ajustado a 217,0 nm equipado con una lámpara de cátodo hueco de plomo y una llama de aire-acetileno. Emplear la *Solución blanco* para llevar a cero la lectura del aparato. [NOTA: el cobre podría formar acetilidos/acetiluros explosivos con el acetileno. Limpiar el mechero minuciosamente antes que este se seque.]. La *Solución muestra* no debe contener más de 50 ppm de hierro.

Pérdida por secado <680>

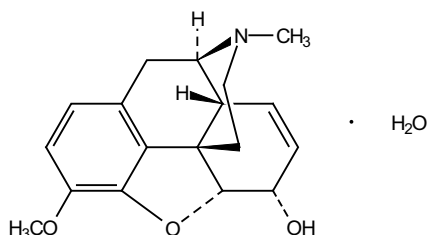
Secar a 250 ± 10 °C hasta peso constante: debe perder entre 35,0 a 36,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Sulfato de Cobre, disolver en 50 ml de agua, agregar 2 ml de ácido sulfúrico y 3,0 g de ioduro de potasio. Titular con Tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 2 ml de Almidón (SR) hacia el final de la titulación. Determinar el punto final potenciométrico.

camente. Cada ml de Tiosulfato de sodio
0,1 N (SV) equivale a 24,97 mg de $\text{SO}_4\text{Cu}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

CODEÍNA



C₁₈H₂₁NO₃ · H₂O PM: 317,4 6059-47-8

Anhidro PM: 299,4 76-57-3

Definición - Codeína es (5 α , 6 α)-7,8-Didehidro-4,5-epoxi-3-metoxi-17-metilmorfinan-6-ol. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 100,5 por ciento de C₁₈H₂₁NO₃, determinada sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o cristales incoloros o blancos. Eflorescente al aire seco y es afectado por la luz. En soluciones ácidas o alcohólicas es levorrotatoria. Una solución saturada es alcalina al tornasol. Muy soluble en cloroformo; fácilmente soluble en alcohol; moderadamente soluble en éter; poco soluble en agua. Cuando se calienta con una cantidad de agua insuficiente para una total disolución, funde formando un aceite que cristaliza al enfriar.

Sustancia de referencia - Sulfato de Codeína SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: ácido sulfúrico 0,1 N.

Concentración: 100 μ g por ml.

La absortividad a 284 nm, calculada sobre la sustancia seca, debe ser entre 112,9 y 119,9 % de la del Sulfato de Codeína SR-FA.

B - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.* Disolver 50 mg de Sulfato de Codeína SR-FA en 15 ml de agua, alcalinizar con hidróxido de amonio 6 N y extraer con varias porciones de 10 ml de cloroformo, evaporar los extractos clorofórmicos combinados en un rotavapor y secar a 80 °C durante 4 horas. Proceder de igual manera con la muestra.

C - A 10 mg de Codeína, agregar 1 ml de ácido

sulfúrico y 0,05 ml de una solución de cloruro férrico al 1,3 %. Calentar en un baño de agua: se debe desarrollar color azul que cambia al rojo con el agregado de 0,05 ml de ácido nítrico.

Determinación del punto de fusión <260>

Cuando se seca previamente, funde entre 154 y 158 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 2 °C.

Ensayo de sustancias fácilmente carbonizables <350>

Disolver 10 mg de Codeína en 5 ml de ácido sulfúrico (SR); el color de la solución no debe ser más intenso que el de la *Solución de comparación S*.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Alcohol absoluto, ciclohexano e hidróxido de amonio (72:30:6).

Solución muestra A - Preparar una solución de Codeína en alcohol absoluto de aproximadamente 40 mg por ml.

Solución muestra B - Diluir 2,0 ml de la *Solución muestra A* a 100 ml con alcohol absoluto.

Solución muestra C - Diluir 1,0 ml de la *Solución muestra A* a 100 ml con alcohol absoluto.

Revelador - Mezclar 3 ml de solución de ácido cloroplátinico al 10 % con 97 ml de agua y agregar 100 ml de solución de yoduro de potasio al 6 %.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de las *Soluciones muestra A, B y C*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar evaporar. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*: a excepción de la mancha principal y de cualquier otra mancha observada en el origen, ninguna mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra A* debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución muestra B* (2 %) y no más de una mancha con un valor de R_f mayor que el de la mancha principal debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución muestra C* (1 %).

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de morfina

Disolver 50 mg de ferricianuro de potasio en 10 ml de agua, agregar 1 gota de cloruro férrico (SR) y 1 ml de una solución de Codeína al 1 %, neutra o levemente acidificada con la ayuda de ácido sulfúrico: no se debe producir color azul inmediatamente.

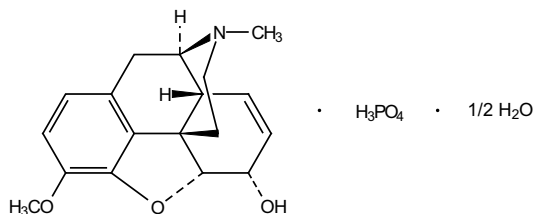
Pérdida por secado <680>

Secar a 80 °C durante 4 horas: no debe perder más de 6,0 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 400 mg de Codeína, previamente secada, y disolver en 30,0 ml de ácido sulfúrico 0,1 N (SV) con calentamiento. Enfriar y agregar 10 ml de agua. Agregar rojo de metilo (SR) y titular el exceso de ácido con hidróxido de sodio 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Titulaciones residuales en Volumetría*). Cada ml de ácido sulfúrico 0,1 N equivale a 29,94 mg de $C_{18}H_{21}NO_3$.

CODEÍNA, FOSFATO DE



$\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NO}_3 \cdot \text{H}_3\text{PO}_4 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ PM: 406,4 41444-62-6

Anhidro PM: 397,4 52-28-8

Definición - Fosfato de Codeína es Fosfato de (5 α ,6 α)-7,8-didehidro-4,5-epoxi-3-metoxi-17-metilmorfinan-6-ol (1:1), hemihidrato. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,5 por ciento de $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NO}_3 \cdot \text{H}_3\text{PO}_4$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o cristales aciculares blancos. Fotosensible. Sus soluciones son ácidas al tornasol. Muy soluble en agua caliente; fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol a ebullición; poco soluble en alcohol.

Sustancia de referencia - Fosfato de Codeína SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Neutralizar una solución de Fosfato de Codeína 1 en 50 con hidróxido de amonio 6 N y agregar nitrato de plata (SR): se debe formar un precipitado amarillo de fosfato de plata soluble en ácido nítrico 2 N y en hidróxido de amonio 6 N.

Acidez

Disolver 100 mg de Fosfato de Codeína en 20 ml de agua y titular con hidróxido de sodio 0,010 N a pH 5,4, empleando un medidor de pH: no se debe requerir más de 1,0 ml de hidróxido de sodio 0,010 N.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 3,0 %.

Límite de cloruro

A 10 ml de una solución de Fosfato de Codeína 1 en 100 acidificada con ácido nítrico, agregar unas

gotas de nitrato de plata (SR): no se debe producir opalescencia de inmediato.

Límite de sulfato

A 10 ml de una solución de Fosfato de Codeína 1 en 100, agregar unas gotas de cloruro de bario (SR): no se debe producir turbidez de inmediato.

Límite de morfina

Disolver 50 mg de ferricianuro de potasio en 10 ml de agua y agregar 1 gota de cloruro férrico (SR) y 1 ml de una solución de Fosfato de Codeína 1 en 100: no se debe producir coloración azul de inmediato.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria, Fase móvil y Revelador - Proceder según se indica en *Pureza cromatográfica en Codeína.*

Solución muestra - Preparar una solución de Fosfato de Codeína en una mezcla de ácido clorhídrico 0,01 N y alcohol absoluto (4:1) de aproximadamente 40 mg por ml.

Solución estándar A - Transferir 2,0 ml de la *Solución muestra* y diluir con una mezcla de ácido clorhídrico 0,01 N y alcohol absoluto (4:1) a 100 ml.

Solución estándar B - Transferir 1,0 ml de la *Solución estándar A* y diluir con una mezcla de ácido clorhídrico 0,01 N y alcohol absoluto (4:1) a 100 ml.

Revelador - Mezclar 3 ml de solución de ácido cloroplátinico al 10 % con 97 ml de agua y agregar 100 ml de solución de yoduro de potasio al 6 %.

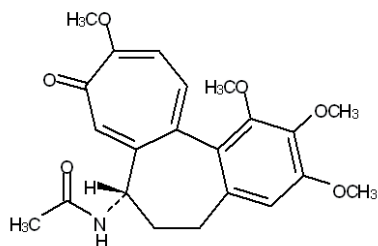
Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μl de la *Solución muestra* y 10 μl de las *Soluciones estándar A* y *B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar evaporar. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y examinar los cromatogramas: a excepción de la mancha principal y de cualquier otra mancha observada en el origen, ninguna mancha obtenida a partir de la *Solución muestra* debe ser más intensa que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A* (2 %) y no más de una mancha con un valor de R_f mayor que el de la mancha principal debe ser más intensa que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar B* (1 %).

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Fosfato de Codeína, disolver con 50 ml de ácido acético glacial, calentando suavemente si fuera necesario

para disolver. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 39,74 mg de $C_{18}H_{21}NO_3 \cdot H_3PO_4$.

COLCHICINA



C₂₂H₂₅NO₆

PM: 399,5

64-86-8

Definición - Es un alcaloide contenido en diversas especies de *Colchicum*. Colchicina es (*S*)-*N*-(5,6,7,9-tetrahidro-1,2,3,10-tetrametoxi-9-oxobenzo [*a*]heptalen-7-il)acetamida. Debe contener no menos de 94,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de C₂₂H₂₅NO₆, calculado sobre la sustancia anhidra, libre de solventes y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino o amorfo de color amarillo pálido a amarillo verdoso. Se oscurece por acción de la luz. Fácilmente soluble en alcohol y cloroformo; soluble en agua; poco soluble en éter.

Sustancia de referencia - Colchicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Precaución - Colchicina es extremadamente venenosa.

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. [NOTA: ignorar cualquier banda de absorción que aparezca a 1.735 cm⁻¹.]

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Preparación estándar*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -240° y -250°, calculada sobre la sustancia anhidra y libre de solventes.

Solución muestra: 10 mg por ml, en alcohol.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 2,0 %.

Límite de colchicina

A 5 ml de una solución de Colchicina al 1 % agregar 2 gotas de cloruro férrico (SR): no se debe de-

sarrollar color verde.

Límite de acetato de etilo

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de 1,5 m × 4 mm con fase estacionaria constituida por polietilenglicol 1.000 al 10 % p/p, sobre un soporte de tierra de diatomeas silanizada para cromatografía. Mantener la columna, el inyector y el detector a 75, 130 y 150 °C, respectivamente. Emplear nitrógeno como gas transportador con un caudal de 30 ml por minuto.

Solución del estándar interno - Transferir 1,0 ml de alcohol absoluto a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50,0 ml y completar a volumen con agua.

Solución estándar - Transferir 1,0 ml de acetato de etilo a un matraz aforado de 1 litro, disolver y completar a volumen con agua. A 1,0 ml de esta solución agregar 5,0 ml de *Solución del estándar interno* y diluir con agua a 10,0 ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Colchicina y disolver en agua. Agregar 5,0 ml de *Solución del estándar interno* y diluir con agua a 10,0 ml.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos. Calcular el porcentaje en peso de acetato de etilo en la porción de Colchicina en ensayo, considerando como densidad del mismo a 20 °C, 0,901 g por ml: no debe contener más de 6,0 % p/p.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pureza cromatográfica

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. La suma de las respuestas de todos los picos, con excepción del pico de colchicina, que eluyen dentro de un intervalo de 1,5 veces el tiempo de retención de colchicina, no debe ser mayor de 5,0 % de la suma de todas las respuestas obtenidas.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I. El límite de cloroformo es 100 ppm.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Diluir 45 ml de fosfato monobásico de potasio 0,5 M con agua a 450 ml. Agregar aproximadamente 530 ml de metanol, enfriar a temperatura ambiente y completar a 1 litro con metanol. Ajustar con ácido fosfórico 0,5 M a pH $5,50 \pm 0,05$ y filtrar a través de una membrana filtrante de $0,45 \mu\text{m}$. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

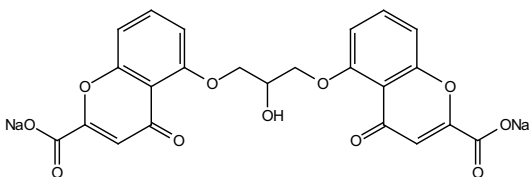
Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Colchicina SR-FA en una mezcla de metanol y agua (1:1) y diluir, cuantitativamente y en etapas, con la misma mezcla para obtener una solución de aproximadamente $6 \mu\text{g}$ de Colchicina SR-FA por ml. Esta solución es estable durante 4 meses cuando se almacena en envases de cierre perfecto y en la oscuridad.

Preparación muestra - [NOTA: preparar en el momento de su uso]. Pesar exactamente alrededor de 60 mg de Colchicina y transferir a un matraz aforado de 500 ml. Disolver en una mezcla de metanol y agua (1:1) y completar a volumen con la misma mezcla. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con la misma mezcla.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 4.500 platos teóricos; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente $20 \mu\text{l}$) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos registrados durante 1,5 veces el tiempo de retención de colchicina. El tiempo de retención para el pico de colchicina debe estar comprendido entre 5,5 y 9,5 minutos. Calcular la cantidad de $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{NO}_6$ en la porción de Colchicina en ensayo.

CROMOGLICATO SÓDICO



$C_{23}H_{14}Na_2O_{11}$

PM: 512,3

15826-37-6

Sinonimia - Cromolín Sódico.

Definición - Cromoglicato Sódico es la Sal di-sódica del ácido 5,5'-[(2-hidroxi-1,3-propanodiol) bis(oxi)]bis[4-oxo-4H-1-benzopirán-2-carboxílico]. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{23}H_{14}Na_2O_{11}$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco. Inodoro e higroscópico. Soluble en agua; insoluble en alcohol y cloroformo.

Sustancia de referencia - Cromoglicato Sódico SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>. El espectro de absorción ultravioleta de una solución de Cromoglicato Sódico en *Solución reguladora de fosfato de sodio pH 7,4* (1 en 40.000), preparada según se indica en *Valoración*, debe presentar máximos a las mismas longitudes de onda que una solución similar de Cromoglicato Sódico SR-FA.

Acidez o alcalinidad

Disolver 1,0 g de Cromoglicato Sódico en 25 ml de agua libre de dióxido de carbono y agregar dos gotas de azul de bromotimol (SR). Si la solución fuera amarilla, no deben consumirse más de 0,25 ml de hidróxido de sodio 0,1 N para producir color azul. Si la solución fuera azul, no deben consumirse más de 0,25 ml de ácido clorhídrico 0,1 N para producir color amarillo.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 10,0 %.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Diluyente - Agua, tetrahidrofurano libre de estabilizantes y acetona (6:4:1).

Fase móvil - Cloroformo, metanol y ácido acético glacial (9:9:2).

Solución estándar A - Preparar una solución de Cromoglicato Sódico SR-FA en *Diluyente* de aproximadamente 10 mg por ml.

Solución estándar B - Diluir cuantitativamente un volumen de *Solución estándar A* con *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,05 mg por ml.

Solución muestra - Disolver 100 mg de Cromoglicato Sódico en 10,0 ml de *Diluyente*.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución estándar A*, 10 μ l de la *Solución estándar B* y 10 μ l de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar las manchas bajo luz ultravioleta a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución estándar A*. Ninguna mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, localizada por encima de la mancha principal debe ser más intensa que la mancha obtenida con la *Solución estándar B* (0,5 %).

Límite de oxalato

Disolver 100 mg de Cromoglicato Sódico en 20 ml de agua, agregar 5,0 ml de salicilato de hierro (SR) y diluir con agua a 50 ml. Determinar la absorbancia de la solución a 480 nm empleando agua como blanco. La absorbancia de esta solución no debe ser menor que la de una solución que contenga 350 μ g de ácido oxálico, preparada del mismo modo (0,35 %).

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

VALORACIÓN

Solución reguladora de fosfato de sodio pH 7,4 - Disolver 70 g de fosfato dibásico de sodio anhidro en 900 ml de agua. Ajustar a pH 7,4 me-

dante el agregado de ácido fosfórico diluido (1 en 10). Diluir con agua a 1 litro y mezclar. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Cromoglicato Sódico SR-FA en agua para obtener una solución de aproximadamente 250 µg por ml. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, agregar 1 ml de *Solución reguladora de fosfato de sodio pH 7,4*, completar a volumen con agua y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 25 µg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Cromoglicato Sódico, transferir a un matraz aforado de 1 litro, disolver en aproximadamente 100 ml de agua, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 25 ml de esta solución en un matraz aforado de 100 ml, agregar 1 ml de *Solución reguladora de fosfato de sodio pH 7,4*, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Determinar concomitantemente las absorbancias de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra* en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 326 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando *Solución reguladora de fosfato de sodio pH 7,4* (1 en 100) como blanco. Calcular la cantidad de $C_{23}H_{14}Na_2O_{11}$ en la porción de Cromoglicato Sódico en ensayo.

CROSCARAMELOSA SÓDICA

Definición - Croscaramelosa Sódica es la Sal sódica de la celulosa parcialmente *o*-carboximetilada entrecruzada y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o blanco grisáceo. Moderadamente soluble en agua; prácticamente insoluble en acetona, alcohol y tolueno.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - A 1 g de Croscaramelosa Sódica agregar 100 ml de solución de azul de metileno (1 en 250.000), mezclar y dejar sedimentar: debe absorber el azul de metileno y sedimentar como una masa azul fibrosa.

B - A 1 g de Croscaramelosa Sódica agregar 50 ml de agua y mezclar. Transferir 1 ml a un tubo de ensayo pequeño y agregar 1 ml de agua y 5 gotas de 1-naftol (SR). Inclinar el tubo de ensayo y cuidadosamente agregar 2 ml de ácido sulfúrico por el lateral del tubo para formar una capa inferior: debe desarrollarse una coloración rojiza-violeta en la interfase.

C - Una solución de Croscaramelosa Sódica 1 en 50 debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

Determinación del pH <250>

A 1 g de Croscaramelosa Sódica agregar 100 ml de agua y mezclar durante 5 minutos: el pH de la dispersión debe estar comprendido entre 5,0 a 7,0.

Determinación del residuo de ignición <270>

Entre 14,0 y 28,0 % calculado sobre la sustancia seca determinado a 600 ± 50 °C. Emplear suficiente cantidad de ácido sulfúrico para humedecer todo el residuo luego del paso inicial de carbonización y ácido sulfúrico adicional si queda una excesiva cantidad de material carbonizado luego de la volatilización inicial completa de humos blancos.

Volumen de sedimentación

Agregar 1,5 g de Croscaramelosa Sódica, en porciones de 0,5 g, a 75 ml de agua en un recipiente cilíndrico de 100 ml, agitar vigorosamente luego de cada agregado y completar a volumen con agua. Agitar nuevamente hasta que todo el polvo se haya distribuido homogéneamente y dejar reposar durante 4 horas: el volumen de la masa sedimentada debe ser de 10,0 a 30,0 ml.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 6 horas: no debe perder más de 10,0 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

El recuento de microorganismos aerobios viables totales no debe ser mayor que 10^3 bacterias ni 10^2 hongos por g determinados por recuento en placa. La sustancia en ensayo debe cumplir con el ensayo para *Escherichia coli*.

Grado de sustitución

Pesar exactamente alrededor de 1 g de Croscaramelosa Sódica, transferir a un matraz aforado de 500 ml y agregar 300 ml de solución de cloruro de sodio al 10 % y 25,0 ml de hidróxido de sodio 0,1 N (SV). Tapar y dejar reposar durante 5 minutos con agitación intermitente. Agregar 5 gotas de púrpura de *m*-cresol (SR) y 15 ml de ácido clorhídrico 0,1 N (SV). Tapar y agitar. Si la solución es púrpura agregar porciones de 1 ml de ácido clorhídrico 0,1 N hasta que se vuelva amarilla, agitando luego de cada agregado y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) hasta punto final púrpura. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Calcular el grado de sustitución *A* del ácido carboximetil de la porción de Croscaramelosa Sódica en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$1150n/(7102 - 412n - 80R)$$

en la cual *n* es el número de miliequivalentes de valorante que se necesitan para neutralizar 1 g de Croscaramelosa Sódica calculada sobre la sustancia seca, y *R* es el porcentaje de residuo de ignición de la Croscaramelosa Sódica obtenido en el ensayo 270. *Determinación del residuo de ignición.*

Calcular el grado de sustitución *B* de carboximetil sódico de la porción de Croscaramelosa Sódica en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$(162 + 58A)R/(7102 - 80R)$$

en la cual *A* es el grado de sustitución del ácido carboximetil y *R* es el porcentaje de residuo de ignición de la Croscaramelosa Sódica obtenido en el ensayo 270. *Determinación del residuo de ignición.*

El grado de sustitución es la sumatoria de *A* y *B* y debe estar comprendido entre 0,60 y 0,85 calculado sobre la sustancia seca.

Contenido de sustancias solubles en agua

Pesar exactamente alrededor de 10 g de Croscaramelosa Sódica, transferir a un matraz aforado de 800 ml de agua, completar a volumen con agua y agitar durante 1 minuto cada 10 minutos los primeros treinta minutos. Dejar reposar durante 1 hora y centrifugar si es necesario. Decantar 200 ml del sobrenadante aplicando vacío, recolectar 150 ml del filtrado en un recipiente previamente pesado y pesar. Concentrar a pequeño volumen, secar a 105 °C durante 4 horas y pesar. Calcular el contenido en porcentaje de sustancias solubles en agua de la porción de Croscaramelosa Sódica en ensayo, calculada sobre la sustancia seca, por la fórmula siguiente:

$$100P_s(800 + P_m)/[P_mP_f(1 - 0,01R)]$$

en la cual P_m es el peso en g de la porción de Croscaramelosa Sódica en ensayo, P_s es el peso en g de la sustancia seca, P_f es el peso en g de la sustancia filtrada y R es el porcentaje de residuo de ignición de la Croscaramelosa Sódica obtenido en el ensayo 270. *Determinación del residuo de ignición:* no debe encontrarse más de 10,0 %.

Cloruro de sodio y glicolato de sodio

Cloruro de sodio - Pesar exactamente alrededor de 5 g de Croscaramelosa Sódica en un recipiente de 250 ml, agregar 50 ml de agua y 5 ml de peróxido de hidrógeno al 30 % y calentar en baño de vapor durante 20 minutos agitando ocasionalmente para lograr hidratación total. Enfriar, agregar 100 ml de agua y 10 ml de ácido nítrico y titular con nitrato de plata 0,05 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente empleando un electrodo indicador de plata y un electrodo de referencia de doble unión que contenga solución de nitrato de plata al 10 % en la camisa externa y una solución de relleno estándar en la camisa interna y agitando constantemente (ver 780. Volumetría). Calcular el contenido en porcentaje de cloruro de sodio en la porción de Croscaramelosa Sódica en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$584,4VN/[(100 - R)P]$$

en la cual V es el volumen en ml de nitrato de plata consumido, N es la normalidad del nitrato de plata, R es el porcentaje de residuo de ignición de la Croscaramelosa Sódica obtenido en el 270. *Determinación del residuo de ignición,* P es el peso en g de la porción de Croscaramelosa en ensayo.

Glicolato sódico

Solución blanco - Transferir 2 ml de una solución que contenga ácido acético glacial en acetona al 5 % y agua en acetona al 5 % a un matraz aforado de 25 ml, colocar en un baño de agua hirviendo

durante 20 minutos para eliminar la acetona y enfriar. Agregar 5,0 ml de 2,7-naftalenodiol, mezclar, agregar 15 ml adicionales y mezclar nuevamente. Cubrir la boca del matraz con papel de aluminio y calentar en un baño de agua hirviendo durante 20 minutos. Dejar enfriar, completar a volumen con ácido sulfúrico y mezclar.

Solución estándar - Pesar exactamente 100 mg de ácido glicólico previamente secado en desecador durante la noche a temperatura ambiente, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en agua, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. [NOTA: emplear la solución antes de los 30 días]. Transferir 1,0, 2,0, 3,0 y 4,0 ml de esta solución a sendos matraces aforados de 100 ml, agregar agua hasta completar 5 ml, agregar 5 ml de ácido acético glacial y completar a volumen con acetona y mezclar. Transferir 2,0 ml de cada solución a sendos matraces aforados de 25 ml, colocar en un baño de agua hirviendo durante 20 minutos para eliminar la acetona y enfriar. Agregar 5,0 ml de 2,7-naftalenodiol y mezclar. Agregar 15 ml adicionales y mezclar nuevamente. Cubrir la boca de cada matraz con papel de aluminio y calentar en un baño de agua hirviendo durante 20 minutos. Dejar enfriar, completar a volumen con ácido sulfúrico y mezclar.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Croscaramelosa Sódica, transferir a un erlenmeyer, humedecer con 5 ml de ácido acético glacial seguidos de 5 ml de agua y agitar para asegurar una completa hidratación durante 15 minutos. Agregar lentamente con agitación 50 ml de acetona, 1 g de cloruro de sodio y agitar durante algunos minutos hasta la precipitación completa de carboximetilcelulosa. Filtrar a través de un papel de filtro impregnado con acetona y recolectar el filtrado en un matraz de 100 ml. Emplear 30 ml adicionales de acetona para facilitar la transferencia de sólidos y lavar el precipitado. Completar a volumen y mezclar. Transferir 2,0 ml del filtrado a un matraz aforado de 25 ml, colocar en un baño de agua hirviendo durante 20 minutos para eliminar la acetona y enfriar. Agregar 5,0 ml de 2,7-naftalenodiol, mezclar, agregar 15 ml adicionales y mezclar nuevamente. Cubrir la boca del matraz con papel de aluminio y calentar en un baño de agua hirviendo durante 20 minutos. Dejar enfriar, completar a volumen con ácido sulfúrico y mezclar.

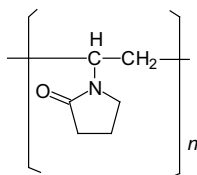
Procedimiento - Medir las absorbancias de cada solución a 540 nm, realizar una curva de calibración con las absorbancias obtenidas a partir de las soluciones estándar y calcular el peso en mg de ácido glicólico y el contenido en porcentaje de glicolato sódico en la porción de Croscaramelosa Sódica en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$12,9p/[(100 - R)P]$$

en la cual p es el peso en mg de ácido glicólico, R es el porcentaje de residuo de ignición de la Croscaramelosa Sódica obtenido en 270. *Determinación del residuo de ignición* y P es el peso en g de la porción de Croscaramelosa Sódica en ensayo.

La suma del contenido de *cloruro de sodio* y *glicolato sódico* en porcentaje no debe ser mayor de 0,5 %.

CROSPVIDONA



$(C_6H_9NO)_n$
9003-39-8

Definición - Crospovidona es un homopolímero sintético entrecruzado de *N*-Vinil-2-pirrolidinona. Debe contener no menos de 11,0 por ciento y no más de 12,8 por ciento de nitrógeno (N), calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo de color blanco a blanco amarillento. Higroscópico. Insoluble en agua y en los solventes orgánicos comunes.

Sustancia de referencia - Crospovidona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. [NOTA: secar previamente al vacío a una temperatura de 105 °C durante 1 hora.]

B - Suspender 1 g de Crospovidona en 10 ml de agua, agregar 0,1 ml de iodo 0,1 N y agitar durante 30 segundos. Agregar 1 ml de almidón (SR) y agitar nuevamente: no debe desarrollar color azul.

Determinación del pH <250>

Preparar una suspensión acuosa de Crospovidona al 1 %: el pH debe estar comprendido entre 5,0 y 8,0.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 5,0 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No debe perder más de 0,4 % de su peso, determinado sobre 2 g de Crospovidona.

Sustancias solubles en agua

Transferir 25,0 g de Crospovidona a un recipiente de 400 ml, agregar 200 ml de agua y agitar durante 1 hora. Transferir a un matraz aforado de 250 ml con la ayuda de agua, completar a volumen con agua y mezclar. Dejar decantar y filtrar alrededor de 100 ml del sobrenadante a través de una membrana filtrante con un tamaño de poro de 0,45 μ m, protegida por otra membrana con un tamaño de poro de 3 μ m [NOTA: agitar durante la filtración tratando de no dañar la membrana filtrante]. Transferir 50 ml del filtrado a

un recipiente apropiado de 100 ml, previamente pesado y evaporar a sequedad. Secar a 110 °C durante 3 horas: el peso del residuo obtenido no debe ser mayor de 75 mg (1,50 %).

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 10 ppm.

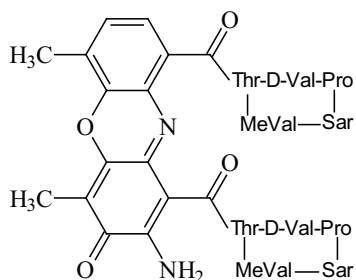
Vinilpirrolidinona

Suspender 4,0 g de Crospovidona en 30 ml de agua, agitar durante 15 minutos, centrifugar la suspensión obtenida y filtrar el sobrenadante ligeramente turbio a través de un filtro de vidrio sinterizado de 10 μ m. Agregar 50 ml de agua a la suspensión restante, agitar, centrifugar y filtrar del mismo modo. Repetir esta operación y juntar los filtrados. Agregar 0,5 g de acetato de sodio y titular con iodo 0,1 N (SV) hasta que el color del iodo no desaparezca. Agregar 3,0 ml de iodo 0,1 N (SV), dejar reposar durante 10 minutos y titular el iodo en exceso con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Realizar una determinación con un blanco empleando el mismo volumen, exactamente medido, de iodo 0,1 N (SV) que fue usado durante la titulación y hacer las correcciones necesarias (ver *Titulaciones residuales* en 780. *Volumetría*) [NOTA: ajustar con ácido acético el pH del blanco al pH de los filtrados obtenidos a partir de la muestra]. No se debe consumir más de 0,72 ml de iodo, que corresponden a no más de 0,1 % de vinilpirrolidinona.

Contenido de nitrógeno

Proceder según se indica en *Método II* en 200. *Determinación de nitrógeno* empleando exactamente alrededor de 0,1 g de Crospovidona. Omitir el uso de peróxido de hidrógeno y usar 5 g de una mezcla de polvo de sulfato de potasio, sulfato cúprico y dióxido de titanio (33:1:1) en lugar de una mezcla de polvos de sulfato de potasio y sulfato cúprico (10:1). Calentar hasta obtener una solución verde clara transparente, volver a calentar durante 45 minutos y proceder según se indica en *Procedimiento* comenzando donde dice "Agregar al producto de la digestión, 70 ml de agua...".

DACTINOMICINA



C₆₂H₈₆N₁₂O₁₆ PM: 1.255,4 50-76-0

Definición - Dactinomycin es Actinomycin D. Debe contener no menos de 950 µg y no más de 1.030 µg por ciento de C₆₂H₈₆N₁₂O₁₆ por mg, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino rojo brillante. Higroscópico. Sensible a la luz y al calor. Fácilmente soluble en alcohol; soluble en agua a 10 °C y poco soluble en agua a 37 °C; muy poco soluble en éter.

Sustancia de referencia - Dactinomycin SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto, protegidos del calor.

Precaución - Prevenir su inhalación y contacto con la piel.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: metanol

Concentración: 25 µg por ml

La absorbancia a 445 nm, calculada sobre la sustancia seca no debe ser menor de 95,0 por ciento y no mayor de 103,0 por ciento de una solución similar de Dactinomycin SR-FA. La relación de absorbancias a 240 y 445 nm (A₂₄₀/A₄₄₅) debe estar comprendida entre 1,30 y 1,50.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Preparación estándar*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -292° y -317° (a 20 °C).

Solución muestra: 1 mg por ml, en metanol.

Cristalinidad

Colocar partículas de Dactinomycin en aceite mineral, sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas deben presentar birrefringencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío durante 3 horas, a una presión inferior a 5 mm Hg a 60 °C: no debe perder más de 5,0 % de su peso.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 100 Unidades de Endotoxina por mg de Dactinomycin.

VALORACIÓN

[NOTA: efectuar la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* en el momento de su uso y protegerlas en todo momento de la luz].

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo, acetato de sodio 0,04 M y ácido acético 0,07 M (46:25:25). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

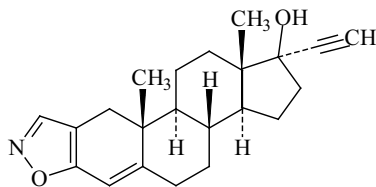
Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Dactinomycin SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, para obtener una solución de aproximadamente 1,20 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 30 mg de Dactinomycin, transferir a un matraz aforado de 25 ml, disolver y completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el tiempo de retención para el pico de dactinomycin debe ser aproximadamente 25 minutos; la desviación estándar relativa para tres inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la potencia de C₆₂H₈₆N₁₂O₁₆ en la porción de Dactinomycin en ensayo.

DANAZOL



C₂₂H₂₇NO₂

PM: 337,5

17230-88-5

Definición - Danazol es (17 α)-Pregna-2,4-dien-20-ino[2,3-*d*]-isoxazol-17-ol. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de C₂₂H₂₇NO₂, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco a amarillo. Funde aproximadamente a 225 °C, con descomposición. Fácilmente soluble en cloroformo; soluble en acetona; moderadamente soluble en alcohol; poco soluble en éter; prácticamente insoluble en agua y hexano.

Sustancia de referencia - Danazol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>. Emplear la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* según se indica en *Valoración*: el espectro de absorción ultravioleta de la *Preparación muestra* debe presentar máximos a las mismas longitudes de onda que la *Preparación estándar*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +21° y +27°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en cloroformo.

Pérdida por secado <680>

Secar a 60 °C a una presión inferior a 5 mm Hg, hasta peso constante: no debe perder más de 2,0 % de su peso.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Ciclohexano y acetato de etilo (7:3).

Diluyente - Cloroformo y metanol (9:1).

Solución muestra - Disolver una cantidad exactamente pesada de Danazol en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 50 mg por ml.

Soluciones estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Danazol SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml. Diluir cuantitativamente volúmenes exactamente medidos de esta solución para obtener soluciones estándar con las siguientes concentraciones:

Solución estándar	Dilución	Concentración (µg por ml)	% con respecto a la muestra
A	1 en 2	500	1,0
B	1 en 4	250	0,5
C	1 en 10	100	0,2
D	1 en 20	50	0,1

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de las *Soluciones estándar A, B, C y D* y 5 µl de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm y exponer a vapores de yodo durante 5 minutos: a excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ninguna mancha debe ser mayor que la mancha obtenida con la *Solución estándar B* (0,5 %) y la suma de las intensidades de todas las manchas secundarias no debe ser mayor que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A* (1,0 %).

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

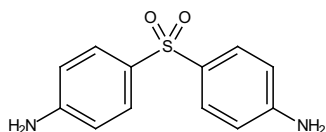
Preparación estándar - Pesar exactamente una cantidad de Danazol SR-FA y disolver en alcohol para obtener una solución de aproximadamente 20 µg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Danazol, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en aproximadamente 50 ml de alcohol, agitando por rotación, y completar a volumen con el mismo solvente. Transferir 2 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con alcohol y mezclar.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra* bajo luz ultravioleta (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*), en celdas de 1 cm, a la longi-

tud de onda de máxima absorción, aproximadamente 285 nm, con un espectrofotómetro, empleando alcohol como blanco. Calcular la cantidad en mg de $C_{22}H_{27}NO_2$ en la porción de Danazol en ensayo.

DAPSONA



$C_{12}H_{12}N_2O_2S$ PM: 248,3 80-08-0

Definición - Dapsona es 4,4'-Sulfonilbisbencenamina. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{12}H_{12}N_2O_2S$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en alcohol; soluble en acetona y en ácidos minerales diluidos; muy poco soluble en agua.

Sustancia de referencia - Dapsona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: metanol.

Concentración: 5 µg por ml.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 175 y 181 °C.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de selenio <610>

No más de 0,003 %, determinado sobre una mezcla de 100 mg de Dapsona con 100 mg de óxido de magnesio.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - [NOTA: preparar en el momento de su uso]. Cloroformo, acetona, alcohol *n*-butílico y ácido fórmico (60:15:15:10).

Solución estándar A - Disolver una cantidad exactamente pesada de Dapsona SR-FA en metanol para obtener una solución de aproximadamente 12,5 mg por ml.

Solución estándar B - Diluir cuantitativamente la **Solución estándar A** con metanol para obtener una

solución de aproximadamente 125 µg por ml.

Solución estándar C - Diluir cuantitativamente la **Solución estándar A** con metanol para obtener una solución de aproximadamente 62,5 µg por ml.

Solución muestra - Disolver una cantidad exactamente pesada de Dapsona en metanol para obtener una solución de aproximadamente 12,5 mg por ml.

Revelador - Emplear una solución de *p*-dimetilaminocinamaldehído al 0,1 % en una mezcla de ácido acético glacial y agua (50:50).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 4 µl de la **Solución muestra** y 4 µl de las **Soluciones estándar A, B y C**. Secar las aplicaciones con la ayuda de una corriente de nitrógeno y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Pulverizar sobre la placa con **Revelador** y examinar las manchas: en el cromatograma obtenido a partir de la **Solución muestra**, ninguna mancha secundaria debe ser mayor en tamaño o intensidad que la obtenida con la **Solución estándar C** (0,5 %) y la suma de las intensidades de todas las manchas secundarias en el cromatograma obtenido a partir de la **Solución muestra** no debe ser mayor que la mancha principal obtenida con la **Solución estándar B** (1,0 %).

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 1,5 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm × 4 mm con fase estacionaria constituida por partículas porosas de sílice de 5 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Transferir 100 ml de alcohol isopropílico, 100 ml de acetonitrilo y 100 ml de acetato de etilo a un matraz aforado de 1 litro. Completar a volumen con pentano, sin mezclar, luego mezclar y dejar que la mezcla se enfríe a temperatura ambiente. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Dapsona SR-FA en metanol para obtener una solución de aproximadamente 250 µg por ml. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con

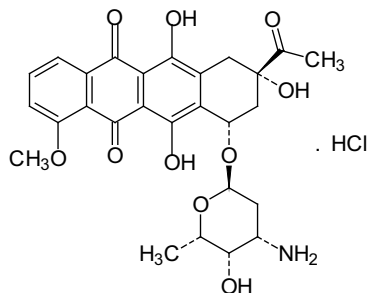
Fase móvil y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 25 µg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Dapsona y transferir a un matraz aforado de 200 ml. Disolver y completar a volumen con metanol y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₁₂H₁₂N₂O₂S en la porción de Dapsona en ensayo.

DAUNORUBICINA, CLORHIDRATO



$\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{NO}_{10} \cdot \text{HCl}$ PM: 564,0 23541-50-6

Sinonimia - Clorhidrato de Daunomicina.

Definición - Clorhidrato de Daunorubicina es el Clorhidrato de (8*S*-*cis*)-8-acetil-10-[(3-amino-2,3,6-trideoxi- α -L-*lixo*-hexopiranosil)oxi]-7,8,9,10-tetrahidro-6,8,11-trihidroxi-1-metoxi-5,12-naftacenediona. Puede ser producida por el crecimiento de *Streptomyces coeruleorubides* o de *Streptomyces peucetii*. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{NO}_{10} \cdot \text{HCl}$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino rojo anaranjado. Higroscópico. Fácilmente soluble en agua y metanol; poco soluble en alcohol; muy poco soluble en cloroformo; prácticamente insoluble en acetona.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Daunorubicina SR-FA. Daunorubicinona SR-FA. Clorhidrato de Doxorubicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

Precaución - Manipular el Clorhidrato de Daunorubicina con sumo cuidado, evitando la inhalación de sus partículas y el contacto con la piel.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. En fase sólida.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en Valoración. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la Preparación muestra debe ser similar al obtenido con la Preparación estándar.

C - Disolver aproximadamente 10 mg de clorhidrato de Daunorubicina en 0,5 ml de ácido nítrico, agregar 0,5 ml de agua y calentar durante 2 minutos. Dejar enfriar y agregar 0,5 ml de una

solución de 45 mg por ml de nitrato de plata. Se debe formar un precipitado blanco.

Cristalinidad

Colocar partículas de Clorhidrato de Daunorubicina en aceite mineral, sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas deben presentar birrefringencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 6,5, determinado sobre una solución de aproximadamente 5 mg por ml.

Determinación de agua <120>

Método I. No más de 3,0 %.

Sustancias relacionadas

[NOTA: preparar todas las soluciones inmediatamente antes de su uso.]

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en Valoración.

Solución estándar A - Transferir 1 ml de Preparación estándar a un matraz aforado de 200 ml y completar a volumen con Fase móvil.

Solución estándar B - Transferir 5 mg de Clorhidrato de Daunorubicinona SR-FA y 5 mg de Clorhidrato de Doxorubicina SR-FA a un matraz aforado de 100 ml, disolver en Fase móvil y completar a volumen con el mismo solvente. Transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con Fase móvil.

Solución muestra - Emplear la Preparación muestra preparada según se indica en Valoración.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 5 μ l) de la Solución estándar A, la Solución estándar B y la Solución muestra. Registrar los cromatogramas durante dos veces el tiempo de retención del pico de daunorubicina obtenido en la Solución muestra y medir las respuestas de todos los picos. En el cromatograma obtenido a partir de la Solución muestra, la respuesta del pico correspondiente a doxorubicinona no debe ser mayor a la respuesta del pico principal obtenido con la Solución estándar B (0,5 %); la respuesta del pico correspondiente al daunorubicinol (impureza B) no debe ser mayor a tres veces la respuesta del pico principal obtenido con la Solución estándar A (1,5 %); la respuesta del pico correspondiente a doxorubicina no debe ser mayor a la respuesta del pico principal obtenido con la Solución estándar B (0,5 %); ninguna otra impureza individual debe ser mayor a la respuesta del pico principal obtenido con la Solución estándar A (0,5 %); y la suma de todas

las impurezas no debe ser mayor a cinco veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (2,5 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor a 0,1 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (0,05 %).

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que Clorhidrato de Daunorubicina está destinado a la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral, no debe contener más de 4,3 Unidades de Endotoxinas por mg de clorhidrato de daunorubicina.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,0 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución de lauril sulfato - Preparar una solución que contenga 2,88 g de lauril sulfato de sodio y 2,55 g de ácido fosfórico por litro.

Fase móvil - *Solución de lauril sulfato* y acetonitrilo (1:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de resolución - Disolver 10 mg de Clorhidrato de Doxorubicina SR-FA y 10 mg de *Clorhidrato de Epirubicina* en *Fase móvil* y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Preparación estándar - Transferir 50 mg de Clorhidrato de Daunorubicina SR-FA a un matraz aforado de 50 ml, disolver en *Fase móvil* y completar a volumen con el mismo solvente.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Clorhidrato de Daunorubicina y transferir a un matraz aforado de 50 ml. Disolver en *Fase móvil*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de doxorubicina (impureza D) y daunorubicina no debe ser menor de 2,0. Cromatografiar la *Solución estándar B* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,4 para la daunorubicinona (impureza A), 0,5 para la doxorubicina, 0,6 para la epirubicina, 0,7 para el

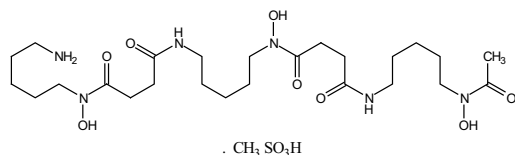
daunorubicinol (impureza B) y 1,0 para daunorubicina.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 5 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*. Registrar los cromatogramas durante dos veces el tiempo de retención del pico de daunorubicina obtenido en la *Preparación muestra* y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{27}H_{29}NO_{10} \cdot HCl$ en la porción de Clorhidrato de Daunorubicina en ensayo.

ROTULADO

Indicar en el rótulo cuando Clorhidrato de Daunorubicina esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas parenterales y, cuando corresponda, el límite de endotoxinas bacterianas.

DEFEROXAMINA, MESILATO DE



C₂₅H₄₈N₆O₈ · CH₄O₃S PM: 656,8 138-14-7

Definición - Mesilato de Deferoxamina es Metansulfonato de *N'*-[5-[[4-[[5-(acetilhidroxiamino)pentil]amino]-1,4-dioxobutil]hidroxiamino]pentil]-*N*-(5-aminopentil)-*N*-hidroxibutanodiamida. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de C₂₅H₄₈N₆O₈ · CH₄O₃S, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en agua; poco soluble en metanol; muy poco soluble en alcohol; prácticamente insoluble en éter.

Sustancia de referencia - Mesilato de Deferoxamina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto, en un sitio frío.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. [NOTA: si los espectros obtenidos presentan diferencias, disolver la muestra y la *Sustancia de referencia* en alcohol, evaporar a sequedad y registrar nuevamente los espectros empleando los residuos obtenidos].

B - Disolver 5 mg de Mesilato de Deferoxamina en 5 ml de agua, agregar 2 ml de una solución de fosfato tribásico de sodio 1 en 200 y mezclar. Agregar 10 gotas de una solución de β-naftoquinona-4-sulfonato de sodio 1 en 40: se debe desarrollar un color pardo.

Determinación del pH <250>

Entre 4,0 y 6,0, determinado sobre una solución 1 en 100.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 2,0 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %, determinado sobre 1,0 g.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Una porción de 1,2 g de Mesilato de Deferoxamina no debe presentar más cloruro que el correspondiente a 0,20 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,012 %).

Sulfato - Una porción de 0,5 g Mesilato de Deferoxamina no debe presentar más sulfato que el correspondiente a 0,20 ml de ácido sulfúrico 0,020 N (0,04 %).

Pureza cromatográfica

[NOTA: preparar las soluciones inmediatamente antes de su uso y protegerlas de la luz].

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 220 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 1,32 g de fosfato de amonio y 0,37 g de edetato disódico en 950 ml de agua. Ajustar a pH 2,8 con ácido fosfórico (aproximadamente entre 3 y 4 ml) y agregar 55 ml de tetrahidrofurano. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*)

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Mesilato de Deferoxamina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Mesilato de Deferoxamina, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución muestra diluida - Transferir 1,0 ml de *Solución muestra* a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre el pico correspondiente a un tiempo de retención relativo de aproximadamente 0,8 y el pico principal debe ser mayor a 1,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μl) de la *Solución muestra* y la *Solución muestra diluida*, registrar los cromatogramas durante tres veces el tiempo de retención del pico de deferoxamina y medir las respuestas de todos los picos. A excepción del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta de ningún pico debe ser mayor a la del pico prin-

cipal obtenido con la *Solución muestra diluida* (4,0 %); la suma de todos los picos no debe ser mayor de 1,75 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución muestra diluida* (7,0 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor de 0,02 veces el pico principal obtenido con la *Solución muestra diluida*.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que el Mesilato de Deferoxamina es estéril, no debe contener más de 0,33 Unidades de Endotoxina por mg de Mesilato de Deferoxamina.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que el Mesilato de Deferoxamina es estéril, debe cumplir con los requisitos según se indica en *Método de filtración por membrana*.

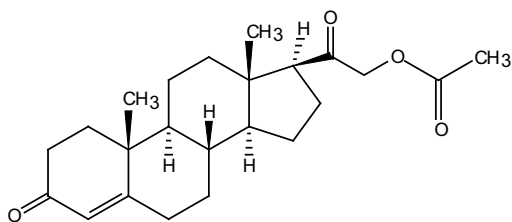
VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Mesilato de Deferoxamina, disolver en 25 ml de agua y agregar 4 ml de ácido sulfúrico 0,05 M. Titular con sulfato férrico amónico 0,1 N (SV) y, cerca del punto final, proceder a una velocidad uniforme de aproximadamente 0,2 ml por minuto. Determinar el punto final potenciométricamente, empleando un electrodo indicador de platino y un electrodo de referencia de calomel. Cada ml de sulfato férrico amónico 0,1 N equivale a 65,68 mg de $C_{25}H_{48}N_6O_8 \cdot CH_4O_3S$.

ROTULADO

Cuando el Mesilato de Deferoxamina esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas inyectables, indicar en el rótulo que es estéril.

DESOXICORTICOSTERONA, ACETATO DE



$C_{23}H_{32}O_4$

PM: 372,5

56-47-3

Definición - Acetato de Desoxicorticosterona es 21-Acetiloxi-pregn-4-eno-3,20-diona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_{23}H_{32}O_4$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Inodoro. Estable al aire. Moderadamente soluble en alcohol, acetona y dioxano; poco soluble en aceites vegetales; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Acetato de Desoxicorticosterona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: alcohol.

Concentración: 10 μ g por ml.

Las absorbividades a 240 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 155 y 161 °C.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre + 171° y + 179°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en dioxano.

[NOTA: no secar la muestra.]

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas

porosas de sílice de 5 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Transferir 600 ml de acetonitrilo y 350 ml de agua a un matraz aforado de 1 litro, dejar equilibrar, completar a volumen con agua y mezclar. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Acetato de Desoxicorticosterona, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver y completar a volumen con *Fase móvil*.

Solución estándar A - Pesar exactamente alrededor de 2 mg de Acetato de Desoxicorticosterona SR-FA y 2 mg de 17-Valerato de Betametasona, transferir a un matraz aforado de 200 ml, disolver con *Fase móvil* y completar a volumen con *Fase móvil*.

Solución estándar B - Transferir 1 ml de la *Solución muestra* a un matraz aforado de 200 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar A* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de 17-valerato de betametasona y acetato de desoxicorticosterona no debe ser menor de 4,5.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar B*, registrar los cromatogramas durante tres veces el tiempo de retención del pico principal y medir las respuestas de todos los picos. Los tiempos de retención son aproximadamente 7,5 minutos para 17-valerato de betametasona y 9,5 minutos para acetato de desoxicorticosterona. A excepción del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la suma de las respuestas de todos los picos no debe ser mayor a la respuesta del pico principal obtenida con la *Solución estándar B* (0,5 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor de 0,1 veces la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar B*.

Pérdida por secado <680>

Secar entre 100 y 105 °C sobre gel de sílice durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Preparación estándar - Proceder según se indica para *Valoración directa* en 750. *Valoración de esteroides*; empleando Acetato de Desoxicorticosterona SR-FA.

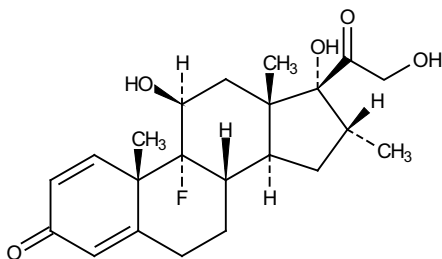
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Acetato de Desoxicorticosteron, disolver en suficiente cantidad de alcohol para obtener un volumen de 200 ml y mezclar. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 250 ml, completar a volumen con alcohol y mezclar. Transferir 20 ml de esta solución a un erlenmeyer de 50 ml con tapón de vidrio.

Procedimiento - Proceder según se indica para *Valoración directa* en 750. *Valoración de esteroides*. Calcular la cantidad en mg de $C_{23}H_{32}O_4$ en la porción de Acetato de Desoxicorticosterona en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$10C(A_M/A_E)$$

en la cual *C* los términos son los definidos en 750. *Valoración de esteroides*.

DEXAMETASONA



$C_{22}H_{29}FO_5$

PM: 392,5

50-02-2

Definición - Dexametasona es (11 β ,16 α)-9-Fluoro-11,17,21-trihidroxi-16-metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{22}H_{29}FO_5$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Estable al aire. Funde aproximadamente a 250 °C, con descomposición. Moderadamente soluble en acetona, alcohol, dioxano y metanol; poco soluble en cloroformo; muy poco soluble en éter; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Dexametasona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: alcohol absoluto.

Concentración: 30 μ g por ml.

Las absorbancias a 239 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +72° y +80°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en dioxano.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por grupos fenilo químicamente unidos a partículas porosas de sílice de 5 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución reguladora de formiato - Disolver 1,32 g de formiato de amonio en 1 litro de agua, ajustar a pH 3,6 con ácido fórmico y mezclar.

Fase móvil - **Solución reguladora de formiato** y acetonitrilo (67:33). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 180 mg de Dexametasona, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a volumen con acetonitrilo y mezclar. Transferir 33 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con **Solución reguladora de formiato** y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la **Solución muestra** y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 5.000 platos teóricos.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 10 μ l de la **Solución muestra**, registrar el cromatograma y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Dexametasona en ensayo, en relación a la suma de las respuestas de todos los picos. No debe contener más de 1,0 % de cualquier impureza individual y no debe contener más de 2,0 % de impurezas totales.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 % determinado sobre 250 mg.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm \times 4 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas totalmente porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2 ml por minuto, de modo que el tiempo de retención de Dexametasona sea aproximadamente 8 minutos.

Fase móvil - Agua y acetonitrilo (7:3). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

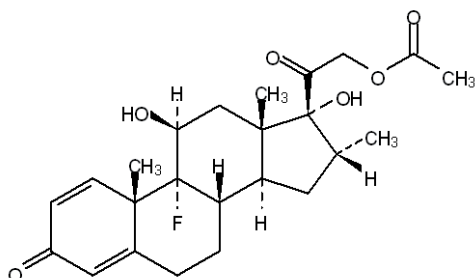
Preparación estándar - Preparar una solución de Dexametasona SR-FA en metanol de aproximadamente 7,5 mg por ml. Diluir un volumen exactamente medido de esta solución con **Fase móvil** para obtener una solución de aproximadamente 0,3 mg por ml.

Preparación muestra - Proceder según se indica en *Preparación estándar*, empleando 30 mg de Dexametasona.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 3,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (entre 15 y 30 μ l) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{22}H_{29}FO_5$ en la porción de Dexametasona en ensayo.

DEXAMETASONA, ACETATO DE



$C_{24}H_{31}FO_6$	PM: 434,5	1177-87-3
Monohidrato	PM: 452,5	55812-90-3

Definición - Acetato de Dexametasona es (11 β ,16 α)-9-Fluoro-11,17-dihidroxi-21-acetiloxi-16-metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{24}H_{31}FO_6$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Inodoro. Fácilmente soluble en metanol, acetona y dioxano; prácticamente insoluble en agua. Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Acetato de Dexametasona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: metanol.

Concentración: 15 μ g por ml.

Las absorbividades a 239 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre + 82° y + 88°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en dioxano.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico y Solución reguladora de formiato - Proceder según se indica en *Pureza cromatográfica en Dexametasona.*

Fase móvil - *Solución reguladora de formiato y*

acetónitrilo (3:2). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud de sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Acetato de Dexametasona, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver, completar a volumen con acetónitrilo y mezclar. Transferir 40 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Solución reguladora de formiato* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución muestra* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento:* la eficiencia de la columna no debe ser menor de 5.400 platos teóricos.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 10 μ l de la *Solución muestra*, registrar el cromatograma y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Acetato de Dexametasona en ensayo, en relación a la suma de las respuestas de todos los picos. No debe contener más de 1,0 % de cualquier impureza individual y no más de 2,0 % de impurezas totales.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 105 °C durante 3 horas: el monohidrato debe perder entre 3,5 y 4,5 % de su peso y la forma anhidra no más de 0,4 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm \times 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua y acetónitrilo (55:45). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución reguladora de pH 6,0 - Transferir 3 ml de hidróxido de sodio 1 N, 138 ml de cloruro de potasio 0,5 N y 50 ml de fosfato monobásico de potasio 0,5 M a un matraz aforado de 1 litro, completar a volumen con agua y mezclar.

Diluyente - Acetonitrilo y *Solución reguladora de pH 6,0* (1:1).

Preparación estándar - Pesar exactamente alre-

dedor de 25 mg de Acetato de Dexametasona SR-FA, transferir a un matraz aforado de 250 ml, agregar 100 ml de *Diluyente* y sonicar para obtener una solución transparente. Completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Acetato de Dexametasona, transferir a un matraz aforado de 250 ml, agregar 100 ml de *Diluyente* y sonicar para obtener una solución transparente. Completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 1.500 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; el factor de capacidad no debe ser menor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad en mg de $C_{24}H_{31}FO_6$ en la porción de Acetato de Dexametasona en ensayo, por la fórmula siguiente:

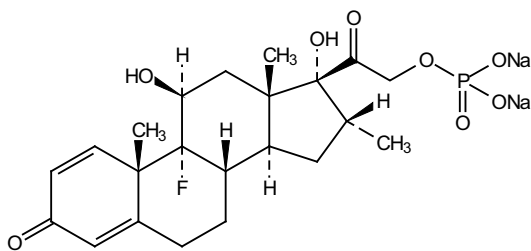
$$250C(r_M/r_E)$$

en la cual *C* es la concentración en mg por ml de Acetato de Dexametasona SR-FA en la *Preparación estándar* y r_M y r_E son las respuestas de los picos obtenidos en la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, respectivamente.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si Acetato de Dexametasona es anhidra o monohidrato.

DEXAMETASONA, FOSFATO SÓDICO DE



$C_{22}H_{28}FN_2O_8P$ PM: 516,4 2392-39-4

Definición - Fosfato Sódico de Dexametasona es Sal disódica de (11 β ,16 α) 9-fluoro-11,17-dihidroxi-21-(fosfonooxi)-16-metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{22}H_{28}FN_2O_8P$, calculado sobre la sustancia anhidra y libre de alcohol y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o algo amarillo. Inodoro o posee un débil olor a alcohol. Excesivamente higroscópico. Fácilmente soluble en agua; poco soluble en alcohol; muy poco soluble en dioxano; insoluble en cloroformo y éter.

Presenta polimorfismo.

Sustancias de referencia - Dexametasona SR-FA. Fosfato de Dexametasona SR-FA. Fosfato Sódico de Dexametasona SR-FA. Fosfato Sódico de Prednisolona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Butanol, agua y ácido acético glacial (60:20:20).

Solución estándar A - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Fosfato Sódico de Dexametasona SR-FA, transferir a un matraz aforado de 20 ml, disolver y completar a volumen con metanol.

Solución estándar B - Disolver 10 mg de Fosfato Sódico de Prednisolona SR-FA en la *Solución estándar A* y diluir a 10 ml con la misma solución.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Fosfato Sódico de Dexametasona y transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver y completar a volumen con metanol y mezclar.

Revelador - Agregar cuidadosamente y enfriando, 20 ml ácido sulfúrico a 60 ml de alcohol. Dejar enfriar y diluir a 100 ml con el mismo solvente [NOTA: preparar en el momento de su uso].

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 μ l de la *Solución muestra* y 5 μ l de las *Soluciones estándar A* y *B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Secar la placa al aire y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm: la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar en tamaño, intensidad y valor de R_f a la obtenida con la *Solución estándar A*. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar a 120 °C durante 10 minutos o hasta que las manchas aparezcan. Dejar enfriar y examinar bajo luz natural y bajo luz ultravioleta a 366 nm: la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder en tamaño, valor de R_f , color a la luz natural y fluorescencia a la luz ultravioleta que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A*. El ensayo solo es válido si en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar B* se observan dos manchas, las cuales pueden no estar completamente separadas.

B - El residuo de ignición debe responder a los ensayos para *Fosfato* <410> y para *Sodio* <410>.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre + 74° y + 82°, calculada sobre la sustancia libre de agua y alcohol.

Solución muestra: 10 mg por ml, en agua.

Determinación del pH <250>

Entre 7,5 y 10,5, determinado sobre una solución 1 en 100.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. La suma de los porcentajes del contenido de agua y del contenido de alcohol, determinado según se indica en *Determinación de alcohol*, no debe ser mayor de 16,0 %.

Determinación de alcohol <130>

Proceder según se indica para *Método II*; excepto que se debe emplear una columna con fase estacionaria constituida por un copolímero de 4-vinilpiridina y estireno-divinilbenceno y las siguientes modificaciones.

Solución del estándar interno - Transferir 1,0 ml de alcohol isopropílico a un matraz aforado

de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución estándar - Preparar una solución 1 en 50 de alcohol en agua. Determinar la densidad relativa a 25 °C (ver 160. *Determinación de la densidad relativa*) y obtener el porcentaje de C₂H₅OH por referencia a la *Tabla alcoholimétrica* en *Tablas*.

Preparación estándar - Transferir 4,0 ml de *Solución estándar* y 5,0 ml de *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 10 ml. Completar a volumen con agua y mezclar. Inyectar 2 µl de esta solución en el cromatógrafo de gases.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Fosfato Sódico de Dexametasona, transferir a un matraz aforado de 10 ml, agregar 5,0 ml de *Solución estándar interno* y mezclar hasta disolver. Completar a volumen con agua y mezclar. Inyectar 2 µl de esta solución en el cromatógrafo de gases.

Cálculos - Calcular el porcentaje de alcohol en la porción de Fosfato Sódico de Dexametasona en ensayo por la fórmula siguiente:

$$4(S/P)(R_M/R_E)$$

en la cual *S* es el porcentaje de alcohol en la *Solución estándar*, *P* es el peso en g de Fosfato Sódico de Dexametasona empleado en la *Preparación muestra* y *R_M* y *R_E* son las respuestas del pico de alcohol, relativas al estándar interno, en la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, respectivamente. El contenido de C₂H₅OH no debe ser mayor de 8,0 %.

Fosfato inorgánico

Solución estándar de fosfato - Disolver 143,3 mg de fosfato monobásico de potasio seco en agua y diluir a 1 litro. Esta solución contiene el equivalente a 0,10 mg de fosfato en cada ml.

Reactivo para fosfato A - Disolver 5 g de molibdato de amonio en ácido sulfúrico 1 N para obtener 100 ml.

Reactivo para fosfato B - Disolver 350 mg de sulfato *p*-metilaminofenol en 50 ml de agua, agregar 20 g de bisulfito de sodio, mezclar hasta disolver y diluir con agua a 100 ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Fosfato Sódico de Dexametasona, transferir a un matraz aforado de 25 ml y disolver en una mezcla de 10 ml de agua y 5 ml de ácido sulfúrico 2 N, calentando si fuera necesario. Agregar 1 ml de *Reactivo para fosfato A* y 1 ml de *Reactivo para fosfato B*, completar a volumen con agua, mezclar y dejar reposar a temperatura ambiente durante 30 minutos.

Solución estándar - En forma similar y en sucesión inmediata, preparar una *Solución estándar* empleando 5,0 ml de *Solución estándar de fosfato* en lugar de 50 mg de Fosfato Sódico de Dexametasona.

Procedimiento - Determinar concomitantemente las absorbancias de ambas soluciones, en celdas de 1 cm a 730 nm, con un espectrofotómetro, empleando agua como blanco. La absorbancia de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la de la *Solución estándar*. No debe contener más de 1,0 % de fosfato.

Dexametasona libre

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,5 mm con fase estacionaria constituida por grupos fenilo químicamente unidos a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,2 ml por minuto.

Solución de trietilamina - Preparar una solución que contenga 7,5 ml de trietilamina en 1 litro de agua. Ajustar a pH 5,4 con ácido fosfórico.

Fase móvil - *Solución de trietilamina* y metanol (74:26). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Fosfato de Dexametasona SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg por ml. Preparar una segunda solución disolviendo una cantidad exactamente pesada de Dexametasona SR-FA en una mezcla de metanol y agua (1:1) para obtener una solución de aproximadamente 50 µg por ml. Transferir 10,0 ml de la primera solución y 1,0 ml de la segunda solución a un matraz aforado de 100 ml. Completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Fosfato Sódico de Dexametasona, transferir a un matraz aforado de 100 ml y disolver con *Fase móvil*. Completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Diluir 5,0 ml de esta solución con *Fase móvil* a 50,0 ml.

Solución de aptitud del sistema - Preparar una solución en *Fase móvil* de aproximadamente 0,05 y 0,02 mg por ml de Fosfato de Dexametasona SR-FA y de Dexametasona SR-FA, respectivamente.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna determinada para el pico principal no debe ser menor de 900 platos teóricos; el factor de asimetría para el

pico principal no debe ser mayor de 1,6; la resolución *R* entre los picos de fosfato de dexametasona y dexametasona no debe ser menor de 1,8; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos de dexametasona. Calcular la cantidad de dexametasona (C₂₂H₂₉FO₅) en la porción de Fosfato Sódico de Dexametasona en ensayo. No debe contener más de 1,0 %.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico, Solución reguladora, de acetato, Solución A, Solución B y Fase móvil proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* según se indica en *Valoración*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución muestra* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre el pico principal y el de la impureza más cercana no debe ser menor de 1,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 4,0 %.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 15 µl de la *Solución muestra*, registrar el cromatograma y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza individual en la porción de Fosfato Sódico de Dexametasona en ensayo, en relación a la suma de las respuestas de todos los picos. No debe contener más de 1,0 % de cualquier impureza individual y no más de 2,0 % de impurezas totales.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. Mantener la temperatura de la columna a aproximadamente 40 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto. El cromatógrafo se debe programar del siguiente modo:

Tiempo (minutos)	Solución A (%)	Solución B (%)	Etapas
0-3,5	90	10	Isocrática
3,5-24	90→60	10→40	Gradiente lineal
24-35	60→5	40→95	Gradiente lineal
35-60	5	95	Isocrática
60-60,1	5→90	95→10	Gradiente lineal
60,1-65	90	10	Isocrática

Solución reguladora de acetato - Disolver 7 g de acetato de amonio en 1 litro de agua, ajustar a pH 4,00 ± 0,05 y mezclar.

Solución A - Metanol, agua y *Solución reguladora de acetato* (7:7:6). Filtrar y desgasificar.

Solución B - Metanol y *Solución reguladora de acetato* (7:3). Filtrar y desgasificar.

Fase móvil - Emplear mezclas de *Solución A* y *Solución B* según se indica en *Sistema cromatográfico*. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

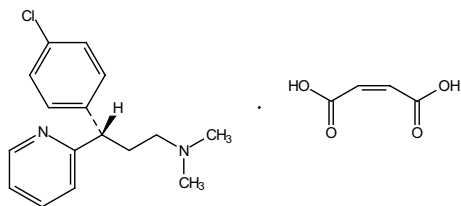
Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Fosfato de Dexametasona SR-FA en *Solución A* para obtener una solución de aproximadamente 0,92 mg por ml.

Preparación muestra - Disolver una cantidad exactamente pesada de Fosfato Sódico de Dexametasona en *Solución A* y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 1,0 mg por ml.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación muestra* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre el pico de fosfato de dexametasona y el de la impureza más cercana no debe ser menor de 1,0. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 15 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₂₂H₂₈FNa₂O₈P en la porción de Fosfato Sódico de Dexametasona en ensayo.

DEXCLORFENIRAMINA, MALEATO DE



$C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$ PM: 390,9 2438-32-6

Definición - Maleato de Dexclorfeniramina es Maleato de (+)-2-[*p*-cloro- α -(2-dimetilaminoetil)encil]piridina (1:1). Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$, secado a 65 °C durante 4 horas y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco, inodoro. Fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol y cloroformo; poco soluble en éter y benceno.

Sustancia de referencia - Maleato de Dexclorfeniramina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: agua.

Concentración: 40 µg por ml.

Determinación del punto de fusión <260>

Método I. Entre 110 y 115 °C.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre + 39,5° y + 43,0°.

Solución muestra: 50 mg por ml, en dimetilformamida.

Determinación del pH <250>

Entre 4,0 y 5,0, determinado sobre una solución 1 en 100.

Pérdida por secado <680>

Secar a 65 °C durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 1,2 m × 4 mm con 3 % de fase constituida por 50 % de fenil silicona y 50 % de metilpolisiloxano sobre un soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases que ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C. [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido y con álcali, luego se lava con agua hasta neutralidad. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener la columna, el inyector y el detector a aproximadamente 190, 250 y 250 °C, respectivamente. Se debe emplear helio como gas transportador con un caudal ajustado para obtener un tiempo de retención de 4 a 5 minutos para el pico principal.

Solución muestra - Disolver aproximadamente 200 mg de Maleato de Dexclorfeniramina en 5 ml de cloruro de metileno y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución muestra* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría para el pico de maleato de dexclorfeniramina no debe ser mayor de 1,8.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 1 µl de la *Solución muestra*. Registrar el cromatograma durante un tiempo total no inferior a dos veces el tiempo de retención del pico de dexclorfeniramina y medir las respuestas de los picos. A excepción de los picos del solvente y del ácido maleico, la respuesta relativa total de todos los picos extraños no debe ser mayor a 2,0 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 150 mg de Maleato de Dexclorfeniramina, disolver en 25 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 19,54 mg de $C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$.

DEXTRANO 40

CALIDAD INYECTABLE

Definición - Dextrano 40 Calidad Inyectable se obtiene mediante hidrólisis controlada y fraccionamiento de los polisacáridos producidos por fermentación de la sacarosa utilizando cepas de *Leuconostoc mesenteroides* (NRRL, B-512F; NCTC, 10817). Se debe preparar en condiciones que minimicen el riesgo de contaminación microbiana. Es una mezcla de polisacáridos, principalmente del tipo α -1,6-glucano. Su peso molecular promedio debe ser aproximadamente 40.000 y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Muy soluble en agua; muy poco soluble en alcohol.

Sustancias de referencia - Dextrano SR-FA. Dextrano 4 para calibrado SR-FA. Dextrano 10 para calibrado SR-FA. Dextrano 40 para calibrado SR-FA. Dextrano 70 para calibrado SR-FA. Dextrano 250 para calibrado SR-FA. Dextrano V_0 SR-FA. Dextrano 40 para validación SR-FA. Dextrano 60/70 para validación SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases herméticos.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. [NOTA: emplear Dextrano SR-FA como *Sustancia de referencia*].

B - Debe cumplir con el ensayo de *Distribución del peso molecular de los dextranos*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre + 195 ° y + 201 °.

Solución muestra: 20 mg por ml, calentar, si fuera necesario, en un baño de agua hasta disolución.

Pérdida por secado <680>

Secar 200 mg de Dextrano 40 Calidad Inyectable en estufa a 105 °C durante 5 horas: no debe perder más de 7,0 % de su peso.

Límite de metales pesados <590>

Método IV. Emplear 12 ml de una solución preparada disolviendo 5,0 g de Dextrano 40 Calidad Inyectable en agua, calentando en un baño de agua, y diluida hasta 50 ml con el mismo solvente. El límite es 0,001 %. Preparar la *Solución estándar* empleando *Solución estándar de plomo (1 ppm)*.

Ensayos de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que Dextrano 40 Calidad Inyectable está destinado a la preparación de formas farmacéuticas parenterales, debe contener menos de 10 Unidades de Endotoxina por gramo.

Acidez o alcalinidad

Disolver 5,0 g de Dextrano 40 Calidad Inyectable en agua, calentando en un baño de agua y diluir hasta 50 ml con el mismo solvente. A 10 ml de esta solución, agregar 0,1 ml de fenoltaleína (SR1). La solución debe permanecer incolora. Agregar 0,2 ml de hidróxido de sodio 0,01 N: se debe observar color rojo. Agregar 0,4 ml de ácido clorhídrico 0,01 N: la solución debe ser incolora. Agregar 0,1 ml de rojo de metilo (SR1): la solución debe ser roja o anaranjada.

Límite de impurezas nitrogenadas

Proceder según se indica en *Límite de impurezas nitrogenadas en Dextrano 70 Calidad Inyectable*.

Solventes residuales

Proceder según se indica en *Solventes residuales en Dextrano 70 Calidad Inyectable*.

DISTRIBUCIÓN DEL PESO MOLECULAR DE LOS DEXTRANOS

Proceder según se indica en *Distribución del Peso Molecular de los Dextranos en Dextrano 70 Calidad Inyectable*.

El peso molecular promedio \overline{M}_p debe estar entre 35.000 y 45.000. El peso molecular promedio de la fracción superior (10 %) debe ser como máximo 110.000 y el de la fracción inferior debe ser como mínimo 7.000.

DEXTRANO 70 CALIDAD INYECTABLE

Definición - Dextrano 70 Calidad Inyectable se obtiene mediante hidrólisis controlada y fraccionamiento de los polisacáridos producidos por fermentación de la sacarosa utilizando ciertas cepas de *Leuconostoc mesenteroides* (NRRL, B-512F; NCTC, 10817). Se debe preparar en condiciones que minimicen el riesgo de contaminación microbiana. Es una mezcla de polisacáridos, principalmente del tipo α -1,6-glucano. Su peso molecular promedio debe ser aproximadamente 70.000 y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Muy soluble en agua; muy poco soluble en alcohol.

Sustancias de referencia - Dextrano SR-FA. Dextrano 4 para calibrado SR-FA. Dextrano 10 para calibrado SR-FA. Dextrano 40 para calibrado SR-FA. Dextrano 70 para calibrado SR-FA. Dextrano 250 para calibrado SR-FA. Dextrano V_0 SR-FA. Dextrano 40 para validación SR-FA. Dextrano 60/70 para validación SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases herméticos.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. [NOTA: emplear Dextrano SR-FA como *Sustancia de referencia*].

B - Debe cumplir con el ensayo de *Distribución del peso molecular de los dextranos*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre + 195 ° y + 201 °.

Solución muestra: 20 mg por ml, calentar, si fuera necesario, en un baño de agua hasta disolución.

Acidez o alcalinidad

Disolver 5,0 g de Dextrano 70 Calidad Inyectable en agua, calentando en un baño de agua, y diluir hasta 50 ml con el mismo solvente. A 10 ml de esta solución agregar 0,1 ml de fenolftaleína (SR1). La solución debe permanecer incolora. Agregar 0,2 ml de hidróxido de sodio 0,01 M: se debe observar color rojo. Agregar 0,4 ml de ácido clorhídrico 0,01 M: la solución debe ser incolora. Agregar 0,1 ml de rojo de metilo (SR1): la solución debe ser roja o anaranjada.

Límite de impurezas nitrogenadas

Solución de sulfato - A 1 litro de ácido sulfúrico, agregar 5 g de sulfato cúprico anhidro y 500 g

de sulfato de potasio. Disolver mediante calentamiento y almacenar a 60 °C. [NOTA: si no fuera posible almacenar a 60 °C, preparar una menor cantidad de *Solución de sulfato* el día de su uso].

Indicador - Preparar una mezcla de 20 ml de una solución de verde de bromocresol al 0,1 % en alcohol y 4 ml de rojo de metilo (SR) y diluir 100 ml con agua.

Procedimiento - Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Dextrano 70 Calidad Inyectable, transferir a un micro matraz de Kjeldahl. Agregar 4 ml de *Solución de sulfato*. Calentar hasta que la solución presente color verde transparente y las paredes del matraz estén libres de residuos carbonosos. Enfriar y transferir la solución a un balón de destilación. Enjuagar el matraz de Kjeldahl tres veces con 5 ml de agua, agregando los lavados a la solución. Agregar 15 ml de solución de hidróxido de sodio al 45 %, adosar al refrigerante y comenzar la destilación. Recolectar el destilado en un matraz de 100 ml que contenga 1 ml de *Indicador*, manteniendo el extremo del tubo colector debajo de la superficie del líquido durante 5 minutos y por encima de la superficie durante 1 minuto. Al terminar la destilación, retirar el matraz receptor y lavar el extremo del tubo colector con agua, agregando el lavado al destilado. Titular el destilado con ácido clorhídrico 0,010 N hasta que el color cambie de azul a violeta rojizo. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). No deben consumirse más de 0,14 ml de ácido clorhídrico 0,010 N para hacer virar el color del *Indicador* (0,01 %, como N).

Solventes residuales

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de 1,8 m x 2,0 mm recubierta con fase estacionaria constituida por copolímero de etilvinilbenceno y divinilbenceno (125 a 150 μ m). Mantener la columna, el inyector y el detector a aproximadamente 190, 240 y 210 °C, respectivamente. Se debe emplear nitrógeno como gas transportador con un caudal de aproximadamente 25 ml por minuto.

Solución del estándar interno - Alcohol *n*-propílico.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 5,0 g de Dextrano 70 Calidad Inyectable, disolver en 100 ml de agua y destilar la solución, recolectando los primeros 45 ml del destilado, agregar 1 ml de una solución de aproximadamente 2,5 % de alcohol *n*-propílico, diluir hasta 50,0 ml con agua y mezclar.

Solución estándar - Mezclar 0,5 ml de una solución de alcohol absoluto de aproximadamente

2,5 %, 0,5 ml de una solución de alcohol propílico de aproximadamente 2,5 % y 0,5 ml de una solución de metanol de aproximadamente 0,25 %. Diluir a 25 ml con agua.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 1 µl) de la *Solución muestra*, la *Solución estándar* y la *Solución del estándar interno*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta de ningún pico correspondiente al metanol o al alcohol absoluto debe ser mayor que la respuesta del pico correspondiente en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar* (0,5 % de alcohol absoluto y 0,05 % de metanol) y la suma de la respuesta de todos los picos, a excepción de los picos correspondientes al alcohol absoluto, al metanol y al estándar interno, no debe ser mayor que la respuesta del pico correspondiente al patrón interno (0,5 % calculado como *n*-propílico).

Límite de metales pesados <590>

Método IV. Emplear 12 ml de una solución preparada disolviendo 5,0 g de Dextrano 70 Calidad Inyectable en agua, calentando en un baño de agua, y diluida hasta 50 ml con el mismo solvente. El límite es 0,001 %. Preparar la *Solución estándar* empleando *Solución estándar de plomo* (1 ppm).

Pérdida por secado <680>

Secar 200 mg de Dextrano 70 Calidad Inyectable en estufa a 105 °C durante 5 horas: no debe perder más de 7,0 % de su peso.

Ensayos de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que Dextrano 70 Calidad Inyectable está destinado a la preparación de formas farmacéuticas parenterales, debe contener no más de 16 Unidades de Endotoxina por gramo.

DISTRIBUCIÓN DEL PESO MOLECULAR DE LOS DEXTRANOS

Examinar por cromatografía de exclusión (ver 100. *Cromatografía*).

Sistema Cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector por índice de refracción, un inyector de bucle de 100 a 200 µl y tres columnas de 30 cm × 10 mm con fase estacionaria constituida por agarosa para cromatografía de exclusión, o una serie de columnas de 30 cm × 10 mm con fase estacionaria constituida por gel poliéter hidroxilado para cromatografía. Mantener el sistema a temperatura constante.

Fase móvil - Solución acuosa de sulfato de sodio anhidro y clorobutanol de aproximadamente 7 g y 1 g por litro, respectivamente. Filtrar y desgasifi-

car. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Disolver 200 mg de Dextrano 70 Calidad Inyectable, en *Fase móvil* y completar hasta 10 ml con *Fase móvil*.

Solución marcador - Preparar una solución en *Fase móvil* de aproximadamente 5 mg de *Glucosa Anhidra* y 2 mg de Dextrano V_o SR-FA en 1 ml de *Fase móvil*.

Soluciones de calibración - Disolver por separado en 1 ml de *Fase móvil*, 15 mg de Dextrano 4 para calibrado SR-FA, 15 mg de Dextrano 10 para calibrado SR-FA, 20 mg de Dextrano 40 para calibrado SR-FA, 20 mg de Dextrano 70 para calibrado SR-FA y 20 mg de Dextrano 250 para calibrado SR-FA.

Solución para validar el sistema - Disolver 20 mg de Dextrano 40 para validación SR-FA (para el análisis del dextrano 40) ó 20 mg de Dextrano 60/70 para validación SR-FA (para el análisis del dextrano 60 y del dextrano 70), en 1 ml de *Fase móvil*.

Calibración del sistema cromatográfico

Inyectar varias veces el volumen elegido de la *Solución marcador*. El cromatograma obtenido con la *Solución marcador* debe presentar dos picos sucesivos correspondientes al Dextrano V_o a partir del volumen de elución correspondiente al Dextrano V_o y el volumen total V_t a partir del pico correspondiente a la glucosa anhidra.

Inyectar el volumen elegido de cada una de las *Soluciones de calibración*. Trazar cuidadosamente la línea de base de cada una de los cromatogramas obtenidos. Dividir cada cromatograma en *a* (al menos 60) bandas verticales iguales (correspondientes a volúmenes de elución iguales). En cada banda *i*, correspondiente a un volumen de elución V_i , medir la altura y_i que separa la línea de base del trazo del cromatograma y calcular el coeficiente de distribución K_i por la fórmula siguiente:

$$(V_i - V_o) / (V_t - V_o)$$

en la cual V_o es el volumen intersticial de la columna, determinado a partir del pico correspondiente al Dextrano V_o SR-FA en el cromatograma obtenido con la *Solución marcador*; V_t es el volumen total de la columna determinado a partir del pico correspondiente a la glucosa anhidra en el cromatograma obtenido con la *Solución marcador*; V_i es el volumen de elución de la banda *i* en el cromatograma obtenido con cada una de las *Soluciones de calibración*.

Calibrado por cálculo de la curva

Calcular con la ayuda de las fórmulas (2) y (3), empleando un método apropiado, los valores de b_i ,

b_2, b_3, b_4 y b_5 que dan valores de \overline{M}_p que no deben diferir en más de un 5 % del valor declarado para cada uno de los dextransos para calibrado, y de 180 ± 2 para la glucosa anhidra:

$$M_i = b_5 + e^{(b_4 + b_1 K_i + b_2 K_i^2 + b_3 K_i^3)}$$

y

$$\overline{M}_p = \frac{\sum_{i=1}^a (y_i M_i)}{\sum_{i=1}^a y_i}$$

en la cual a es el número de bandas en que se ha dividido el cromatograma; y_i es la altura que separa la línea de base del trazado del cromatograma en la banda i ; M_i es el peso molecular en la banda i .

Validación del sistema cromatográfico

Inyectar el volumen elegido de la *Solución de validación del sistema* de Dextrano a analizar.

Peso molecular medio total del dextrano para validación - Calcular \overline{M}_p según de indica en *Calibración del sistema cromatográfico*, empleando los valores obtenidos para b_1, b_2, b_3, b_4 y b_5 .

El ensayo solo será válido si el valor de \overline{M}_p es de:

- 41.000 a 47.000 para el *Dextrano 40 para validación SR-FA*.
- 67.000 a 75.000 para el *Dextrano 60/70 para validación SR-FA*.

Peso molecular medio de la fracción superior de dextrano (10 %) - Calcular \overline{M}_p para la fracción superior de dextrano (10 %) que eluye en la banda n , por la fórmula siguiente:

$$\overline{M}_p = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i M_i)}{\sum_{i=1}^n y_i} \quad (4)$$

estando n definido por las fórmulas siguientes:

$$\sum_{i=1}^n y_i \leq 0,1 \left(\sum_{i=1}^a y_i \right) \quad (5)$$

y

$$\sum_{i=1}^{n+1} y_i > 0,1 \left(\sum_{i=1}^a y_i \right) \quad (6)$$

el las cuales a es el número de bandas en que se ha dividido el cromatograma; y_i es la altura que separa

la línea de base del trazado del cromatograma en la banda i ; M_i es el peso molecular en la banda i .

El ensayo solo será válido si el valor de \overline{M}_p para la fracción superior de dextrano (10 %) es de:

- 110.000 a 130.000 para el *Dextrano 40 para validación SR-FA*.
- 190.000 a 230.000 para el *Dextrano 60/70 para validación SR-FA*.

Peso molecular medio de la fracción inferior de dextrano (10 %) - Calcular \overline{M}_p para la fracción inferior de dextrano (10 %) que eluye en la banda m , por la fórmula siguiente:

$$\overline{M}_p = \frac{\sum_{i=m}^a (y_i M_i)}{\sum_{i=m}^a y_i} \quad (7)$$

estando m definido por las fórmulas siguientes:

$$\sum_{i=m}^a y_i \leq 0,1 \left(\sum_{i=1}^a y_i \right) \quad (8)$$

y

$$\sum_{i=m-1}^a y_i > 0,1 \left(\sum_{i=1}^a y_i \right) \quad (9)$$

el las cuales a es el número de bandas en que se ha dividido el cromatograma; y_i es la altura que separa la línea de base del trazado del cromatograma en la banda i ; M_i el peso molecular en la banda i .

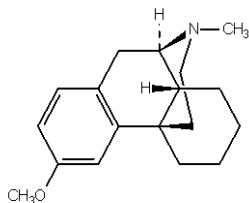
El ensayo solo será válido si el valor de \overline{M}_p para la fracción inferior de dextrano (10 %) es de:

- 6.000 a 8.500 para el *Dextrano 40 para validación SR-FA*.
- 7.000 a 11.000 para el *Dextrano 60/70 para validación SR-FA*.

Distribución del peso molecular del dextrano en ensayo

Inyectar el volumen elegido de la *Solución muestra*. Calcular los valores de \overline{M}_p que corresponden respectivamente a la distribución del peso molecular total, a la fracción superior de dextrano (10 %) y a la fracción inferior de dextrano (10 %) según se indica en *Validación del sistema cromatográfico*. El peso molecular promedio \overline{M}_p debe estar entre 64.000 y 76.000. El peso molecular promedio de la fracción superior (10 %) debe ser como máximo 185.000 y el de la fracción inferior debe ser como mínimo 15.000.

DEXTROMETORFANO



$C_{18}H_{25}NO$

PM: 271,4

125-71-3

Definición - Dextrometorfan es (\pm)-3-Metoxi-17-metil-9 α ,13 α ,14 α -morfina. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{18}H_{25}NO$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino casi blanco o ligeramente amarillento. Inodoro. Fácilmente soluble en cloroformo; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Dextrometorfan SR-FA

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: ácido clorhídrico diluido (1 en 120).

Concentración: 100 μ g por ml.

Las absorbancias a 278 nm, calculadas sobre la sustancia anhidra, no deben diferir en más de 3,0 %.

Determinación de la rotación óptica <170>

Disolver una porción exactamente pesada de Dextrometorfan en cloroformo para obtener una solución de aproximadamente 100 mg por ml: la rotación específica de esta solución no debe diferir en más de 1,0 % de la obtenida con una solución de Dextrometorfan SR-FA, tratada del mismo modo.

Determinación del punto de fusión <260>

Método I. Entre 109,5 y 112,5 °C.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,5 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de *N,N*-Dimetilanilina

Solución estándar - Transferir 50 mg de *N,N*-dimetilanilina a un matraz aforado de 100 ml, agregar 70 ml de agua, tapar perfectamente y agitar durante 20 minutos. Completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 25 ml y agregar 19 ml de agua.

Solución muestra - Transferir 500 mg de Dextrometorfan, exactamente pesados, a un matraz aforado de 25 ml. Agregar 19 ml de agua y 1 ml de ácido clorhídrico 3 N. Disolver por calentamiento o empleando un baño de vapor y enfriar.

Procedimiento - Agregar por separado a la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, 2,0 ml de ácido acético 1 N y 1,0 ml de nitrato de sodio 1 en 100. Completar ambos matraces a volumen y mezclar: la *Solución muestra* no debe presentar una coloración más intensa que la *Solución estándar* (0,001 %).

Límites de compuestos fenólicos

Disolver 10 mg de Dextrometorfan en 2 ml de ácido clorhídrico 3 N y agregar 2 gotas de cloruro férrico (SR). Mezclar y agregar 2 gotas de ferricianuro de potasio (SR) y observar después de 2 minutos: no debe desarrollarse coloración azul verdosa.

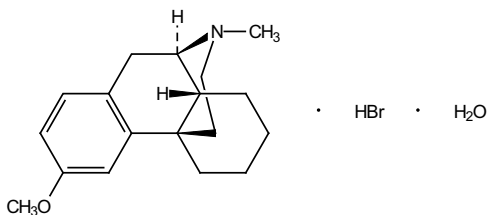
Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 700 mg de Dextrometorfan y disolver en 60 ml de ácido acético glacial, calentando suavemente si fuera necesario, para disolver. Agregar 2 gotas de cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) hasta punto final verde azulado. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 27,14 mg de $C_{18}H_{25}NO$.

DEXTROMETORFANO, BROMHIDRATO DE



$\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{NO} \cdot \text{HBr} \cdot \text{H}_2\text{O}$ PM: 370,3 6700-34-1

Anhidro PM: 352,3 125-69-9

Definición - Bromhidrato de Dextrometorfano es Bromhidrato de (\pm)-3-Metoxi-17-metilmorfinan, monohidrato. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{NO} \cdot \text{HBr}$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales o polvo cristalino casi blanco. Funde aproximadamente a 126 °C, con descomposición. Fácilmente soluble en alcohol y cloroformo; moderadamente soluble en agua; insoluble en éter.

Sustancia de referencia - Bromhidrato de Dextrometorfano SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. [NOTA: secar previamente al vacío sobre pentóxido de fósforo durante 4 horas].

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: agua.

Concentración: 70 μg por ml.

Las absorbancias a 278 nm, calculadas sobre la sustancia anhidra, no deben diferir en más de 3,0 %.

C - A 5 ml de una solución de Bromhidrato de Dextrometorfano 1 en 200, agregar 5 gotas de ácido nítrico 2 N y 2 ml de nitrato de plata (SR): se debe formar un precipitado color blanco amarillento.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +28° y +30°, calculada sobre la sustancia anhidra.

Solución muestra: disolver 200 mg en ácido clorhídrico 0,1 N y diluir a 10,0 ml con el mismo solvente.

Determinación del pH <250>

Entre 5,2 y 6,5, determinado sobre una solución 2 en 100.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 3,5 y 5,5 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de *N,N*-Dimetilanilina

Transferir 500 mg de Bromhidrato de Dextrometorfano a un matraz aforado de 25 ml. Agregar 20 ml de agua y calentar en un baño de vapor hasta disolución. Enfriar, agregar 2 ml de ácido acético 1 N y 1 ml de solución de nitrito de sodio 1 en 100, completar a volumen con agua y mezclar. Esta solución no debe presentar más color que el que corresponde a una solución preparada de forma similar con una concentración de 5 μg de *N,N*-Dimetilanilina en 25 ml (0,001 %).

Límite de compuestos fenólicos

Disolver aproximadamente 5 mg de Bromhidrato de Dextrometorfano en 1 ml de agua, agregar 1 gota de ácido clorhídrico 3 N y 2 gotas de cloruro férrico (SR). Mezclar, agregar 2 gotas de ferricianuro de potasio (SR) y observar luego de 2 minutos: no se debe desarrollar color verde azulado.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Preparar una solución filtrada y desgasificada que contenga docusato sódico 0,007 M y nitrato de amonio 0,007 M en una mezcla de acetonitrilo y agua (70:30) y ajustar a pH 3,4 con ácido acético glacial. [NOTA: disolver el docusato sódico en la mezcla de acetonitrilo y agua antes de agregar el nitrato de amonio.]

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Bromhidrato de Dextrometorfano SR-FA en agua para obtener una solución con una concentración de aproximadamente 1 mg por ml. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

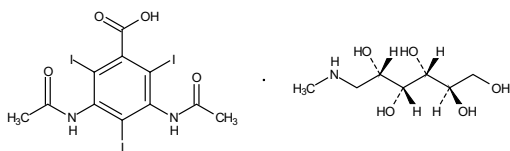
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Bromhidrato de Dextrometorfano, transferir a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de

100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría para el pico principal no debe ser mayor de 2,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{18}H_{25}NO \cdot HBr$ en la porción de Bromhidrato de Dextrometorfano en ensayo.

DIATRIZOATO DE MEGLUMINA



$C_{11}H_9I_3N_2O_4 \cdot C_7H_{17}NO_5$ PM: 809,1 131-49-7

Definición - Diatrizoato de Meglumina es 1-Deoxi-1-(metilamino)-D-glucitol 3,5-bis(acetil amino)-2,4,6-triiodobenzoato. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{11}H_9I_3N_2O_4 \cdot C_7H_{17}NO_5$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco, inodoro. Fácilmente soluble en agua.

Sustancias de referencia - Ácido Diatrizoico SR-FA. Impureza A de Ácido Diatrizoico SR-FA: Ácido 3-acetamido-5-amino-2,4,6-triiodobenzoico.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol e hidróxido de amonio (20:10:2).

Diluyente - Solución de hidróxido de sodio en metanol (0,8 en 1.000).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Ácido Diatrizoico SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml.

Solución muestra - Disolver una cantidad exactamente pesada de Diatrizoato de Meglumina en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres

cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución estándar*.

B - Calentar aproximadamente 500 mg de Diatrizoato de Meglumina en un crisol: se deben producir vapores de color violeta.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre $-5,65^\circ$ y $-6,37^\circ$.

Solución muestra: 100 mg por ml, en agua.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Iodo y yoduro

Solución muestra - Transferir 2,0 g de Diatrizoato de Meglumina a un tubo de centrifuga de 50 ml con tapa, diluir con agua a 24 ml y agitar para disolver.

Procedimiento - Agregar a la *Solución muestra* 5 ml de tolueno y 5 ml de ácido sulfúrico 2 N, agitar y centrifugar: la fase orgánica no debe adquirir color rojo. Agregar 1 ml de solución de nitrito de sodio 1 en 50, agitar y centrifugar: el color rojo producido en la fase orgánica no debe ser más intenso que el obtenido cuando se sustituye la *Solución muestra* por una mezcla de 2,0 ml de solución de yoduro de potasio 1 en 4.000 y 22 ml de agua (0,02 % de yoduro).

Límite de metales pesados <590>

Solución estándar - Transferir 2,0 ml de *Solución estándar de plomo (10 ppm)* a un tubo de Nessler de 50 ml, agregar 5 ml de hidróxido de sodio 1 N, diluir con agua a 40 ml y mezclar.

Solución muestra - Disolver 1,0 g de Diatrizoato de Meglumina en 20 ml de agua y 5 ml de hidróxido de sodio 1 N. Transferir esta solución a un tubo de Nessler de 50 ml, diluir con agua a 40 ml y mezclar.

Procedimiento - Agregar 10 ml de sulfuro de sodio (SR) a cada uno de los tubos que contienen la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, mezclar, dejar reposar durante 5 minutos y observar longitudinalmente sobre una superficie blanca: el color de la *Solución muestra* no debe ser más oscuro que el de la *Solución estándar* (0,002 %).

Aminas aromáticas libres

Solución estándar - Disolver una cantidad de Impureza A de Ácido Diatrizoico SR-FA en hidróxido de sodio 0,1 N, empleando 0,2 ml de hidróxido de sodio 0,1 N por cada 5,0 mg de Impureza A de Ácido Diatrizoico SR-FA. Diluir con

agua para obtener una solución de aproximadamente 500 µg por ml. Transferir 1,0 ml de esta solución, 4 ml de agua y 10 ml de hidróxido de sodio 0,1 N a un matraz aforado de 50 ml.

Solución muestra - Transferir 1,0 g de Diatrizoato de Meglumina a un matraz aforado de 50 ml y agregar 5 ml de agua y 10 ml de hidróxido de sodio 0,1 N.

Blanco - Transferir 5 ml de agua y 10 ml de hidróxido de sodio 0,1 N a un matraz aforado de 50 ml.

Procedimiento - Tratar cada matraz de la siguiente manera. Agregar 25 ml de dimetilsulfóxido, tapar y mezclar suavemente por rotación, sin emulsionar. Enfriar en un baño de hielo en la oscuridad durante 5 minutos. [NOTA: realizar el ensayo en la oscuridad durante el máximo tiempo posible hasta que se hayan agregado todos los reactivos]. Agregar lentamente 2 ml de ácido clorhídrico, mezclar y dejar reposar durante 5 minutos. Agregar 2 ml de solución de nitrito de sodio 1 en 50, mezclar y dejar reposar durante 5 minutos. Agregar 1 ml de solución de ácido sulfámico 2 en 25, agitar y dejar reposar durante 5 minutos. [Precaución: se produce una presión considerable]. Agregar 2 ml de una solución 1 en 1.000 de diclorhidrato de N-(1-naftil)etilendiamina en propilenglicol diluido (7 en 10) y mezclar. Retirar los matraces del baño de hielo y de la oscuridad y dejar reposar en un baño de agua a una temperatura entre 22 y 25 °C durante 10 minutos. Agitar suavemente y ocasionalmente durante este periodo, aflojando el tapón para equilibrar la presión. Completar a volumen con agua y mezclar. Dentro de los 5 minutos posteriores determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y la *Solución estándar* en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 465 nm, con un espectrofotómetro, contra el *Blanco*. La absorbancia de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la de la *Solución estándar* (0,05 %).

Pérdida por secado <680>

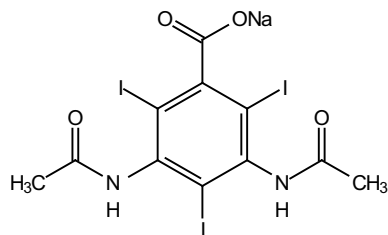
Secar a 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 400 mg de Diatrizoato de Meglumina, transferir a un erlenmeyer de 125 ml con tapón de vidrio, agregar 30 ml de hidróxido de sodio 1,25 N y 500 mg de polvo de cinc. Conectar el erlenmeyer a un refrigerante y calentar la mezcla a reflujo durante 1 hora. Enfriar el erlenmeyer a temperatura ambiente, lavar el refrigerante con 20 ml de agua, desconectar el erlenmeyer del refrigerante y filtrar la mezcla. En-

juagar el erlenmeyer y el filtro, agregando los lavados al filtrado. Agregar 5 ml de ácido acético glacial y 1 ml de tetrabromofenoltaleinato de etilo (SR) y titular con nitrato de plata 0,05 N (SV) hasta que el precipitado amarillo cambie a color verde. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de nitrato de plata 0,05 N equivale a 13,49 mg de $C_{11}H_9I_3N_2O_4 \cdot C_7H_{17}NO_5$.

DIATRIZOATO DE SODIO



$C_{11}H_8I_3N_2NaO_4$
737-31-5

PM: 635,9

Sinonimia - Amidotrizoato de Sodio.

Definición - Diatrizoato de Sodio es la Sal monosódica del ácido 3,5-bis(acetilamino)-2,4,6-triidobenzoico. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{11}H_8I_3N_2NaO_4$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco, inodoro. Soluble en agua; poco soluble en alcohol; prácticamente insoluble en acetona y éter.

Sustancias de referencia - Ácido Diatrizoico SR-FA. Impureza A de Ácido Diatrizoico SR-FA: Ácido 3-acetamido-5-amino-2,4,6-triidobenzoico.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria, Fase móvil, Diluyente, Solución de estándar y Procedimiento - Proceder según se indica en *Identificación A* para *Diatrizoato de Meglumina*.

Solución muestra - Disolver una cantidad de Diatrizoato de Sodio en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml.

B - Proceder según se indica en *Identificación B* para *Diatrizoato de Meglumina*.

C - Debe responder al ensayo de la llama para *Sodio* <410>.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 10,0 %.

Aminas aromáticas libres

Solución estándar y Blanco - Proceder según se indica en *Aminas aromáticas libres* para *Diatrizoato de Meglumina*.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Diatrizoato de Sodio, transferir a un matraz aforado de 50 ml y agregar 5 ml de agua y 10 ml de hidróxido de sodio 0,1 N.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento para Aminas aromáticas libres* en *Diatrizoato de meglumina*.

Iodo y yoduro

Solución muestra - Transferir 2,0 g de Diatrizoato de Sodio a un tubo de centrifuga de 50 ml con tapón, diluir con agua a 24 ml y agitar para disolver.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en para Iodo y yoduro* en *Diatrizoato de Meglumina*.

Límite de metales pesados <590>

No más de 0,002 %.

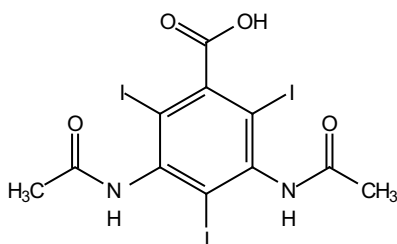
Solución estándar y Procedimiento - Proceder según se indica en *Límites de metales pesados* en *Diatrizoato de Meglumina*.

Solución muestra - Disolver 1,0 g de Diatrizoato de Sodio en 20 ml de agua y 5 ml de hidróxido de sodio 1 N, transferir la solución a un tubo de Nessler de 50 ml, diluir a 40 ml con agua y mezclar.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 300 mg de Diatrizoato de Sodio y proceder según se indica para *Diatrizoato de Meglumina* comenzando donde dice "*transferir a un erlenmeyer de 125 ml...*". Cada ml de nitrato de plata 0,05 N equivale a 10,60 mg de $C_{11}H_8I_3N_2NaO_4$.

DIATRIZOICO, ÁCIDO



$C_{11}H_9I_3N_2O_4$ PM: 613,9
117-96-5

Dihidrato PM: 650,0
50978-11-5

Sinonimia - Ácido Amidotrizoico.

Definición - Ácido Diatrizoico es el Ácido 3,5-bis(acetilamino)-2,4,6-triiodobenzoico. Puede ser anhídrido o contener dos moléculas de agua de hidratación. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{11}H_9I_3N_2O_4$, calculado sobre la sustancia anhídrida y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco, inodoro. Soluble en dimetilformamida y en soluciones de hidróxidos alcalinos; muy poco soluble en agua y en alcohol.

Sustancias de referencia - Ácido Diatrizoico SR-FA. Impureza A de Ácido Diatrizoico SR-FA: Ácido 3-acetamido-5-amino-2,4,6-triiodobenzoico.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria, Fase móvil, Diluyente, Solución de estándar y Procedimiento - Proceder según se indica en *Identificación A* para *Diatrizoato de Meglumina*.

Solución muestra - Disolver una cantidad de Ácido Diatrizoico en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml.

B - Proceder según se indica en *Identificación B* para *Diatrizoato de Meglumina*.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 1,0 % para la sustancia anhídrida y entre 4,5 y 7,0 % para la sustancia dihidratada.

Aminas aromáticas libres

Solución estándar y Blanco - Proceder según se indica en *Aminas aromáticas libres* para *Diatrizoato de Meglumina*.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Ácido Diatrizoico, transferir a un matraz aforado de 50 ml y agregar 12,5 ml de agua y 2,5 ml de hidróxido de sodio 0,1 N.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento para Aminas aromáticas libres* en *Diatrizoato de meglumina*.

Iodo y yoduro

Solución muestra - Suspender 10,0 g de Ácido Diatrizoico en 10 ml de agua y agregar en pequeñas porciones, agitando, 1,5 ml de una solución de hidróxido de sodio (2 en 5). Cuando la disolución sea completa, ajustar a pH entre 7,0 y 7,5 con una solución de hidróxido de sodio (1 en 125) o ácido clorhídrico y diluir a 20 ml con agua.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en para Iodo y yoduro en Diatrizoato de Meglumina*.

Límite de metales pesados <590>

No más de 0,002 %.

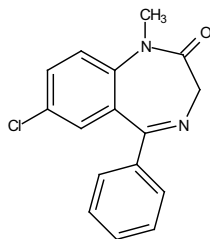
Solución estándar y Procedimiento - Proceder según se indica en *Límites de metales pesados* en *Diatrizoato de Meglumina*.

Solución muestra - Transferir 2,0 ml de una solución preparada según se indica en *Solución muestra* en *Iodo y yoduro* a un tubo de Nessler de 50 ml, agregar 5 ml de hidróxido de sodio 1 N, diluir a 40 ml con agua y mezclar.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 300 mg de Ácido Diatrizoico y proceder según se indica para *Diatrizoato de Meglumina* comenzando donde dice "transferir a un erlenmeyer de 125 ml...". Cada ml de nitrato de plata 0,05 N equivale a 10,23 mg de $C_{11}H_9I_3N_2O_4$.

DIAZEPAM



$C_{16}H_{13}ClN_2O$ PM: 284,7 439-14-5

Definición - Diazepam es 7-Cloro-1,3-dihidro-1-metil-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepin-2-ona. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{16}H_{13}ClN_2O$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino casi blanco o amarillo, prácticamente inodoro. Fácilmente soluble en cloroformo; soluble en alcohol; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Diazepam SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo y *n*-heptano (1:1).

Solución estándar - Preparar una solución de Diazepam SR-FA en acetona con una concentración de aproximadamente 5 mg por ml.

Solución muestra - Preparar una solución de Diazepam en acetona con una concentración de aproximadamente 5 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas, en una cámara no saturada, hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar evaporar el solvente. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal en el

cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución estándar*.

Determinación del punto de fusión <260>

Método I. Entre 131 y 135 °C.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Sustancias relacionadas y productos de descomposición

Fase estacionaria - Proceder según se indica en *Ensayo B* en *Identificación*.

Fase móvil - Acetato de etilo y hexano (1:1).

Solución muestra - Disolver 1 g de Diazepam en acetona y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar - Diluir 1 ml de la *Solución muestra* a 100 ml con acetona. Diluir 1 ml de esta solución a 10 ml con el mismo solvente.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 μ l de la *Solución muestra* y 5 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: a excepción de la mancha principal, ninguna mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser más intensa que la mancha obtenida con la *Solución estándar* (0,1 %).

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío sobre pentóxido de fósforo a 60 °C durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

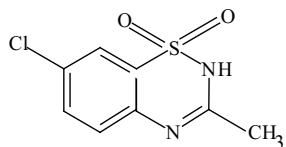
Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Diazepam y disolver en 50 ml de anhídrido acético. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) empleando 0,3 ml de azul nilo (SR) como indicador hasta punto final verde-amarillento. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 28,47 mg de $C_{16}H_{13}ClN_2O$.

DIAZÓXIDO



$C_8H_7ClN_2O_2S$ PM: 230,7 364-98-7

Definición - Diazóxido es 7-Cloro-3-metil-2H-1,2,4-benzotriazinina, 1,1-dióxido. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_8H_7ClN_2O_2S$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo fino o cristalino, blanco o casi blanco. Muy soluble en soluciones diluidas de hidróxidos alcalinos; fácilmente soluble en dimetilformamida; poco soluble en alcohol; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Diazóxido SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados. Almacenar a 25 °C

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*.

B - Absorción ultravioleta <470>. Disolver 50 mg de Diazóxido en 5 ml de hidróxido de sodio 1 N y diluir a 50,0 ml con agua. Transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con hidróxido de sodio 0,1 N. Examinar entre 230 y 350 nm: esta solución debe presentar un máximo a 280 nm y un hombro a 304 nm. El coeficiente de extinción específica $E(1\%, 1\text{cm})$ a 280 nm, debe estar comprendido entre 570 y 610.

C - Examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm los cromatogramas obtenidos en *Pureza cromatográfica*. La mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra B* se debe corresponder en valor de R_f y tamaño con la mancha principal obtenida con las *Solución estándar B*.

Acidez o alcalinidad

A 500 mg de Diazóxido agregar 30 ml de agua libre de dióxido de carbono, agitar durante 2 minutos y filtrar. A 10 ml del filtrado agregar 0,2 ml de hidróxido de sodio 0,01 N y 0,15 ml de rojo de metilo (SR1); la solución debe desarrollar color amarillo y no deben requerirse más de 0,4 ml de

ácido clorhídrico 0,01 N para que el color del indicador cambie a rojo.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol y amoníaco concentrado (68:25:7).

Diluyente - Metanol e hidróxido de sodio 1 N (9:1).

Solución muestra A - Disolver 100 mg de Diazóxido en una mezcla de 0,5 ml de hidróxido de sodio 1 N y 1 ml de metanol y diluir a 5,0 ml con metanol.

Solución muestra B - Diluir 1,0 ml de la *Solución muestra A* a 5 ml con *Diluyente*.

Solución estándar A - Diluir 0,5 ml de *Solución muestra A* a 100 ml con *Diluyente*.

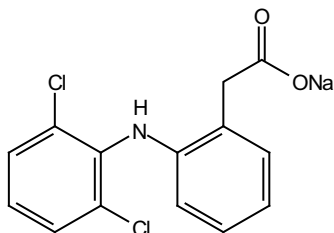
Solución estándar B - Disolver 20 mg de Diazóxido SR-FA en una mezcla de 0,5 ml de hidróxido de sodio 1 N y 1 ml de metanol y diluir a 5,0 ml con metanol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 μl de las *Soluciones estándar A* y *B* y 5 μl de las *Soluciones muestra A* y *B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Examinar la placa bajo luz ultravioleta, a 254 nm: a excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra A* ninguna mancha debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar A* (0,5 %).

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Diazóxido y disolver, calentando levemente, en 50 ml de una mezcla de dimetilformamida y agua (2:1). Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 23,07 mg de $C_8H_7ClN_2O_2S$.

DICLOFENACO SÓDICO



$C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$ PM: 318,1 15307-79-6

Sinonimia - Diclofenac Sódico.

Definición - Diclofenaco Sódico es Acetato sódico de *o*-(2,6-dicloroanilino)fenil. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o ligeramente amarillento; moderadamente higroscópico. Funde aproximadamente a 280 °C con descomposición. Fácilmente soluble en metanol; soluble en alcohol; moderadamente soluble en agua; prácticamente insoluble en cloroformo y éter.

Sustancias de referencia - Diclofenaco Sódico SR-FA. Impureza A de Diclofenaco SR-FA: *N*-(2,6-diclorofenil)indolin-2-ona.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Pureza cromatográfica*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución de resolución*.

C - El residuo obtenido por ignición debe responder al ensayo a la llama para *Sodio* <410>.

Color de la solución

Una solución en metanol 1 en 20 es incolora o de color amarillo pálido. La absorbancia de esta solución, determinada en una celda de 1 cm a 440 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando metanol como blanco: no debe ser mayor de 0,050.

Transparencia de la solución

La solución preparada según se indica en *Color de la solución* no debe ser menos transparente que un volumen igual de metanol contenido en un recipiente similar y examinado de la misma manera.

Determinación del pH <250>

Entre 7,0 y 8,5, determinado sobre una solución al 1 %.

Pérdida por secado <680>

Secar entre 105 y 110 °C durante 3 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Límite de metales pesados <590>

Método II. Para preparar la *Solución muestra* emplear un vaso de precipitados de vidrio al borosilicato de 100 ml o un crisol de cuarzo. Si el residuo no fuera completamente blanco después de la ignición entre 500 y 600 °C, agregar suficiente peróxido de hidrógeno para disolver, calentar suavemente hasta secar y someter a ignición durante 1 hora. Repetir el procedimiento hasta que el residuo sea completamente blanco. Proceder según se indica en *Solución muestra*, comenzando donde dice "*Enfriar, agregar 4 ml de ácido clorhídrico 6 N...*" (0,001 %).

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución reguladora de fosfato pH 2,5 - Transferir 1,38 g de fosfato monobásico de sodio a un matraz aforado de 1 litro y disolver en aproximadamente 800 ml de agua. Ajustar a pH 2,5 con ácido fosfórico, completar a volumen con agua y mezclar.

Fase móvil - Metanol y *Solución reguladora de fosfato de pH 2,5* (70:30). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*). [NOTA: el aumento de la proporción de la solución reguladora incrementa la resolución].

Diluyente - Metanol y agua (70:30).

Solución estándar - Preparar una solución de Impureza A de Diclofenaco SR-FA en metanol de aproximadamente 0,75 mg por ml. Diluir un volumen exactamente medido de esta solución con *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 1,5 µg por ml.

Solución de resolución - Preparar una solución en *Diluyente*, que contenga aproximadamente 20 µg de ftalato de dietilo por ml, 7,5 µg de Impureza A de Diclofenaco SR-FA por ml y 0,75 mg de Diclofenaco Sódico SR-FA por ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 75 mg de Diclofenaco Sódico, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,5 para el ftalato de dietilo, 0,6 para la impureza A de diclofenaco y 1,0 para el diclofenaco; la resolución *R* entre los picos de ftalato de dietilo e impureza A de diclofenaco no debe ser menor de 2,2 y entre los picos de impureza A de diclofenaco y diclofenaco no debe ser menor de 6,5. Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 5 %.

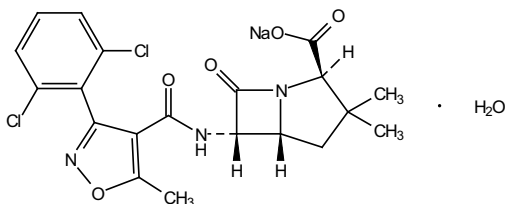
Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos durante 2,5 veces el tiempo de retención del diclofenaco. Calcular el porcentaje de impureza A de diclofenaco en la porción de Diclofenaco Sódico en ensayo, relacionando las respuestas de los picos de impureza A de diclofenaco obtenidos a partir de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. No debe contener más de 0,2 %.

Calcular el porcentaje de cada impureza individual en la porción de Diclofenaco Sódico en ensayo, relacionando las respuestas de los picos de cada impureza obtenidos con la *Solución muestra* y la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar*. No debe contener más de 0,2 % de cualquier impureza individual y la suma de todas las impurezas no debe ser mayor de 0,5 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 450 mg de Diclofenaco Sódico, disolver en 25 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 31,81 mg de $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$.

DICLOXACILINA SÓDICA



$C_{19}H_{16}Cl_2N_3NaO_5S \cdot H_2O$

PM: 510,3 13412-64-1

Anhidro PM: 492,3 343-55-5

Definición - Dicloxacilina sódica es la Sal sódica del ácido [2*S*-(2 α ,5 α ,6 β)]-6-[[[3-(2,6-diclorofenil)-5-metil-4-isoxazolil]carbonil]amino] - 3,3-dimetil-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]heptano-2-carboxílico. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{19}H_{16}Cl_2N_3NaO_5S$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Higroscópico. Fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol y metanol.

Sustancia de referencia - Dicloxacilina Sódica SR-FA. Flucloxacilina Sódica SR-FA

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Someter a ignición aproximadamente 100 mg de Dicloxacilina Sódica: una solución 1 en 20 del residuo en ácido acético debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

Cristalinidad

Colocar partículas de Dicloxacilina Sódica en aceite mineral, sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas deben presentar birrefringencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre 128° y 143°, respecto a la sustancia anhidra.

Solución muestra: 10 mg por ml.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 7,5; determinado sobre una solución de aproximadamente 10 mg por ml.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 3,0 y 5,0 %.

Transparencia de la solución

Disolver 2,5 g de Dicloxacilina Sódica en 25 ml de agua libre de dióxido de carbono: la solución debe ser transparente y su absorbancia, determinada a 430 nm, no debe ser mayor de 0,04.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Diluyente, Fase móvil y Preparación muestra B - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra A*.

Solución estándar - Transferir 5 ml de la *Preparación muestra B* a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: ajustar los parámetros operativos de modo tal que el pico principal obtenido a partir de la *Solución estándar* sea aproximadamente el 50 % de la escala completa del registrador.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas durante cinco veces el tiempo de retención del pico principal de la *Solución muestra* y medir las respuestas de todos los picos: a excepción del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta de ningún pico debe ser mayor que la del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (1 %); a excepción del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la suma de todos los picos no debe ser mayor que cinco veces el pico principal obtenido con la *Solución estándar* (5 %). Descartar cualquier pico con una respuesta menor de 0,05 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar*.

Límite de dimetilanilina <570>

Debe cumplir con los requisitos del ensayo.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando Dicloxacilina Sódica esté destinada a la preparación de formas farmacéuticas inyectables, debe cumplir con los requisitos del ensayo.

Ensayo de piretógenos <340>

Cuando Dicloxacilina Sódica esté destinada a la preparación de formas farmacéuticas inyectables, debe cumplir con los requisitos del ensayo. Inyectar a cada conejo 1 ml de una solución de aproximadamente 20 mg de Dicloxacilina Sódica por ml en *Agua para inyectables*, por kilogramo de peso corporal.

VALORACION

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 225 nm y una columna de 25 cm × 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1 ml por minuto.

Diluyente - Disolver 2,7 g de fosfato monobásico de potasio en agua, diluir a 1 litro con el mismo solvente y ajustar a pH 5,0 con una solución de hidróxido de sodio al 8,5 %.

Fase móvil - *Diluyente* y acetonitrilo (75:25). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar A - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Dicloxacilina Sódica SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en *Fase móvil* y completar a volumen con *Fase móvil*. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Preparación estándar B - Pesar exactamente alrededor de 5 mg de Dicloxacilina Sódica SR-FA y 5 mg de Flucloxacilina Sódica SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en *Fase móvil*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Preparación muestra A - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Dicloxacilina Sódica, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver con *Fase Móvil*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Preparación muestra B - Transferir 5 ml de la *Preparación muestra A* a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar B* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de flucloxacilina y dicloxacilina no debe ser menor de 2,5. Cromatografiar la *Preparación estándar A* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

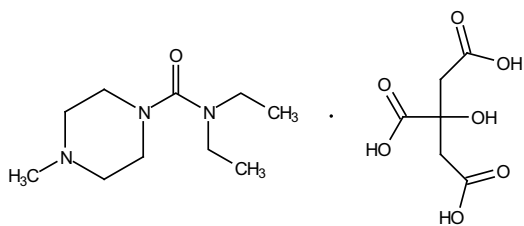
Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente

20 µl) de la *Preparación estándar A* y la *Preparación muestra B*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales: el tiempo de retención para el pico de dicloxacilina debe ser aproximadamente 10 minutos. Calcular la cantidad de $C_{19}H_{16}Cl_2N_3NaO_5S$ en la porción Dicloxacilina Sódica en ensayo.

ROTULADO

Cuando la Dicloxacilina Sódica esté destinada a la preparación de formas farmacéuticas inyectables, indicar en el rótulo que es estéril y apirógena.

DIETILCARBAMAZINA, CITRATO DE



$C_{10}H_{21}N_3O \cdot C_6H_8O_7$ PM: 391,4 1642-54-2

Definición - Citrato de Dietilcarbamazina es Citrato de *N,N*-dietil-4-metil-1-piperazinacarboxamida. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_{10}H_{21}N_3O \cdot C_6H_8O_7$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco. Ligeramente higroscópico. Funde aproximadamente a 136 °C, con descomposición. Muy soluble en agua; moderadamente soluble en alcohol; prácticamente insoluble en acetona, cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Citrato de Dietilcarbamazina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe cumplir con los requisitos según se indica en 490. *Identificación de bases orgánicas nitrogenadas*.

B - Una solución de Citrato de Dietilcarbamazina debe responder al ensayo para *Citrato* <410>.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,5 %.

Determinación de residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Disolver 1,0 g de Citrato de Dietilcarbamazina en 20 ml de agua. Agregar 1 ml de ácido clorhídrico 0,1 N, diluir con agua a 25 ml y mezclar: no más de 0,002 %.

Impurezas comunes <510>

Solución muestra y Solución estándar: emplear metanol como solvente.

Fase móvil: metanol e hidróxido de amonio (100:1,5).

Revelador: 16.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución reguladora de fosfato y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Preparar una solución de Citrato de Dietilcarbamazina SR-FA en *Solución reguladora de fosfato* de aproximadamente 0,003 mg por ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 300 mg de Citrato de Dietilcarbamazina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 100 ml de *Solución reguladora de fosfato* y mezclar. Filtrar o centrifugar y emplear el filtrado o el sobrenadante, respectivamente.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Citrato de Dietilcarbamazina en ensayo, relacionando las respuestas de los picos de cada impureza en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* y la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar*. No debe contener más de 0,1 % de cualquier impureza individual.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 220 nm y una columna de 15 cm \times 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 0,8 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 10 g de fosfato monobásico de potasio en 1 litro de agua. Filtrar y desgasificar una mezcla de 900 ml de esta solución y 100 ml de metanol. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución reguladora de fosfato - Disolver 31,24 g de fosfato monobásico de potasio en 1 litro de agua.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 5 mg de Citrato de Dietilcarbamazina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver, completar a volumen con *Solución reguladora de fosfato* y mezclar.

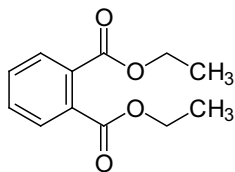
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 5 mg de Citrato de Dietilcarbamazina, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver,

completar a volumen con *Solución reguladora de fosfato* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{10}H_{21}N_3O \cdot C_6H_8O_7$ en la porción de Citrato de Dietilcarbamazina en ensayo.

DIETILO, FTALATO DE



$C_{12}H_{14}O_4$

PM: 222,2

84-66-2

Definición - Ftalato de Dietilo es el Éster dietílico de ácido 1,2-benzenodicarboxílico. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{12}H_{14}O_4$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido oleoso, incoloro. Miscible en alcohol, éter y otros solventes orgánicos. Insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Ftalato de Dietilo SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Precaución - Evitar el contacto.

Identificación

Absorción Infrarroja <460>. *En fase sólida.*

[NOTA: no secar].

Determinación de la densidad relativa <160>

Debe estar comprendida entre 1,118 y 1,122.

Determinación del índice de refracción <230>

Debe estar comprendido entre 1,500 y 1,505, determinado a 20 °C.

Acidez

A 50 ml de alcohol previamente neutralizado con fenolftaleína (SR), agregar 20 g de Ftalato de Dietilo y mezclar. Agregar unas gotas de fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N: no se deben consumir más de 0,50 ml para su neutralización.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,2 %.

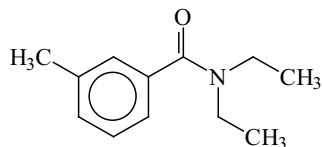
Determinación del residuo de ignición <270>

Pesar exactamente alrededor de 10 g de Ftalato de Dietilo, transferir a un recipiente apropiado y calentar hasta evaporación. Someter el residuo obtenido a ignición hasta peso constante: el peso obtenido no debe ser mayor de 0,02 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 1,5 g de Ftalato de Dietilo, transferir a un erlenmeyer y agregar 50 ml de hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N (SV) y calentar a reflujo en un baño de agua durante 1 hora. Agregar 20 ml de agua y unas gotas de fenolftaleína (SR) y titular el exceso de hidróxido de potasio con ácido clorhídrico 0,5 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver *Titulaciones residuales* en 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de potasio 0,5 N equivale a 55,56 mg de $C_{12}H_{14}O_4$.

DIETILTOLUAMIDA



$C_{12}H_{17}NO$ PM: 191,3 134-62-3

Definición - Dietiltoluamida es *N,N*-Diethyl-3-metilbenzamida. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento del isómero *meta* de $C_{12}H_{17}NO$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido incoloro, con olor levemente agradable. Hierve a 111 °C bajo una presión de 1 mm Hg. Miscible con alcohol, cloroforno, disulfuro de carbono, éter e isopropanol. Prácticamente insoluble en agua y glicerina.

Sustancia de referencia - Dietiltoluamida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En solución*. Emplear la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* preparadas en *Valoración* y registrar los espectros entre 8 y 15 μm .

Determinación de la densidad relativa <160>
Entre 0,996 y 1,002.

Determinación del índice de refracción <230>
Entre 1,520 y 1,524.

Acidez

Disolver 10,0 g de Dietiltoluamida en 50 ml de alcohol neutralizado, titular con hidróxido de sodio 0,01 N (SV), empleando fenolftaleína (SR) como indicador: no deben consumirse más de 4,0 ml de hidróxido de sodio 0,01 N.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,5 %.

VALORACIÓN

Preparación estándar - Preparar una solución en disulfuro de carbono que contenga 20 mg de Dietiltoluamida SR-FA por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor 200 g de Dietiltoluamida, transferir a un

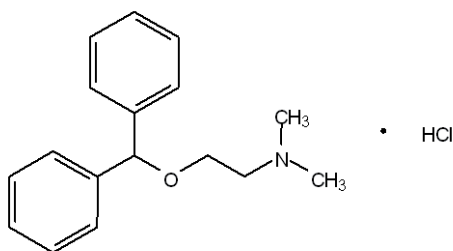
matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con disulfuro de carbono y mezclar.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, en celdas de 1 mm, empleando un espectrofotómetro infrarrojo, al máximo de absorción de aproximadamente 14,1 μm y al mínimo de absorción de aproximadamente 14,4 μm , empleando disulfuro de carbono como blanco. Calcular la cantidad en mg del isómero *meta* de $C_{12}H_{17}NO$ en la porción de Dietiltoluamida en ensayo por la fórmula siguiente:

$$10C(A_{M14,1} - A_{M14,4}) / (A_{E14,1} - A_{E14,4})$$

en la cual *C* es la concentración en mg por ml de Dietiltoluamida SR-FA en la *Preparación estándar*, y A_M y A_E son las absorbancias de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* respectivamente a las longitudes de onda indicadas.

DIFENHIDRAMINA, CLORHIDRATO DE



$C_{17}H_{21}NO \cdot HCl$ PM: 291,8 147-24-0

Definición - Clorhidrato de Difenhidramina es Clorhidrato de 2-(difenilmetoxi)-*N,N*-dimetiletanamina. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{17}H_{21}NO \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco. Inodoro. Se oscurece lentamente por exposición a la luz. Fácilmente soluble en agua, alcohol y cloroformo; moderadamente soluble en acetona; muy poco soluble en éter.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Difenhidramina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Cumple con los requisitos de <490>. *Identificación de bases orgánicas nitrogenadas*.

B - Debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 167 y 172 °C.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

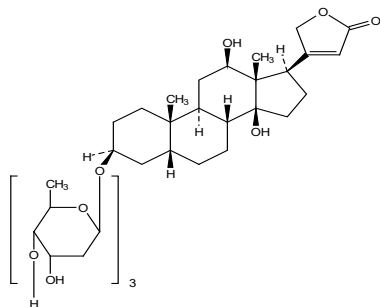
Método I.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Clorhidrato de Difenhidramina, disolver en 50 ml de alcohol, agregar 5 ml de ácido clorhídrico 0,01 N (SV) y mezclar. Titular con hidróxido de

sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente (ver 780. *Volumetría*). Leer el volumen agregado entre los dos puntos de inflexión. Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 29,18 mg de $C_{17}H_{21}NO \cdot HCl$.

DIGOXINA



C₄₁H₆₄O₁₄

PM: 780,9

20830-75-5

Definición - Digoxina es (3 β ,5 β ,12 β)-3-[(*O*-2,6-Dideoxi- β -*D*-ribo-hexopiranosil-(1 \rightarrow 4)-*O*-2,6-dideoxi- β -*D*-ribo-hexopiranosil(1 \rightarrow 4)-2,6-dideoxi- β -*D*-ribo-hexopiranosil)oxi]-12,14-dihidroxicard-20(22)-enólido. Es un glucósido cardiotónico obtenido a partir de las hojas de *Digitalis lanata* Ehrhart (Scrophulariaceae). Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de C₄₁H₆₄O₁₄, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino o cristales blancos o transparentes. Inodoro. Fácilmente soluble en piridina; poco soluble en alcohol diluido y cloroformo; prácticamente insoluble en agua y éter.

Presenta polimorfismo.

Sustancias de referencia - Digoxina SR-FA.
Gitoxina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Precaución - Manipular con sumo cuidado dado que la Digoxina es sumamente venenosa.

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. En fase sólida.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

C - Examinar bajo luz visible los cromatogramas obtenidos en *Glucósidos relacionados*: el valor de *R_f* de la mancha principal azul en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe ser corresponder con el obtenido con la *Solución estándar*.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,5 %, determinado sobre 100 mg.

Glucósidos relacionados

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada de fase reversa (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice octadecilsilanizado para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Metanol y agua (7:3).

Reactivo de cloramina T y ácido tricloroacético - Mezclar 10 ml de una solución recientemente preparada de cloramina T al 3 % y 40 ml de una solución de ácido tricloroacético (1 en 4) en alcohol absoluto.

Diluyente - Cloroformo y metanol (2:1).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Digoxina SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 10 mg por ml.

Solución estándar de gitoxina - Disolver una cantidad exactamente pesada de Gitoxina SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,30 mg por ml.

Solución muestra - Transferir 250,0 mg de Digoxina a un matraz aforado de 25 ml, disolver con *Diluyente*, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra*, 10 μ l de la *Solución estándar* y 10 μ l de la *Solución estándar de gitoxina*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar evaporar el solvente. Pulverizar sobre la placa con *Reactivo de cloramina T y ácido tricloroacético* recientemente preparado y calentar en estufa a 110 °C durante 10 minutos. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 366 nm: a excepción de la mancha principal, ninguna mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser más intensa que la mancha obtenida con la *Solución estándar de gitoxina* (no más de 3 % de cualquier glucósido relacionado, calculado como gitoxina).

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 105 °C durante 1 hora: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 218 nm y una columna de 25 cm \times 4,2 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas

porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro y un guardacolumna de 1,5 cm \times 3,2 mm de igual fase estacionaria. El caudal debe ser aproximadamente 3,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua y acetonitrilo (37:13). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Digoxina SR-FA en alcohol diluido y diluir cuantitativamente y en etapas con alcohol diluido para obtener una solución de aproximadamente 250 μg por ml. Emplear un baño de ultrasonido para favorecer la disolución.

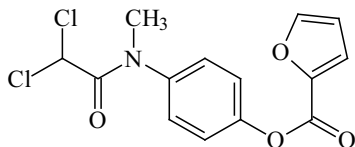
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Digoxina y transferir a un matraz aforado de 200 ml. Disolver por sonicación en aproximadamente 150 ml de alcohol diluido, completar a volumen con alcohol diluido y mezclar.

Solución de aptitud del sistema - Preparar una solución de Digoxina SR-FA y digoxigenina en alcohol diluido de aproximadamente 40 μg de cada una por ml.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna determinada a partir del pico de digoxina no debe ser menor de 1.200 platos teóricos; el factor de asimetría para el pico de digoxina no debe ser mayor de 2,0; la resolución R entre los picos de digoxina y digoxigenina no debe ser menor de 4,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $\text{C}_{41}\text{H}_{64}\text{O}_{14}$ en la porción de Digoxina en ensayo.

DILOXANIDA, FUROATO DE



$C_{14}H_{11}Cl_2NO_4$ PM: 328,2 3736-81-0

Definición - Furoato de Diloxanida es 2-Furoato de 2,2-Dicloro-*N*-(4-hidroxifenil)-*N*-metilacetamida. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{14}H_{11}Cl_2NO_4$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en cloroformo; poco soluble en alcohol y éter; muy poco soluble en agua.

Sustancia de referencia - Furoato de Diloxanida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>
Solvente: alcohol.

Concentración: 14 µg por ml.

La solución debe presentar un máximo a 258 nm.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 114 y 116 °C.

Acidez

Agitar 3 g de Furoato de Diloxanida con 50 ml de agua, filtrar y lavar el residuo con tres porciones de 20 ml de agua. Combinar el filtrado y los lavados y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), empleando fenoltaleína (SR) como indicador: no deben consumirse más de 1,3 ml de hidróxido de sodio 0,1 N.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en placa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Diclorometano y metanol (96:4).

Solución muestra - Disolver una cantidad de Furoato de Diloxanida en cloroformo para obtener una solución de aproximadamente 100 mg por ml.

Solución estándar - Transferir 0,5 ml de *Solución muestra* a un matraz aforado de 200 ml y completar a volumen con cloroformo.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de *Solución muestra* y 5 µl de *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Dejar secar y examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: ninguna mancha secundaria en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser mayor en tamaño o intensidad que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar*.

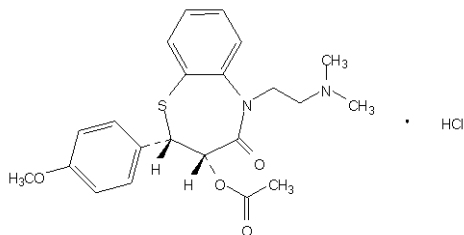
Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C hasta peso constante: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 300 mg de Furoato de Diloxanida, disolver en 50 ml piridina seca y titular con hidróxido de tetrabutilamonio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de tetrabutilamonio 0,1 N equivale a 32,82 mg de $C_{14}H_{11}Cl_2NO_4$.

DILTIAZEM, CLORHIDRATO DE



$C_{22}H_{26}N_2O_4S \cdot HCl$ PM: 451,0 33286-22-5

Definición - Clorhidrato de Diltiazem es Monoclorhidrato de (2*S*-*cis*)-3-(acetiloxi)-5-[2-(dimetilamino)etil]-2,3-dihidro-2-(4-metoxifenil)-1,5-benzotiazepin-4(5*H*)-ona. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{22}H_{26}N_2O_4S \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o cristales pequeños. Inodoro. Fácilmente soluble en ácido fórmico, agua, cloroformo y metanol; moderadamente soluble en alcohol absoluto; insoluble en éter. Funde aproximadamente a 210 °C, con descomposición.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Diltiazem SR-FA. Clorhidrato de Desacetil Diltiazem SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +110° y +116°

Solución muestra: 10 mg por ml, en agua.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

No más de 0,002 %..

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 240 nm y una columna de 30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,6 ml por minuto.

Solución reguladora - Disolver 1,16 g de ácido *d*-10-canforsulfónico en 1 litro de acetato de sodio 0,1 M; ajustar a pH 6,2 mediante el agregado de hidróxido de sodio 0,1 N y mezclar.

Fase móvil - Solución reguladora, acetonitrilo y metanol (50:25:25). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de aptitud del sistema - Preparar una solución de aproximadamente 0,012 mg de Clorhidrato de Diltiazem SR-FA y 0,012 mg de Clorhidrato de Desacetil Diltiazem SR-FA por ml de metanol, respectivamente.

Solución estándar - Preparar una solución de Clorhidrato de Diltiazem SR-FA en metanol de aproximadamente 1,2 mg por ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 60 mg de Clorhidrato de Diltiazem, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en metanol, completar a volumen con metanol y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,65 para desacetil diltiazem y 1,0 para diltiazem; la resolución *R* entre los picos de desacetil diltiazem y diltiazem no debe ser menor de 3,0. Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de clorhidrato de desacetil diltiazem en la porción de Clorhidrato de Diltiazem en ensayo, relacionando las respuestas de los picos de desacetil diltiazem obtenidos a partir de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. No debe contener más de 0,5 % de clorhidrato de desacetil diltiazem. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Clorhidrato de Diltiazem en ensayo, relacionando las respuestas de los picos de cada impureza obtenidos a partir de la *Solución muestra*

y la respuesta del pico de desacetil diltiazem en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar*. No debe contener más de 1,0 % de impurezas totales, incluyendo el clorhidrato de desacetil diltiazem, y ninguna impureza individual debe ser mayor de 0,5 %.

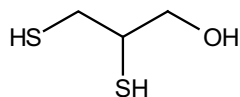
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 400 mg de Clorhidrato de Diltiazem, disolver en una mezcla de 2 ml de ácido fórmico anhidro y 60 ml de anhídrido acético. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 45,1 mg de $C_{22}H_{26}N_2O_4S$.

DIMERCAPROL



$C_3H_8OS_2$ PM: 124,2 59-52-9

Definición - Dimercaprol es 2,3-Dimercapto-1-propanol. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_3H_8OS_2$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido incoloro o prácticamente incoloro, con un suave olor a mercaptano. Soluble en agua, alcohol, benzoato de bencilo y metanol.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto, en un sitio frío.

ENSAYOS

Identificación

A - Disolver 0,1 ml de Dimercaprol en 5 ml de agua y agregar 2 ml de sulfato cúprico (SR): se debe formar un precipitado negro-azulado, el cual se debe tornar rápidamente gris oscuro.

B - Disolver 0,05 ml de Dimercaprol en 2 ml de agua. Agregar 1 ml de iodo 0,05 M: el color del iodo debe desaparecer inmediatamente.

Determinación de la densidad relativa <160>
Entre 1,242 y 1,244.

Determinación del intervalo de destilación <240>

Método I. Entre 66 y 68 °C, a una presión de 0,2 mm Hg.

Determinación del índice de refracción <230>
Entre 1,567 y 1,573.

Límite de 1,2,3-trimercaptopropano e impurezas relacionadas

Adsorbente - Emplear ácido silícico grado cromatográfico de malla 100.

Solución reguladora estándar - Preparar 100 ml de *Solución reguladora de fosfato de pH 6,0* (ver *Soluciones reguladoras en Reactivos y Soluciones*) y disolver en esta solución 100 mg de bisulfito de sodio.

Éter de petróleo lavado con ácido - Transferir 100 ml de éter de petróleo a una ampolla de decantación, agregar 10 ml de ácido sulfúrico, agitar durante no menos de 12 horas y dejar separar las fases. Transferir el solvente lavado con ácido a un

balón y destilar lentamente, reteniendo sólo la porción que destila entre 35 y 50 °C. Emplear sólo material recientemente destilado.

Éter diisopropílico - Transferir 100 ml de éter diisopropílico a un balón y destilar, reteniendo sólo la porción destilada entre 68 y 69 °C. Emplear sólo material recientemente destilado. [*Precaución - No evaporar totalmente el contenido del balón, ya que el éter diisopropílico tiende a formar peróxidos explosivos*].

Fase móvil - Mezclar 50 ml de *Éter diisopropílico* con 50 ml de *Éter de petróleo lavado con ácido*.

Tubo cromatográfico - Insertar un pequeño tapón de lana de vidrio en la unión entre el tubo y el vástago de un tubo cromatográfico de 60 cm × 13 mm.

Columna cromatográfica - Mezclar 20 g de *Adsorbente* con 20 ml de *Solución reguladora estándar*. Agregar 100 ml de cloroformo y mezclar hasta obtener una suspensión espesa. Transferir porciones sucesivas de la suspensión espesa al *Tubo cromatográfico*, empacando firmemente y en forma pareja después de cada agregado con un pisón de vidrio esmerilado, con un diámetro apenas inferior al diámetro interno de la columna. Mantener una capa de líquido encima de la columna rellena para impedir la formación de espacios de aire. Lavar la columna libre de cloroformo con *Fase móvil* y dejar que el solvente descienda hasta alcanzar el nivel del *Adsorbente*.

Procedimiento - Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Dimercaprol, libre de sulfuro de hidrógeno, según se indica en *Valoración*, transferir a un matraz aforado de 5 ml, agregar *Fase móvil* a volumen y mezclar. Transferir 2,0 ml de la solución resultante a la *Columna cromatográfica*. Cuando el líquido haya pasado a la columna, lavar las paredes del tubo con una porción de 2 ml de *Fase móvil* y dejar que el líquido descienda hasta alcanzar el nivel del *Adsorbente*. Llenar el *Tubo cromatográfico* con solvente y recolectar dos fracciones sucesivas: (A) una fracción de 20 ml que contenga todo el 1,2,3-trimercaptopropano y (B) una fracción de 3 ml que sirve como control de la separación. A cada fracción agregar un volumen igual de alcohol y titular con iodo 0,1 N (SV) hasta producir un color amarillo permanente (ver 780. *Volumetría*). Realizar una determinación con un blanco con 20 ml de *Fase móvil* que se ha pasado a través de la columna antes de la introducción de la muestra y hacer las correcciones necesarias. La fracción (B) no debe decolorar 1 gota de iodo 0,1 N (SV). Cada ml de iodo 0,1 N agregado equivale a 4,676 mg de $C_3H_8S_3$. No debe contener más de 1,5 % de 1,2,3-trimercaptopropano ($C_3H_8S_3$).

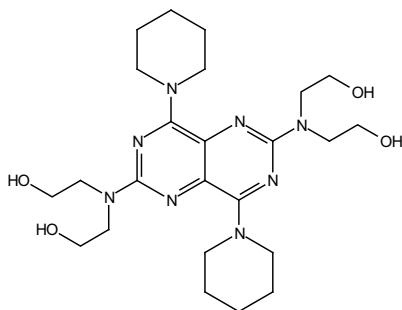
VALORACIÓN

Determinar la presencia de sulfuro de hidrógeno en el Dimercaprol, examinando un papel indicador de acetato de plomo humedecido que haya sido expuesto a los vapores de la muestra a valorar. Si el papel se oscurece, burbujear oxígeno o nitrógeno seco libre de dióxido de carbono a través de la muestra a valorar hasta que se observe una reacción negativa con una nueva tira de papel indicador. Transferir aproximadamente 2 ml de Dimercaprol libre de sulfuro de hidrógeno a un matraz aforado de 100 ml, previamente pesado, con tapón de vidrio. Pesar exactamente, completar a volumen con metanol y mezclar. Transferir 10 ml de esta solución a un erlenmeyer de 50 ml y titular con iodo 0,1 N (SV) hasta color amarillo permanente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Calcular el porcentaje de $C_3H_8OS_2$ en la porción de Dimercaprol, en ensayo por la fórmula siguiente:

$$0,6211V/P - 1,328T$$

en la cual V es el volumen en ml de iodo 0,1 N empleado, P es el peso en g de Dimercaprol en ensayo y T es el porcentaje de $C_3H_8S_3$ encontrado en la determinación del *Límite de 1,2,3-trimercaptopropano e impurezas relacionadas*.

DIPIRIDAMOL



$C_{24}H_{40}N_8O_4$

PM: 504,6

58-32-2

Definición - Dipiridamol es 2,2',2'',2'''-[(4,8-Di-1-piperidinilpirimido[5,4-*d*]pirimidina-2,6-diil)dinitrilo]tetraetanol. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,5 por ciento de $C_{24}H_{40}N_8O_4$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino o agujas amarillas. Muy soluble en metanol, etanol y cloroformo; poco soluble en agua; muy poco soluble en acetona y acetato de etilo.

Sustancia de referencia Dipiridamol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 162 y 168 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 2 °C.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 0,2 % de su peso.

Cloruro

Disolver 500 mg de Dipiridamol en 5 ml de alcohol y 2 ml de ácido nítrico 2 N y agregar 1 ml de nitrato de plata (SR): no se debe producir turbidez ni precipitado.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector

ultravioleta ajustado a 288 nm y una columna de 30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 250 mg de fosfato dibásico de sodio en 250 ml de agua y ajustar a pH 4,6 con ácido fosfórico diluido 1 en 3. Agregar 750 ml de metanol y mezclar. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Preparar una solución de Dipiridamol en metanol de aproximadamente 1 mg por ml.

Solución muestra diluida - Transferir 1,0 ml de la *Solución muestra* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar 10 μl de la *Solución muestra diluida*: ajustar los parámetros operativos de tal modo que la respuesta del pico principal sea aproximadamente el 5 % de la escala completa del registrador.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μl) de la *Solución muestra* y la *Solución muestra diluida*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos, siendo el tiempo de retención del pico principal aproximadamente 6,5 minutos: la suma de las respuestas de todos los picos secundarios en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución muestra diluida* (1,0 %).

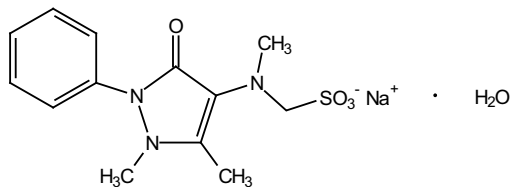
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 400 mg de Dipiridamol y disolver en 70 ml de metanol. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 50,46 mg de $C_{24}H_{40}N_8O_4$.

DIPIRONA



$C_{13}H_{16}N_3NaO_4S \cdot H_2O$ PM: 351,4 5907-38-0

Sinonimia - Metamizol.

Definición - Dipirona es la Sal sódica del ácido [(2,3-dihidro-1,5-dimetil-3-oxo-2-fenil-1H-pirazol-4-il)metilamino]metanosulfónico. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_{13}H_{16}N_3NaO_4S$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco; inodoro. Se colorea por exposición a la luz. Muy soluble en agua y metanol, soluble en alcohol; prácticamente insoluble en éter, acetona y cloroformo.

Sustancias de referencia - Dipirona SR-FA. Impureza A de Dipirona: (4-formilamino-1,5-dimetil-2-fenil-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-ona).

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Una solución de Dipirona debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

C - Disolver 50 mg de Dipirona en 1 ml de *Agua oxigenada concentrada*. Se debe producir un color azul que se decolora rápidamente y se torna rojo intenso en unos pocos minutos.

Transparencia de la solución

Disolver 1 g de Dipirona en 20 ml de agua: la solución debe ser transparente e inmediatamente después de su preparación no debe presentar una coloración más intensa que una solución preparada mezclando 5 ml de *Solución de comparación G* (ver 350. *Ensayo de sustancias fácilmente carbonizables*) con 95 ml de ácido clorhídrico 1 % p/v.

Acidez o alcalinidad

A una solución de 2,0 g de Dipirona en 40 ml de agua libre de dióxido de carbono, agregar 3 gotas de fenoltaleína (SR): no se debe producir color rosa-

do. No deben consumirse más de 0,1 ml de hidróxido de sodio 0,02 N para que el color de la solución cambie a rosado.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 4 horas: no debe perder menos de 4,9 % ni más de 5,3 % de su peso.

Sustancias relacionadas

[NOTA: preparar las soluciones inmediatamente antes de su uso].

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro, desactivada para bases o tratada con un procedimiento de recubrimiento exhaustivo. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución reguladora de pH 7,0 - A 500 ml de una solución de fosfato monobásico de sodio al 0,6 %, agregar 500 ml de trietilamina. Ajustar a pH 7,0 con hidróxido de sodio al 42 %.

Fase móvil - Solución reguladora de pH 7,0 y metanol (72:28). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Solución estándar A - Disolver 40 mg de Dipirona SR-FA en metanol y diluir a 20,0 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Impureza A de Dipirona SR-FA, transferir a un matraz aforado de 20 ml, disolver con metanol, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Solución estándar C - Transferir 1,0 ml de *Solución estándar B* a un matraz aforado de 20 ml y completar a volumen con metanol.

Solución de resolución A - Mezclar 6 ml de *Solución estándar B* con 1 ml de *Solución estándar A*.

Solución de resolución B - Calentar 10 ml de *Solución estándar A* a ebullición con refrigerante durante 10 minutos. Enfriar a temperatura ambiente y diluir a 20 ml con metanol.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Dipirona, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver con metanol y completar a volumen con el mismo solvente.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar C* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: ajustar la sensibilidad del sistema de manera que la altura del pico principal en el cromatograma obtenido sea al menos el 50 % de la escala completa del registrador. Cromatografiar la *Solución de resolución A* y registrar las respuestas de los

picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de dipirona e impureza A de dipirona no debe ser menor de 2,5. Cromatografiar la *Solución de resolución B* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el cromatograma debe presentar dos picos principales debidos a dipirona y a impureza C de dipirona.

Procedimiento - Cuando los cromatogramas se registran en las condiciones prescritas, las sustancias deben eluir en el siguiente orden: impureza A de dipirona, dipirona, impureza B de dipirona [(4-amino-1,5-dimetil-2-fenil-1,2-dihidro-3*H*-pirazol-3-ona)], impureza C de dipirona [(4-metil-amino-1,5-dimetil-2-fenil-1,2-dihidro-3*H*-pirazol-3-ona)] e impureza D de dipirona [(4-dimetilamino-1,5-dimetil-2-fenil-1,2-dihidro-3*H*-pirazol-3-ona)]. Inyectar por separado en el cromatógrafo, volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Solución muestra*, la *Solución estándar A* y la *Solución estándar C*, registrar los cromatogramas durante 3,5 veces el tiempo de retención de la dipirona y medir las respuestas de todos los picos. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar al obtenido con la *Solución estándar A*. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta del pico correspondiente a impureza C de dipirona no debe ser mayor que la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar C* (0,5 %), y a excepción del pico principal y el pico debido a la impureza C la respuesta de ningún pico debe ser mayor que 0,4 veces la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar C* (0,2 %). A excepción del pico principal, la suma de las respuestas de todos los picos, no debe ser mayor que el pico principal obtenido con la *Solución estándar C* (0,5 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta 0,05 veces menor a la del pico principal obtenido con la *Solución estándar C*.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Sulfato - Una porción de 1 g de Dipirona no debe contener más sulfato que el correspondiente a 1 ml de ácido sulfúrico 0,02 N (0,1 %).

Límite de metales pesados <590>

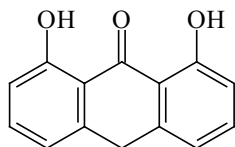
Método I. No más de 0,002 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Dipirona, disolver en 10 ml de ácido clorhídrico 0,01 N previamente enfriado en agua helada y titular de inmediato con iodo 0,05 N (SV). Antes de cada adición de titulante disolver el precipitado por agitación. Agregar 2 ml de almidón (SR) cerca del punto final y titular hasta que el color azul de la

solución persista durante al menos 2 minutos. La temperatura de la solución durante la titulación no debe exceder los 10 °C. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de iodo 0,05 N es equivalente a 16,67 mg de C₁₃H₁₆N₃NaO₄S.

DITRANOL



$C_{14}H_{10}O_3$

PM: 226,2

Sinonimia – Antralina.

Definición - Ditranol es 1,8-dihidroxiantracene-9(10H)-ona. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{14}H_{10}O_3$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino amarillo o amarillo pardo. Se disuelve en soluciones diluidas de hidróxidos alcalinos. Soluble en cloruro de metileno; moderadamente soluble en acetona; poco soluble en alcohol; insoluble en agua.

Sustancias de referencia - Ditranol SR-FA. Impureza C de Ditranol SR-FA: Dímero de Ditranol. Impureza D de Ditranol SR-FA: 1-hidroxi-9-antrona.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - A 5 mg de Ditranol agregar 0,1 g de acetato de sodio anhidro y 1 ml de anhídrido acético. Calentar a ebullición durante 30 segundos. Agregar 20 ml de alcohol. Examinar bajo luz ultravioleta a 365 nm: debe presentar fluorescencia azul.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 178 y 182 °C.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Sustancias relacionadas

A - *Sistema cromatográfico* - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 260 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Hexano, cloruro de metileno y ácido acético glacial (82:5:1). Desgasificar. Hacer

los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Disolver 5 mg de antrona, 5 mg de dantrón, 5 mg de Impureza C de Ditranol SR-FA y 5 mg de Ditranol SR-FA en cloruro de metileno y diluir hasta 5 ml con el mismo solvente. A 1 ml de esta solución agregar 19 ml de cloruro de metileno y 1 ml de ácido acético glacial y diluir a 50 ml con hexano.

Solución muestra - Disolver 200 mg de Ditranol en 20 ml de cloruro de metileno, agregar 1 ml de ácido acético glacial y diluir a 100 ml con hexano.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: las sustancias deben eluir en el siguiente orden: ditranol, dantrón, antrona e impureza C de ditranol; la resolución *R* entre los picos del ditranol y de dantrón debe ser mayor de 2,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas durante 1,5 veces el tiempo de retención de la impureza C de ditranol y medir las respuestas de todos los picos: la respuesta de los picos correspondientes a antrona, dantrón o a la impureza C de ditranol obtenida a partir de la *Solución muestra* no deben ser mayores, cada una de ellas, a la respuesta del pico principal obtenida con la *Solución estándar* (1,0 %). A excepción del pico principal o de los picos correspondientes a antrona, dantrón o a la impureza C de ditranol, la respuesta de ningún pico debe ser mayor a la respuesta del pico de ditranol obtenido con la *Solución estándar* (1,0 %).

B - *Sistema cromatográfico* - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 20 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 0,9 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, tetrahidrofurano y ácido acético glacial (60:40:2,5).

Solución estándar - Disolver 25 mg de Impureza D de Ditranol SR-FA y 25 mg de Ditranol SR-FA en *Fase móvil* y diluir a 50 ml con el mismo solvente. Diluir 1,0 ml de esta solución a 20 ml con *Fase móvil*.

Solución muestra - Disolver 25 mg de Ditranol en *Fase móvil* y diluir a 25 ml con el mismo solvente.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedi-*

miento: la resolución R entre los picos de impureza D y el ditranol debe ser mayor de 2,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas durante tres veces el tiempo de retención de ditranol y medir las respuestas de todos los picos: la respuesta del pico correspondiente a la impureza D de ditranol obtenida a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor a la obtenida con la *Solución estándar*.

El contenido total de *Sustancias relacionadas*, según se determina en los *Ensayos A y B*, no debe ser mayor de 3,0 %.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Solución muestra - Agitar 1 g de Ditranol con 20 ml de agua durante 1 minuto y filtrar. Diluir 10 ml del filtrado a 15 ml con agua.

Procedimiento - A 15 ml de *Solución muestra* agregar 1 ml de ácido nítrico al 12,5 %. Transferir esta mezcla a un tubo de Nessler que contenga 1 ml de nitrato de plata (SR) y proteger de la luz. Proceder del mismo modo con control preparado a partir de 5 ml de agua y 10 ml de cloruro (5 ml) (SL) y examinar los tubos lateralmente sobre fondo negro. Luego de 5 minutos si la *Solución muestra* presenta opalescencia, esta no debe ser más intensa que la del control (100 ppm).

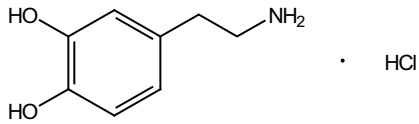
Pérdida por secado <680>

Secar en una estufa entre 100 y 105 °C: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Ditranol, disolver en 50 ml de piridina anhidra y titular con hidróxido de tetrabutilamonio 0,1 N (SV) en atmósfera de nitrógeno, determinar el punto final potenciométricamente, empleando un electrodo de vidrio indicador y un electrodo de referencia de calomel cuyo electrolito sea una solución saturada de cloruro de potasio en metanol (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de tetrabutilamonio 0,1 N equivale a 22,62 mg de $C_{14}H_{10}O_3$.

DOPAMINA, CLORHIDRATO DE



$C_8H_{11}NO_2 \cdot HCl$ PM: 189,6 62-31-7

Definición - Clorhidrato de Dopamina es Clorhidrato de 4-(2-aminoetil)-1,2-bencenodiol. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_8H_{11}NO_2 \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Funde aproximadamente a 240 °C, con descomposición. Fácilmente soluble en agua y en soluciones acuosas de hidróxidos alcalinos; soluble en metanol; insoluble en éter y cloroformo.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Dopamina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>
Solvente: bisulfito de sodio 1 en 1.000.
Concentración: 40 µg por ml.

C - Debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Claridad de la solución

Una solución de 400 mg de Clorhidrato de Dopamina en 10 ml de bisulfito de sodio 1 en 1.000 debe ser transparente e incolora o prácticamente incolora.

Determinación del pH <250>

Entre 3,0 y 5,5, determinado sobre una solución 1 en 25.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Método I. Disolver 1 g de Clorhidrato de Dopamina en 25 ml de agua. No más de 0,002 %.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Sulfato - Disolver 500 mg de Clorhidrato de Dopamina en 40 ml de agua: cualquier turbidez observada no debe ser más intensa que la producida por una solución que contenga 0,10 ml de ácido sulfúrico 0,020 N.

Ensayo de sustancias fácilmente carbonizables <350>

Disolver 100 mg de Clorhidrato de Dopamina en 5 ml de ácido sulfúrico (SR): la solución no debe presentar más color que la *Solución de comparación A*.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol y ácido acético glacial diluido 3 en 10 (13:9:4).

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad de Clorhidrato de Dopamina SR-FA en metanol para obtener una solución de aproximadamente 30 mg por ml.

Soluciones estándar - Diluir cuantitativamente con metanol volúmenes exactamente medidos de la *Solución madre del estándar* para obtener tres *Soluciones estándar* con las siguientes concentraciones:

Solución estándar	Concentración (mg por ml)	% con respecto a la muestra
A	0,6	2,0
B	0,3	1,0
C	0,15	0,5

Solución muestra - Transferir 150 mg de Clorhidrato de Dopamina a un matraz aforado de 5 ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

Revelador - Preparar una mezcla en partes iguales de solución de cloruro férrico 1 en 10 y solución de ferricianuro de potasio 1 en 20. [NOTA: preparar esta solución en el momento de su uso.]

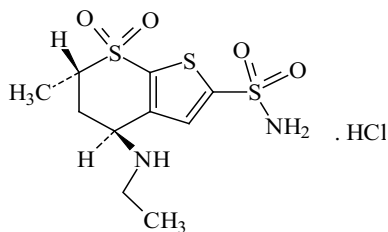
Procedimiento - Revestir la cámara con papel de filtro y dejar equilibrar. Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de la *Solución madre del estándar*, 10 µl de las *Soluciones estándar A, B y C* y 10 µl de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar a temperatura ambiente du-

rante varios minutos. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*. [NOTA: la Dopamina y sus impurezas relacionadas aparecen como manchas azules a la luz visible]. El valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución madre del estándar*. La *Solución muestra* no debe presentar más de tres manchas secundarias. Estimar la concentración de cualquier mancha secundaria presente en la *Solución muestra* comparando con las *Soluciones estándar A, B y C*: la suma de las impurezas no debe ser mayor de 1 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 150 mg de Clorhidrato de Dopamina, disolver en 10 ml de ácido fórmico anhidro, agregar 50 ml de anhídrido acético y mezclar. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 18,96 mg de $C_8H_{11}NO_2 \cdot HCl$.

DORZOLAMIDA, CLORHIDRATO DE



$C_{10}H_{16}N_2O_4S_3 \cdot HCl$ PM: 360,9 130693-82-2

Definición - Clorhidrato de Dorzolamida es Clorhidrato de (4*S-trans*)-4-(Etilamino)-5,6-dihidro-6-metil-4*H*-tieno[2,3-*b*]tiopiran-2-sulfonamida-7,7-dióxido. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{10}H_{16}N_2O_4S_3 \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Soluble en agua.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Dorzolamida SR-FA. Impureza A de Clorhidrato de Dorzolamida SR-FA: Clorhidrato de (4*R*,6*R*)-4-(Etilamino)-5,6-dihidro-6-metil-4*H*-tieno[2,3-*b*]tiopiran-2-sulfonamida-7,7-dióxido.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos bien cerrados, a una temperatura entre 15 y 30 °C.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Preparación estándar*.

C - Debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,5 %; determinado sobre 0,4 g.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %; sometiendo la muestra a ignición a 600 °C.

Límite de Impureza A

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector

ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por partículas porosas de sílice de 5 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - *ter*-Butil metil éter, *n*-heptano para cromatografía, acetonitrilo y agua (63:35:2:0,2). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Transferir aproximadamente 20 mg de Clorhidrato de Dorzolamida, exactamente pesados, a un tubo de centrifuga de 15 ml, disolver en 4,0 ml de hidróxido de amonio 0,5 N, agregar 4,0 ml de acetato de etilo y mezclar. Separar la fase de acetato de etilo y transferir a un tubo de centrifuga de 15 ml. Agregar 4,0 ml de acetato de etilo a la fase acuosa, mezclar, separar la fase de acetato de etilo y combinar con el primer extracto. Evaporar los extractos orgánicos combinados, hasta sequedad en un baño de agua mantenido a 50 °C, bajo corriente de nitrógeno. Disolver el residuo en 3,0 ml de acetonitrilo, agregar 3 gotas de (S)-(-)- α -metilbenzil isocianato y esperar 5 minutos para que proceda la reacción, manteniendo la solución en el baño de agua a 50 °C bajo corriente de nitrógeno. [NOTA: la solución debe descartarse si desarrolla coloración]. Evaporar la mezcla hasta sequedad en un baño de agua mantenido a 50 °C, bajo corriente de nitrógeno. Disolver el residuo en 10 ml de una mezcla de *ter*-butil metil éter, ácido acético glacial y acetonitrilo (87:10:3) y mezclar.

Solución de aptitud del sistema - Transferir aproximadamente 18 mg de Clorhidrato de Dorzolamida SR-FA y 2 mg de Impureza A de Clorhidrato de Dorzolamida SR-FA, exactamente pesados, a un tubo de centrifuga de 15 ml y proceder según se indica para *Solución muestra* comenzando donde dice "disolver en 4,0 ml de hidróxido de amonio 0,5 N, agregar...".

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 1,0 para dorzolamida y 1,5 para impureza A; la resolución *R* entre los picos de dorzolamida e impureza A no debe ser menor a 4,0; la eficiencia de la columna determinada a partir del pico de dorzolamida no debe ser menor de 4.000 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 1,4; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μl) de la *Solución de aptitud del sistema* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y

medir las respuestas de los picos principales. Calcular el porcentaje de Impureza A de Clorhidrato de dorzolamida en la porción de Clorhidrato de Dorzolamida en ensayo por la fórmula siguiente:

$$100r_A(r_A + r_E)$$

en la cual r_A es la respuesta del pico de impureza A de dorzolamida en la *Solución muestra* y r_E es la respuesta del pico de clorhidrato de dorzolamida en la *Solución muestra*. No debe contener más de 0,5 % de Impureza A de Clorhidrato de Dorzolamida.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. Mantener la columna a 35 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto. Programar el cromatógrafo del siguiente modo:

Tiempo	Solución A (%)	Solución B (%)	Etapa
0-15	100	0	Isocrático
15-30	100→50	0→50	Gradiente lineal
30-37	50→100	50→0	Gradiente lineal
37-44	100	0	Isocrático

Solución reguladora de fosfato - Disolver 3,7 g de fosfato de potasio en 1 litro de agua.

Solución A - Solución reguladora de fosfato y acetonitrilo (94:6). Filtrar y desgasificar.

Solución B - Acetonitrilo. Filtrar y desgasificar.

Fase móvil - Emplear mezclas variables de *Solución A* y *Solución B*, según se indica en *Sistema cromatográfico*. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 60 mg de Clorhidrato de Dorzolamida, transferir a un matraz aforado de 100 ml y disolver en *Solución A*. Completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna determinada a partir del pico de dorzolamida no debe ser menor de 6.500 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser menor de 0,6 ni mayor de 1,2; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 10 μl de la *Solución muestra*,

registrar el cromatograma y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza individual en la porción de Clorhidrato de Dorzolamida en ensayo, en relación a la suma de las respuestas de todos los picos. No debe contener más de 0,1 % de ninguna impureza individual y no más de 0,5 % de impurezas totales.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

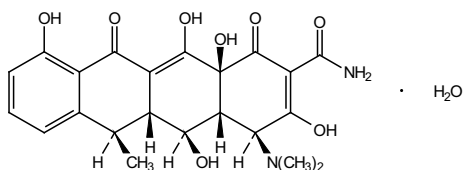
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 150 mg de Clorhidrato de Dorzolamida y disolver en una mezcla de 5 ml de ácido clorhídrico 0,01 N y 50 ml de alcohol, sonicar si fuera necesario. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente (ver 780. *Volumetría*). Leer el volumen agregado entre el primer y tercer punto de inflexión. Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 18,05 mg de $C_{10}H_{16}N_2O_4S_3$.

DOXICICLINA



$\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_8 \cdot \text{H}_2\text{O}$ PM: 462,5 17086-28-1

Definición - Doxiciclina es [4S-(4 α ,4a α ,5 α ,5a α ,6 α ,12a α)]-4-(Dimetilamino)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahidro-3,5,10,12,12a-pentahidroxi-6-metil-1,11-dioxo-2-naftacenocarboxamida, monohidrato. Es un producto antimicrobiano obtenido a partir de oximetaciclina o metaciclina. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_8$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino amarillo. Se disuelve en soluciones diluidas de ácidos minerales y en soluciones de hidróxidos y carbonatos alcalinos. Muy poco soluble en alcohol; prácticamente insoluble en éter.

Sustancias de referencia - Hiclato de Doxiciclina SR-FA. Clorhidrato de 6-epidoxiciclina SR-FA. Clorhidrato de Metaciclina SR-FA. Clorhidrato de Tetraciclina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor. Ajustar el pH de una solución de edetato de sodio al 10 % p/v, a 9,0 con hidróxido de sodio al 42 % p/v y pulverizar uniformemente sobre la placa con esta solución. Dejar secar la placa en posición horizontal durante 1 hora y en el momento de su uso secar en estufa a 110 °C durante 1 hora.

Fase móvil - Cloruro de metileno, metanol y agua (59:35:6).

Solución muestra - Disolver 5 mg de Doxiciclina en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar A - Disolver 5 mg de Hiclato de Doxiciclina SR-FA en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 5 mg de Hiclato de Doxiciclina SR-FA y 5 mg de Clorhidrato de

Tetraciclina SR-FA en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 1 μl de la *Solución muestra* y 1 μl de las *Soluciones estándar A* y *B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente, secar con una corriente de aire y examinar bajo luz ultravioleta a 366 nm: en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* la mancha principal se debe corresponder en valor de R_f , tamaño e intensidad a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A*. El ensayo sólo es válido si el cromatograma obtenido con la *Solución estándar B* presenta dos manchas completamente separadas.

B - Disolver 2 mg de Doxiciclina en 5 ml de ácido sulfúrico: debe desarrollar color amarillo.

C - Disolver 25 mg de Doxiciclina en una mezcla de 0,2 ml de solución de ácido nítrico al 20 % p/v y 1,8 ml de agua: no debe responder al ensayo para *Cloruro* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 5,0 y 6,5, determinado sobre una suspensión de aproximadamente 10 mg por ml en agua libre de dióxido de carbono.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -113° y -130°, determinado sobre la sustancia anhidra.

Solución muestra: Disolver 250 mg de Doxiciclina en una mezcla de metanol y ácido clorhídrico (95,5:0,5) y diluir a 25 ml con la misma mezcla de solventes.

Absorbancia de la solución

Disolver 25 mg de Doxiciclina en una mezcla de metanol y ácido clorhídrico (95,5:0,5) y diluir a 50 ml con la misma mezcla de solventes. Diluir 2,0 ml de esta solución a 100 ml con una mezcla de metanol y ácido clorhídrico 1 N (95,5:0,5). El coeficiente de extinción específica E (1 %, 1 cm) a 349 nm (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*), debe estar comprendido entre 325 y 363, calculado sobre la sustancia anhidra. [NOTA: realizar la medida dentro de la hora siguiente de la preparación].

Impurezas absorbentes de la luz

Disolver 100 mg de Doxiciclina en una mezcla de metanol y ácido clorhídrico 1 N (95,5:0,5) y diluir hasta 50,0 ml con la misma mezcla de solventes. La absorbancia determinada a 490 nm (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) no debe ser mayor de 0,07, determinada sobre la sus-

tancia anhidra. [NOTA: realizar la medida a la hora siguiente de la preparación de la solución].

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra y Solución estándar E - Proceder según se indica para *Preparación muestra y Preparación estándar E* en *Valoración*, respectivamente.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar E*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* la respuesta del pico correspondiente a metaciclina o 6-epidoxiciclina no debe ser mayor que la respuesta del pico correspondiente en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar E* (2,0 %); la respuesta de cualquier pico que se encuentre entre el pico del solvente y el pico de metaciclina y la respuesta de cualquier pico que se encuentre en la cola del pico principal no debe ser mayor de 25,0 % de la respuesta del pico de 6-epidoxiciclina en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar E* (0,5 %).

Determinación de Agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 3,6 y 4,6 %, determinado sobre 200 mg de Doxiciclina.

Límite de metales pesados <590>

Método VI. Preparar la *Solución muestra* a partir de 0,5 g de Doxiciclina y la *Solución estándar* empleando 2,5 ml de *Solución estándar de plomo* (10 ppm). El límite es 0,005 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,4 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por copolímero de estireno-divinilbenceno de 8 a 10 µm. Mantener la columna a 60 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución reguladora de pH 8,0 - Transferir 50 ml de solución de fosfato monobásico de potasio 0,2 M a un matraz aforado de 200 ml, agregar 46,8 ml de hidróxido de sodio 0,2 N y completar a volumen con agua.

Fase móvil - Pesar 60 g de 2-metil-2-propanol y transferir a un matraz aforado de 1 litro con la ayuda de 200 ml de agua. Agregar 400 ml de *Solución*

reguladora de pH 8,0, 50 ml de solución de bisulfato de tetrabutilamonio al 1,0 % p/v ajustada a pH 8,0 con hidróxido de sodio al 8,5 % p/v y agregar 10 ml de una solución de edetato disódico al 4 % p/v ajustada a pH 8,0 con hidróxido de sodio al 8,5 % p/v. Completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 20,0 mg de Doxiciclina, transferir a un matraz aforado de 25 ml, disolver en ácido clorhídrico 0,01 N y completar a volumen con el mismo solvente.

Preparación estándar A - Preparar una solución de Hiclato de Doxiciclina SR-FA en ácido clorhídrico 0,01 N de aproximadamente 0,8 mg por ml.

Preparación estándar B - Pesar exactamente alrededor de 20,0 mg de Clorhidrato de 6-epidoxiciclina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 25 ml, disolver en ácido clorhídrico 0,01 N y completar a volumen con el mismo solvente.

Preparación estándar C - Pesar exactamente alrededor de 20,0 mg de Clorhidrato de Metaciclina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 25 ml, disolver en ácido clorhídrico 0,01 N y completar a volumen con el mismo solvente.

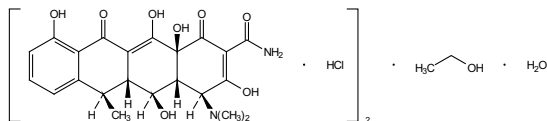
Preparación estándar D - Mezclar 4,0 ml de la *Preparación estándar A*, 1,5 ml de la *Preparación estándar B* y 1,0 ml de la *Preparación estándar C* y diluir a 25,0 ml con ácido clorhídrico 0,01 N.

Preparación estándar E - Mezclar 2,0 ml de la *Preparación estándar B* y 2,0 ml de la *Preparación estándar C* y diluir a 100 ml con ácido clorhídrico 0,01 N.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar D* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el ensayo sólo es válido si la resolución *R* entre el primer pico (metaciclina) y el segundo pico (6-epidoxiciclina) es mayor a 1,25 y la resolución *R* entre el segundo y el tercer pico (doxiciclina) es mayor a 2,0; el factor de asimetría para el tercer pico debe ser menor a 1,25. Cromatografiar la *Preparación estándar A* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas debe ser menor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar A*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el contenido en porcentaje de $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot H_2O$ en la porción de Doxiciclina en ensayo.

DOXICICLINA, HICLATO DE



(C₂₂H₂₄N₂O₈ · HCl)₂ · C₂H₆O · H₂O PM: 512,9 24390-14-5

Definición - Hiclato de Doxíciclina es Clorhidrato de [4S-(4 α ,4a α ,5 α ,5a α ,6 α ,12a α)]-4-(dimetilamino)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahidro-3,5,10,12,12a-pentahidroxi-6-metil-1,11-dioxo-2-naftaceno-carboxamida, etanolato (2:1), monohidrato. Es un producto antimicrobiano obtenido a partir de oximetaciclina o metaciclina. Debe contener no menos de 88,0 por ciento y no más de 94,0 por ciento de C₂₂H₂₄N₂O₈ (doxíciclina), calculado sobre la sustancia anhidra y libre de alcohol y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino amarillo. Higroscópico. Se disuelve en soluciones de hidróxidos y carbonatos alcalinos. Fácilmente soluble en agua y metanol; moderadamente soluble en alcohol; prácticamente insoluble en éter.

Sustancias de referencia - Hiclato de Doxíciclina SR-FA. Clorhidrato de 6-epidoxiciclina SR-FA. Clorhidrato de Metaciclina SR-FA. Clorhidrato de Tetraciclina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre hermético.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria, Fase móvil, Solución estándar A, Solución estándar B y Procedimiento - Proceder según se indica en ensayo de *Identificación A* para *Doxiciclina*.

Solución muestra - Disolver 5 mg de Hiclato de Doxíciclina en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

B - Debe cumplir con *Identificación B* en *Doxiciclina*.

C - Una solución de Hiclato de Doxíciclina debe responder al ensayo para *Cloruro* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 2,0 y 6,5, determinado sobre una solución preparada disolviendo 100 mg de Hiclato de Doxíciclina en 10 ml de agua libre de dióxido de carbono.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -105° y -120°, determinado sobre la sustancia anhidra.

Solución muestra: Disolver 250 mg de Hiclato de Doxíciclina en una mezcla de metanol y ácido clorhídrico 1 N (99:1) y diluir a 25 ml con la misma mezcla de solventes. [NOTA: realizar la medida dentro de los 5 minutos siguientes de la preparación].

Absorbancia de la solución

Disolver 25 mg de Hiclato de Doxíciclina en una mezcla de metanol y ácido clorhídrico 1 N (99:1) y diluir a 25 ml con la misma mezcla de solventes. Diluir 1,0 ml de esta solución a 100 ml con una mezcla de metanol y ácido clorhídrico 1 N (99:1). El coeficiente de extinción específica *E* (1%, 1 cm) a 349 nm (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*), debe estar comprendido entre 300 y 335, calculado sobre la sustancia anhidra. [NOTA: realizar la medida dentro de la hora siguiente de la preparación].

Impurezas absorbentes de la luz

Disolver 100 mg de Hiclato de Doxíciclina en una mezcla de metanol y ácido clorhídrico 1 N (99:1) y diluir hasta 10,0 ml con la misma mezcla de solventes. La absorbancia determinada a 490 nm (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*), no debe ser mayor de 0,07, determinada sobre la sustancia anhidra. [NOTA: realizar la medida dentro de la hora siguiente de la preparación de la solución].

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución estándar E, Aptitud del sistema y Procedimiento - Proceder según se indica en *Sustancias relacionadas* para *Doxiciclina*.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* preparada en *Valoración*.

Contenido de alcohol

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de 1,5 m x 4 mm con fase estacionaria constituida por copolímero de etilvinilbenceno-divinilbenceno de 150 a 180 μ m. Mantener la columna a 135 °C y el inyector y detector a 150 °C. Emplear nitrógeno como gas transportador.

Solución del estándar interno - Diluir 0,5 ml de alcohol propílico a 1 litro con agua.

Solución muestra A - Disolver 100 mg de Hiclato de Doxíciclina en agua y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución muestra B - Disolver 100 mg de Hiclato de Doxíciclina en *Solución del estándar interno* y diluir a 10 ml con la misma solución.

Solución estándar - Diluir 0,5 ml de alcohol absoluto a 100 ml con la *Solución del estándar interno*. Diluir 1 ml de esta solución a 10 ml con la *Solución del estándar interno*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales de *Solución muestra A*, *Solución muestra B* y *Solución estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos. Calcular el contenido de alcohol absoluto, empleando como densidad 0,790 g por ml a 20 °C. Debe contener entre 4,3 y 6,0 % p/p.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 1,4 y 2,8 %, determinada sobre 1,20 mg de Hiclato de Doxiciclina.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,4 %.

Límite de metales pesados <590>

Método VI. Preparar la *Solución muestra* a partir de 0,5 g de Hiclato de Doxiciclina y la *Solución estándar* empleando 2,5 ml de *Solución estándar de plomo (10 ppm)*. El límite es 0,005 %.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando Hiclato de Doxiciclina esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas inyectables, no debe contener más de 1,14 Unidades de Endotoxina por mg de Hiclato de Doxiciclina.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando Hiclato de Doxiciclina esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas inyectables, debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

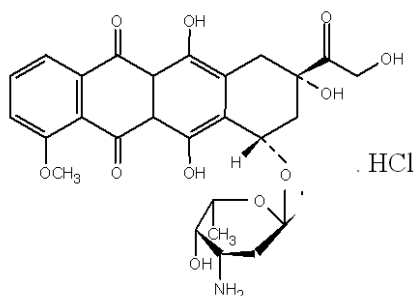
Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución estándar A, Solución estándar B, Solución estándar C, Solución estándar D, Solución estándar E, Aptitud del sistema y Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración para Doxiciclina*.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 20,0 mg de Hiclato de Doxiciclina, transferir a un matraz aforado de 25 ml, disolver en ácido clorhídrico 0,01 N y completar a volumen con el mismo solvente.

ROTULADO

Cuando el Hiclato de Doxiciclina esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas inyectables, indicar en el rótulo que es estéril y apiretógena.

DOXORUBICINA, CLORHIDRATO DE



$C_{27}H_{29}NO_{11} \cdot HCl$ PM: 580,0 25316-40-9

Sinonimia - Clorhidrato de Adriamicina.

Definición - Clorhidrato de Doxorubicina es Clorhidrato de (8*S-cis*)-10-[(3-amino-2,3,6-trideoxi- α -L-lixo-hexopiranosil)oxi]-7,8,9,10-tetrahidro-6,8,11-trihidroxi-8-(hidroxiacetil)-1-metoxi-5,12-naftacenodiona. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{27}H_{29}NO_{11} \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia anhidra y libre de solventes. Clorhidrato de Doxorubicina debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino rojo-anaranjado. Higroscópico. Soluble en agua; poco soluble en metanol.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Doxorubicina SR-FA. Clorhidrato de Epirubicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases herméticos.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. En *fase sólida*.

B - Disolver 10 mg de Clorhidrato de Doxorubicina en 0,5 ml de ácido nítrico, agregar 0,5 ml de agua y calentar durante 2 minutos. Dejar enfriar y agregar 0,5 ml de nitrato de plata al 4,25 %: se debe formar un precipitado blanco.

Determinación del pH <250>

Entre 4,0 y 5,5, determinado sobre una solución preparada disolviendo 50 mg de Clorhidrato de Doxorubicina en 10 ml de agua libre de dióxido de carbono.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 4,0 %.

Sustancias relacionadas

[NOTA: preparar las soluciones inmediatamente antes de su uso].

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación muestra A y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Clorhidrato de Doxorubicina SR-FA y 10 mg de *Clorhidrato de Epirubicina*, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en *Fase móvil* y completar a volumen con *Fase móvil*. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Fase móvil*. Diluir 5 ml de esta solución a 20 ml con *Fase móvil*.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra A*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 5 μ l) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos: en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ninguna impureza debe ser mayor a la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (0,5 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor a 0,1 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (0,05 %).

Límite de solventes residuales (acetona y alcohol)

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de 2 m \times 4 mm rellena con 8 a 10 % de fase líquida compuesta de polietilenglicol (peso molecular aproximadamente 15.000) y un 2 % de hidróxido de potasio sobre soporte formado por tierra silícea para cromatografía de gases de granulometría entre 100 a 120 mesh, que ha sido calcinada a 900 °C mezclando diatomea con Na_2CO_3 [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido, luego se lava con agua hasta neutralidad, pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dime-tildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener la columna a aproximadamente 60 °C. Se debe emplear helio como gas transportador.

Diluyente - Transferir 100 mg de dioxano a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 200 mg de acetona, 300 mg de alcohol abso-

luto y 1 g de dioxano, transferir a un matraz aforado de 100 ml y mezclar. Completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Esta solución contiene aproximadamente 0,2 mg de acetona, 0,3 mg de C₂H₅OH y 1 mg de dioxano por ml.

Solución muestra - Disolver aproximadamente 200 mg de Clorhidrato de doxorubicina en 3 ml (3,0 g) de *Diluyente*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: ajustar los parámetros operativos de modo tal que el tiempo de retención de dioxano sea aproximadamente 6 minutos; los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente de 0,2 para acetona, 0,5 para alcohol absoluto y 1,0 para dioxano; la resolución *R* entre dos picos adyacentes no debe ser menor de 2,0; el factor de asimetría para el pico de alcohol no debe ser mayor de 1,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas de los cocientes entre las respuestas de los picos de acetona y dioxano y entre las respuestas de los picos de alcohol y dioxano no debe ser mayor de 4,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo, volúmenes iguales (aproximadamente 1 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje en peso de acetona (CH₃COCH₃) y alcohol absoluto (C₂H₅OH) en la porción de Clorhidrato de Doxorubicina en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$100(C_a/C_d)(D_M/P_M)(R_M/R_E)$$

en la cual *C_a* es la concentración en mg por ml de acetona o alcohol absoluto en la *Solución estándar*; *C_d* es la concentración en mg por ml de dioxano en la *Solución estándar*; *D_M* es la cantidad total en mg de dioxano en la *Solución muestra*; *P_M* es la cantidad en mg de Clorhidrato de Doxorubicina en la *Solución muestra*, y *R_M* y *R_E* son los cocientes entre las respuestas de los picos de acetona o alcohol, según corresponda, y de dioxano obtenidos a partir de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, respectivamente: no debe contener más de 0,5 % de acetona y el total de acetona y alcohol no debe ser mayor de 2,5 %.

Ensayos de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que el Clorhidrato de Doxorubicina esta destinado a la preparación de formas farmacéuticas parenterales, debe contener menos de 2,2 Unidades de Endotoxina por mg de Doxorubicina.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que el Clorhidrato de Doxorubicina esta destinado a la preparación de formas farmacéuticas parenterales, debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

[NOTA: preparar las soluciones inmediatamente antes de su uso].

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano totalmente recubierto, químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo y una solución de laurilsulfato de sodio de aproximadamente 2,88 g/l y ácido fosfórico de aproximadamente 2,25 g/l (50:50). Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de resolución- Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Clorhidrato de Doxorubicina SR-FA y 10 mg de *Clorhidrato de Epirubicina*, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en *Fase móvil* y completar a volumen con *Fase móvil*. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Clorhidrato de Doxorubicina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en *Fase móvil* y completar a volumen con *Fase móvil*. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Preparación muestra A - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Clorhidrato de Doxorubicina, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en *Fase móvil* y completar a volumen con *Fase móvil*.

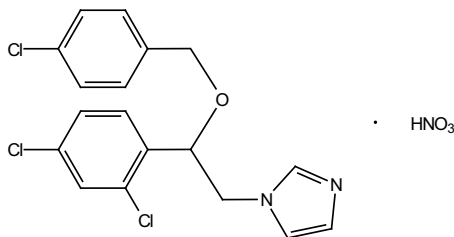
Preparación muestra B - Transferir 10 ml de *Preparación muestra A* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de doxorubicina y epirubicina no debe ser menor de 2,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 5 µl) de la *Preparación muestra B* y la *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la

cantidad de $C_{27}H_{29}NO_{11} \cdot HCl$ en la porción de Clorhidrato de Doxorubicina en ensayo.

ECONAZOL, NITRATO DE



$\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{Cl}_3\text{N}_2\text{O} \cdot \text{HNO}_3$ PM: 444,7 68797-31-9

Definición - Nitrato de Econazol es Mononitrato de (\pm) 1-[2-[(4-clorofenil)metoxi]-2-(2,4-diclorofenil)etil]-1*H*-imidazol. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{Cl}_3\text{N}_2\text{O} \cdot \text{HNO}_3$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Soluble en metanol; moderadamente soluble en cloroformo; poco soluble en alcohol; muy poco soluble en agua y éter.

Sustancia de referencia - Nitrato de Econazol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: ácido clorhídrico 0,1 N en metanol 1 en 10.

Concentración: 800 μg por ml.

C - Agitar 10 mg de Nitrato de Econazol con 5 ml de agua y enfriar la suspensión resultante con hielo. Mantener la suspensión fría, agregar 0,4 ml de solución de cloruro de potasio 1 en 10, 0,1 ml de difenilamina (SR) y, gota a gota con agitación, 5 ml de ácido sulfúrico: se debe producir un color azul intenso.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 162 y 166 °C, con descomposición.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C hasta peso constante: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Dioxano, tolueno e hidróxido de amonio 13,5 M (60:40:1).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Nitrato de Econazol SR-FA en metanol para obtener una solución de aproximadamente 75 μg por ml.

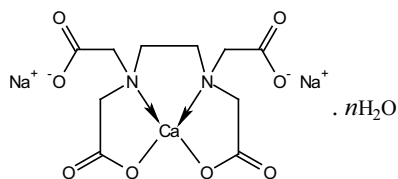
Solución muestra - Disolver una cantidad exactamente pesada de Nitrato de Econazol en metanol para obtener una solución de aproximadamente 20 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 20 μl de la *Solución muestra* y 20 μl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y secar en una corriente de aire. Exponer la placa a vapores de yodo durante 1 hora y secar al aire hasta que el yodo se haya disipado: ninguna mancha secundaria en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser mayor en tamaño o intensidad que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar*; la suma de todas las manchas secundarias no debe ser mayor de 2,0 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 400 mg de Nitrato de Econazol, disolver en 50 ml de ácido acético glacial y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente, empleando un sistema de electrodos de vidrio-calomel. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volúmetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 44,47 mg de $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{Cl}_3\text{N}_2\text{O} \cdot \text{HNO}_3$.

EDETATO CÁLCICO DISÓDICO



$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{CaN}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ 23411-34-9
Anhidro PM: 374,3 62-33-9

Definición - Edetato Cálcico Disódico es Hidrato de [[N,N'-1,2-etanodiolbis [N-(carboximetil)glicinato]](4-)-N,N',O,O',O'',O''']-calcato (2-) disódico. Es una mezcla de dihidrato y trihidrato de etilendiaminotetraacetato cálcico disódico (predominantemente el dihidrato). Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{CaN}_2\text{Na}_2\text{O}_8$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o gránulos cristalinos blancos. Higroscópico e inodoro. Estable al aire. Fácilmente soluble en agua; prácticamente insoluble en alcohol y en éter.

Sustancia de referencia - Edetato Cálcico Disódico SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*.

B - Una solución de Edetato Cálcico Disódico 1 en 20 debe responder al ensayo de *Oxalato* y al ensayo a la llama de *Sodio* <410>.

C - Agregar a 5 ml de agua 2 gotas de tiocianato de amonio (SR) y 2 gotas de cloruro férrico (SR). A esta solución de color rojo intenso agregar 50 mg de Edetato Cálcico Disódico y mezclar: debe desaparecer el color rojo intenso.

Determinación del pH <250>

Entre 6,5 y 8,0, determinado sobre una solución 1 en 5.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 13,0 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Límite de ácido nitrilotriacético

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 15 cm x 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agregar 10 ml de hidróxido de tetrabutylamonio a 200 ml de agua y ajustar a pH $7,5 \pm 0,1$ con ácido fosfórico 1 M. Transferir la solución a un matraz aforado de 1 litro, agregar 90 ml de metanol, completar a volumen con agua y mezclar. Filtrar y desgasificar (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Solución de nitrato cúprico - Preparar una solución de aproximadamente 10 mg por ml.

Solución madre del estándar - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de ácido nitrilotriacético, transferir a un matraz aforado de 10 ml, agregar 0,5 ml de hidróxido de amonio y mezclar. Completar a volumen con agua y mezclar.

Solución de resolución - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Edetato Cálcico Disódico, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 100 μl de *Solución madre del estándar*, completar a volumen con *Solución de nitrato cúprico* y mezclar. Sonicar, si fuera necesario, para lograr una disolución completa.

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Edetato Cálcico Disódico SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 100 μl de *Solución madre del estándar*, completar a volumen con *Solución de nitrato cúprico* y mezclar. Sonicar, si fuera necesario, para lograr una disolución completa.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Edetato Cálcico Disódico, transferir a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Solución de nitrato cúprico* y mezclar. Sonicar, si fuera necesario, para lograr una disolución completa.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,35 para el ácido nitrilotriacético, 0,65 para el ión cúprico y 1,0 para el edetato; la resolución *R* entre los picos de ácido nitrilotriacético y de cobre no debe ser menor de 3. Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. La respuesta del pico del ácido nitrilotriacético en la *Solución muestra* no debe exceder la diferencia entre las respuestas de los picos del ácido nitrilotriacético obtenidas a partir de la *Solución estándar* y la *Solución muestra* (0,1 %).

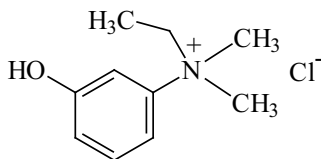
Sustancias quelantes de magnesio

Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Edetato Cálcico Disódico, transferir a un vaso de precipitados pequeño y disolver en 5 ml de agua. Agregar 5 ml de solución reguladora de amoníaco y cloruro de amonio (SR). Luego agregar a la solución reguladora 5 gotas de negro de eriocromo (SR) y titular con acetato de magnesio 0,10 M hasta la aparición de un color rojo intenso: no debe consumir más de 2,0 ml.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 1,2 g de Edetato Cálcico Disódico, transferir a un vaso de precipitados de 250 ml y disolver en 75 ml de agua. Agregar 25 ml de ácido acético 1 N, 1 ml de difenilcarbazona (SR) y titular lentamente con nitrato mercúrico 0,1 M (SV) hasta la primera aparición de color púrpura. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de nitrato mercúrico 0,1 M equivale a 37,43 mg de $C_{10}H_{12}CaN_2Na_2O_8$.

EDROFONIO, CLORURO DE



C₁₀H₁₆ClNO

PM: 201,7

116-38-1

Definición - Cloruro de Edrofonio es Cloruro de *N*-Etil-3-hidroxi-*N,N*-dimetilbenzaminio. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de C₁₀H₁₆ClNO, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco. Inodoro. Una solución al 10 % es prácticamente incolora. Muy soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol; insoluble en cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Cloruro de Edrofonio SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 165 y 170 °C; con descomposición.

Determinación del pH <250>

Entre 4,0 y 5,0; determinado sobre una solución 1 en 10.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de dimetilaminofenol

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Cloruro de Edrofonio, transferir a una ampolla de decantación y disolver en 5 ml de agua. Agregar 5 ml de solución reguladora de fosfato pH 8,0 (ver *Soluciones reguladoras en Reactivos y soluciones*) y agitar. Extraer con cinco porciones de 20 ml de cloroformo, transferir los extractos a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con cloroformo: la absorbancia de esta solución (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*), en una celda de 1 cm, a 252 nm, con un espectrofotómetro,

no debe ser mayor que la de una solución de dimetilaminofenol 1 en 200.000 en cloroformo (0,1 %).

Límite de metales pesados <590>

Método I. Disolver 1,0 g de Cloruro de Edrofonio en 25 ml de agua. No más de 0,002 %.

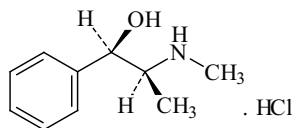
Pérdida por secado <680>

Secar al vacío sobre pentóxido de fósforo, durante 3 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 175 mg de Cloruro de Edrofonio, disolver en 20 ml de ácido acético glacial y agregar 5,0 ml de acetato mercúrico (SR). Agregar una gota de cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 20,17 mg de C₁₀H₁₆ClNO.

EFEDRINA, CLORHIDRATO DE



$C_{10}H_{15}NO \cdot HCl$ PM: 201,7 50-98-6

Definición - Clorhidrato de Efedrina es Clorhidrato de α -[1-(Metilamino)etil] bencenometanol. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_{10}H_{15}NO \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo o cristales finos y blancos. Fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol; insoluble en éter.

Sustancias de referencia - Sulfato de Efedrina SR-FA. Clorhidrato de Pseudoefedrina SR-FA

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Disolver 100 mg de Clorhidrato de Efedrina en 5 ml de agua, agregar 1 ml de una solución de carbonato de potasio 20 %, y extraer con 2 ml de cloroformo: el espectro de absorción infrarroja del extracto clorofórmico obtenido debe presentar máximos sólo a las mismas longitudes de onda que el de una preparación de Sulfato de Efedrina SR-FA tratada del mismo modo.

B - Una solución de Clorhidrato de Efedrina debe responder al ensayo para *Cloruro* <410>.

Determinación del punto de fusión <260>

Método I. Entre 217 y 220 °C.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -33,0 ° y -35,5 °.

Solución muestra: 50 mg por ml, en agua.

Acidez o alcalinidad

Disolver 1,0 g de Clorhidrato de Efedrina en 20 ml de agua y agregar 1 gota de rojo de metilo (SR). Si la solución es amarilla, no se deben consumir más de 0,10 ml de ácido sulfúrico 0,010 N para cambiarla a color rojo. Si la solución es rosada, no se deben consumir más de 0,20 ml de hidróxido de sodio 0,02 M para cambiarla a color amarillo.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 ° durante 3 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Sulfatos

Disolver 50 mg de Clorhidrato de Efedrina en 40 ml de agua y agregar 1 ml de ácido clorhídrico 3 M y 1 ml de cloruro de bario (SR): no se debe producir turbidez dentro de los 10 minutos.

Impurezas comunes <510>

Solución muestra y Solución estándar: emplear alcohol.

Fase móvil: alcohol isopropílico, hidróxido de amonio y cloroformo (80:15:5).

Revelador: 1, seguido de 4.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 257 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por grupos fenilo unidos químicamente a partículas de sílice porosa, de 3 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución reguladora de pH 4,0 - Disolver 11,6 g de acetato de amonio en agua para obtener 1 litro de solución. Ajustar a pH 4,0 con ácido acético glacial y mezclar.

Fase móvil - Solución reguladora de pH 4,0 y metanol (94: 6).

Solución muestra - Disolver 75 mg de Clorhidrato de Efedrina en *Fase móvil* y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar A - Transferir 2 ml de *Solución muestra* a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Fase móvil*. Transferir 1 ml de esta solución y diluir a 10,0 ml con *Fase móvil*.

Solución estándar B - Disolver 5 mg de Clorhidrato de Efedrina y 5 mg de Clorhidrato de Pseudoefedrina SR-FA en *Fase móvil* y diluir a 50 ml con el mismo solvente.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar B* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos correspondientes a efedrina y clorhidrato de pseudoefedrina no debe ser menor de 2,0.

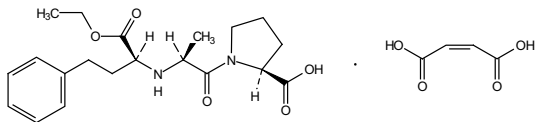
Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución estándar A* y la *Solución*

muestra, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 1,1 para clorhidrato de pseudoefedrina y 1,4 para (-)-(1*R*)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-ona (impureza A). Calcular la cantidad de impureza A en el cromatograma obtenido con la *Solución muestra* multiplicando la respuesta del pico correspondiente por un factor de corrección de 0,4: la respuesta del pico de impureza A de la *Solución muestra* no debe ser mayor que el pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (0,2 %). En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ningún pico, a excepción del pico principal, debe presentar una respuesta mayor de 0,5 veces de la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (0,1 %). La suma de las respuestas de todos los picos, a excepción del pico principal y del pico de impureza A, no debe ser mayor que 2,5 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (0,5 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor de 0,25 veces la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar A* (0,05 %).

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 190 mg de Clorhidrato de Efedrina, disolver en 25 ml de ácido acético glacial y agregar 10 ml de acetato mercúrico (SR) y 2 gotas de cristal violeta (SR). Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) hasta un punto final verde esmeralda. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 20,17 mg de $C_{10}H_{15}NO \cdot HCl$.

ENALAPRIL, MALEATO DE



$C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$ PM: 492,5 76095-16-4

Definición - Maleato de Enalapril es (Z)-2-Butenodiato de (S)-1-[N-[1-(etoxicarbonil)-3-fenilpropil]-L-alanil]-L-prolina. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino casi blanco. Funde aproximadamente a 144 °C. Fácilmente soluble en dimetilformamida y metanol; soluble en alcohol; moderadamente soluble en agua; poco soluble en solventes orgánicos medianamente polares; prácticamente insoluble en solventes orgánicos no polares.

Presenta polimorfismo.

Sustancias de referencia - Maleato de Enalapril SR-FA. Enalaprilat SR-FA. Dicotopiperazina SR-FA. Imidazol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos *Sustancias Relacionadas*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución aptitud del sistema*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -41,0° y -43,5°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en metanol.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 210 nm y una columna de 12,5 cm × 4 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. Mantener la columna a 50 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución de fosfato pH 2,0 - Transferir 140 mg de fosfato monobásico de potasio a un matraz aforado de 1 litro y disolver en aproximadamente 800 ml de agua. Ajustar a pH 2,0 con ácido fosfórico, completar a volumen con agua y mezclar.

Fase móvil - Solución de fosfato pH 2,0 y acetonitrilo (65:35). Agregar 1,44 g de dodecil sulfato de sodio por litro. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución mezcla - Preparar una solución que contenga aproximadamente 0,1 mg de Dicotopiperazina SR-FA, 0,1 mg de Enalaprilat SR-FA y 50µg de Imidazol SR-FA por ml en *Fase móvil*.

Solución aptitud del sistema - Pesar exactamente 50 mg de Maleato de Enalapril SR-FA, transferir a una matraz aforado de 10 ml, transferir 1 ml de *Solución mezcla*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución estándar - Pesar exactamente 50 mg de Maleato de Enalapril, transferir a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución estándar diluida - Transferir 1 ml de *Solución estándar* a un matraz de 100 ml, completar con *Fase móvil* y mezclar. Transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml, agregar 1 ml de *Solución mezcla*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Maleato de Enalapril, transferir a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de imidazol y enalaprilat no debe ser menor de 1,5; los tiempos de retención relativos al pico de enalapril deben ser aproximadamente 0,11 para el ácido maleico, 0,26 para el imidazol, 0,31 para el enalaprilat, 0,54 para la dicotopiperazina y 2,33 para el ciclohexil análogo del enalapril. Cromatografiar la *Solución estándar diluida* y registrar las respuestas de todos los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas para cada pico no debe ser mayor de 5,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución estándar diluida* y *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Ignorar la respuesta obtenida debida al ácido maleico.

Identificar las impurezas presentes según los tiempos de retención relativos y calcular los porcentajes de Imidazol, Enalaprilat y Dicotopiperazina en

la porción de Maleato de Enalapril en ensayo con respecto a las respuestas de los picos de la *Solución estándar diluida*. Calcular el porcentaje de cualquier otra impureza en la porción de Maleato de Enalapril en ensayo con respecto a la respuesta del pico de enalapril de la *Solución estándar diluida*.

<i>Límites</i>	
Imidazol	≤ 0,1 %
Enalaprilat	≤ 0,2 %
Dicetopiperazina	≤ 0,2 %
Ciclohexil análogo de enalapril	≤ 0,3 %
Sustancias relacionadas desconocidas	≤ 0,1 %
Sustancias relacionadas totales	≤ 1,0 %

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío, a una presión no mayor de 5 mm Hg, a 60 °C durante 2 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

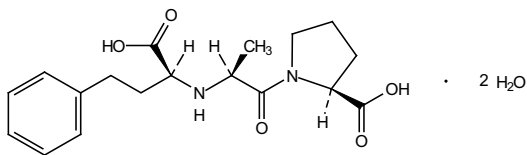
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Maleato de Enalapril, transferir a un recipiente apropiado y disolver en 30 ml de agua libre de dióxido de carbono. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente (ver 780. *Volumetría*). Leer el volumen agregado en el segundo punto de inflexión. Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 16,42 mg de $C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$.

ENALAPRILAT



$C_{18}H_{24}N_2O_5 \cdot 2H_2O$ PM: 384,4 84680-54-6

Sinonimia - Enalaprilato.

Definición - Enalaprilat es (S)-1-[N-(1-Carboxi-3-fenilpropil)-L-alanil]-L-prolina, dihidrato. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{18}H_{24}N_2O_5$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Higroscópico. Moderadamente soluble en dimetilformamida y metanol; poco soluble en agua y alcohol isopropílico; muy poco soluble en acetona, alcohol y hexano; prácticamente insoluble en acetonitrilo y cloroformo.

Sustancia de referencia - Enalaprilat SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre $-53,0^\circ$ y $-56,0^\circ$.

Solución muestra: 10 mg por ml, en metanol.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 7,0 y 11,0 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 210 nm y una columna de

15 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 4 μ m de diámetro. Mantener la columna a aproximadamente 70 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Solución reguladora de pH 3 - Disolver 1,36 g de fosfato monobásico de potasio en 950 ml de agua, ajustar a $pH\ 3,0 \pm 0,1$ con ácido fosfórico, diluir a 1 litro con agua y mezclar.

Mezcla solvente - Acetonitrilo, metanol y *Solución reguladora de pH 3* (2:2:1). Ajustar con ácido fosfórico a $pH\ 3,0 \pm 0,1$ y mezclar.

Diluyente - *Solución reguladora de pH 3* y *Mezcla solvente* (92:8). Filtrar.

Fase móvil - *Solución reguladora de pH 3* y *Mezcla solvente* (85:15). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

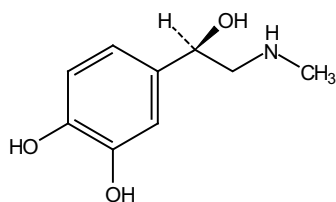
Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Enalaprilat SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,3 mg por ml. [NOTA: emplear esta solución dentro de un período de 24 horas].

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 30 mg de Enalaprilat, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver con *Diluyente*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna determinada a partir del pico de enalaprilat no debe ser menor de 500 platos teóricos; el factor de asimetría para el pico de enalaprilat no debe ser mayor de 1,7; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{18}H_{24}N_2O_5$ en la porción de Enalaprilat en ensayo.

EPINEFRINA



$C_9H_{13}NO_3$

PM: 183,2

51-43-4

Sinonimia - Adrenalina.

Definición - Epinefrina es (*R*)-4-[1-Hidroxi-2-(metilamino)-etil-1,2-bencenodiol. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_9H_{13}NO_3$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Gránulos o polvo microcristalino de color blanco. Por exposición a la luz y al aire se oscurece gradualmente. Con ácidos forma sales fácilmente solubles en agua; la base se recupera por adición de amoníaco o carbonatos alcalinos. Sus soluciones son alcalinas al tornasol. Muy poco soluble en agua y alcohol; insoluble en éter, cloroformo y en aceites fijos y volátiles.

Sustancia de referencia - Tartrato Ácido de Epinefrina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A 5 ml de solución reguladora de ftalato ácido pH 4,0 (ver *Soluciones reguladoras en Reactivos y soluciones*) agregar 0,5 ml de una solución de Epinefrina 1 en 1.000 ligeramente ácida y 1,0 ml de iodo 0,1 N. Mezclar y dejar reposar durante 5 minutos. Agregar 2 ml de solución de tiosulfato de sodio 1 en 40: se debe desarrollar un color rojo intenso.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre $-50,0^\circ$ y $-53,5^\circ$.

Solución muestra: 20 mg por ml, en ácido clorhídrico 0,6 N.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío sobre gel de sílice durante 18 horas: no debe perder más de 2,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

Inapreciable; determinado sobre 100 mg.

Límite de adrenalona

Disolver 50,0 mg de Epinefrina en ácido clorhídrico 0,01 M y diluir hasta 25,0 ml con el mismo solvente. La absorbancia de la solución medida a 310 nm no debe ser mayor de 0,10 (ver 470. *Espectroscopia ultravioleta y visible*).

Límite de norepinefrina

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloruro de metileno, acetona y ácido fórmico anhidro (50:50:0,5).

Solución muestra - Disolver 250 mg de Epinefrina en agua y diluir a 10 ml con el mismo solvente. [NOTA: preparar la solución inmediatamente antes de emplear].

Solución estándar A - Disolver 12,5 mg de Tartrato Ácido de Epinefrina SR-FA en agua y diluir hasta 10 ml con el mismo solvente. [NOTA: preparar la solución inmediatamente antes de emplear].

Solución estándar B - Diluir 2 ml de la *Solución estándar A* a 10 ml con agua.

Solución estándar C - Mezclar 2 ml de *Solución muestra* y 2 ml de *Solución estándar B*.

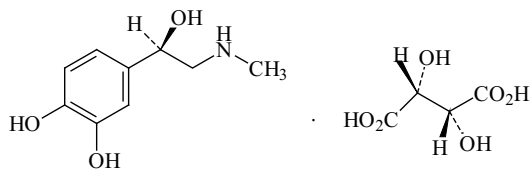
Revelador - Metanol, etilendiamina y solución de ferricianuro de potasio al 5 % (8:2:2).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa, en bandas de 20 mm por 2 mm, 6 μ l de *Solución muestra*, 6 μ l de *Solución estándar A*, 6 μ l de *Solución estándar B* y 12 μ l de *Solución estándar C*. Dejar secar las aplicaciones y pulverizar sobre las bandas con una solución saturada de bicarbonato de sodio. Dejar secar la placa al aire y pulverizar sobre las bandas dos veces con anhídrido acético, secando entre las dos pulverizaciones. Calentar a 50°C durante 90 minutos y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*, calentar a 60°C durante 10 minutos y examinar bajo luz ultravioleta a 254 y 366 nm: en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ninguna banda entre las dos bandas de mayor intensidad, debe ser más intensa que la banda correspondiente a la obtenida con la *Solución estándar B* (1,0 %). El ensayo sólo es válido si el cromatograma obtenido con la *Solución estándar C* presenta las dos manchas más intensas completamente separadas y entre ellas hay una banda que se corresponde con la de la *Solución estándar A*.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 300 mg de Epinefrina y disolver en 50 ml de ácido acético glacial, calentando ligeramente si fuera necesario para favorecer la disolución. Agregar cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 18,32 mg de $C_9H_{13}NO_3$.

EPINEFRINA, TARTRATO ÁCIDO DE



$C_{13}H_{19}NO_9$

P.M: 333,3

51-42-3

Sinonimias - Epinefrina, Bitartrato. Adrenalina, Bitartrato. Adrenalina, Tartrato Ácido.

Definición - Tartrato Ácido de Epinefrina es la Sal ácida de tartrato de (*R*)-4-[1-hidroxi-2-(metilamino)etil]-1,2-bencenodiol. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{13}H_{19}NO_9$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o blanco grisáceo. Fácilmente soluble en agua; poco soluble en alcohol; prácticamente insoluble en éter.

Sustancia de referencia - Tartrato Ácido de Epinefrina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos herméticos.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.* Pesar exactamente alrededor de 2 g de Tartrato Ácido de Epinefrina, disolver en 20 ml de una solución de aproximadamente 5 g por ml de metabisulfito de sodio y agregar amoníaco hasta reacción alcalina. Colocar en baño de hielo durante 1 hora y luego filtrar. Reservar el filtrado para el ensayo de *Identificación C*. Lavar el filtrado con tres porciones de 2 ml de agua, luego con 5 ml de alcohol y finalmente con 5 ml de éter y desecar al vacío durante 3 horas: el espectro de absorción infrarrojo del precipitado obtenido (epinefrina base) debe presentar máximos sólo a las mismas longitudes de onda que el de una preparación similar de Tartrato Ácido de Epinefrina SR-FA.

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: ácido clorhídrico 0,01 M.

Concentración: 50 µg por ml.

Las absorvidades a 279 nm deben estar comprendidas entre 79 y 85.

C - 0,2 ml del filtrado obtenido en el ensayo de *Identificación A* debe responder al ensayo para Tartrato en <410>.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -50° y -54° .

Solución muestra: con el precipitado obtenido en el ensayo de *Identificación A*, se prepara una solución de aproximadamente 20 mg por ml con ácido clorhídrico 0,5 M

Límite de adrenalona

Disolver 50,0 mg de Tartrato Ácido de Epinefrina en ácido clorhídrico 0,01 M y diluir hasta 25,0 ml con el mismo solvente. La absorbancia de la solución medida a 310 nm no debe ser mayor de 0,10 (ver 470. *Espectroscopia ultravioleta y visible*).

Límite de norepinefrina

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloruro de metileno, acetona y ácido fórmico anhidro (50:50:0,5).

Solución muestra - Disolver 250 mg de Tartrato Ácido de Epinefrina en agua y diluir a 10 ml con el mismo solvente. [NOTA: preparar la solución inmediatamente antes de emplear].

Solución estándar A - Disolver 12,5 mg de Tartrato Ácido de Epinefrina SR-FA en agua y diluir hasta 10 ml con el mismo solvente. [NOTA: preparar la solución inmediatamente antes de emplear].

Solución estándar B - Diluir 2 ml de la *Solución estándar A* a 10 ml con agua.

Solución estándar C - Mezclar 2 ml de *Solución muestra* y 2 ml de *Solución estándar B*.

Revelador - Metanol, etilendiamina y solución de ferricianuro de potasio al 5 % (8:2:2).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa, en bandas de 20 mm por 2 mm, 6 µl de *Solución muestra*, 6 µl de *Solución estándar A*, 6 µl de *Solución estándar B* y 12 µl de *Solución estándar C*. Dejar secar las aplicaciones y pulverizar sobre las bandas con una solución saturada de bicarbonato de sodio. Dejar secar la placa al aire y pulverizar sobre las bandas dos veces con anhídrido acético, secando entre las dos pulverizaciones. Calentar a 50°C durante 90 minutos y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*, calentar a 60°C durante 10 minutos y examinar bajo luz ultravioleta a 254 y 366 nm: en el cromatograma obteni-

do a partir de la *Solución muestra*, ninguna banda entre las dos bandas de mayor intensidad, debe ser más intensa que la banda correspondiente a la obtenida con la *Solución estándar B* (1,0 %). El ensayo sólo es válido si el cromatograma obtenido con la *Solución estándar C* presenta las dos manchas más intensas completamente separadas y entre ellas hay una banda que se corresponde con la de la *Solución estándar A*.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío durante 18 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

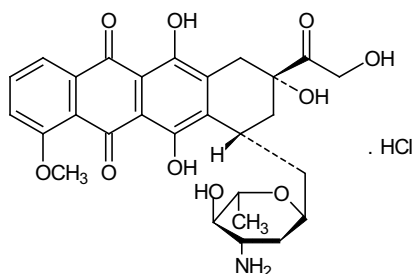
Determinación de residuo de ignición <170>

No más de 0,1 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 300 mg de Tartrato Ácido de Epinefrina, disolver en 50 ml de ácido acético anhidro, calentar ligeramente si es necesario. Titular con ácido perclórico 0,1 M empleando 0,1 ml de solución violeta cristal como indicador, hasta que se obtenga un color azul verdoso. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 M equivale a 33,33 mg de $C_{13}H_{19}NO_9$.

EPIRUBICINA, CLORHIDRATO DE



$C_{27}H_{29}NO_{11} \cdot HCl$ PM: 580,0 56390-09-1

Definición - Clorhidrato de Epirubicina es Clorhidrato de (8*S*-*cis*)-10-[(3-amino-2,3,6-trideoxi- α -*L*-arabino-hexopiranosil)oxi]-7,8,9,10-tetrahidro-6,8,11-trihidroxi-8-(hidroxiacetil)-1-metoxi-5,12-naftacenodiona. Es obtenida por transformación química de una sustancia producida por *Streptomyces peucetius*. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{27}H_{29}NO_{11} \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo rojo-anaranjado. Soluble en agua y metanol; poco soluble en alcohol absoluto; prácticamente insoluble en acetona.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Epirubicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto, en un refrigerador.

Precaución - Evitar el contacto y su inhalación.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Preparación estándar*.

C - Disolver aproximadamente 10 mg de Clorhidrato de Epirubicina en 0,5 ml de ácido nítrico, agregar 0,5 ml de agua y calentar a la llama durante 2 minutos. Dejar enfriar y agregar 0,5 ml de nitrato de plata al 42,5 %: se debe formar un precipitado blanco.

Determinación del pH <250>

Entre 4,0 y 5,5; determinado sobre una solución de aproximadamente 5 mg por ml en agua libre de dióxido de carbono.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 4,0 %; determinado sobre 100 mg.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Solución de resolución - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* preparada según se indica en *Valoración*.

Solución estándar A - Diluir 1,0 ml de *Solución muestra* a 100 ml con *Fase móvil*.

Solución estándar B - Disolver 10 mg de *Clorhidrato de Doxorubicina* en una mezcla de 5 ml de agua y 5 ml de ácido fosfórico al 87 % p/p. Dejar reposar durante 30 minutos y ajustar a pH 2,6 con hidróxido de sodio al 8,0 % p/v. Agregar 15 ml de acetonitrilo, 10 ml de metanol y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de epirubicina y doxorubicina no debe ser menor de 2,0. Cromatografiar la *Solución estándar B* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: [NOTA: considerar que el segundo pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar B* corresponde a doxorubicinona] el tiempo de retención para el pico de epirubicina debe ser aproximadamente 9,5 minutos; los tiempos de retención relativos al pico de epirubicina son aproximadamente los indicados en la siguiente tabla:

Nombre	Tiempo de retención relativo
(8 <i>S</i> ,10 <i>S</i>)-6,8,10,11-tetrahidroxi-8-(hidroxiacetil)-1-metoxi-7,8,9,10-tetrahidrotetraceno-5,12-diona (Doxorubicinona)	0,3
(8 <i>S</i> ,10 <i>S</i>)-8-acetil-6,8,10,11-tetrahidroxi-1-metoxi-7,8,9,10-tetrahidrotetraceno-5,12-diona (Daunorubicinona)	0,4
Doxorubicina	0,8
(8 <i>S</i> ,10 <i>S</i>)-10-[(3-amino-2,3,6-trideoxi- α - <i>L</i> -lyxo-hexopiranosil)oxi]-6,8,11-trihidroxi-8-[(1 <i>R</i> <i>S</i>)-1-hidroxi-etil]-1-metoxi-7,8,9,10-tetrahidrotetraceno-5,12-diona (dihidrodaunorubicina) y epímero	1,1
Daunorubicina	1,5
(8 <i>S</i> ,10 <i>S</i>)-8-acetil-10-[(3-amino-2,3,6-trideoxi- α - <i>L</i> -arabino-hexopiranosil)oxi]-6,8,11-trihidroxi-1-metoxi-7,8,9,10-tetrahidrotetraceno-5,12-diona (epi-daunorubicina)	1,7

8,8'-[(2*R*,4*R*)-4-hidroxi-2-(hidroximetil)-1,3-dioxolan-2,4-diil]bis[(8*S*,10*S*)-10-[(3-amino-2,3,6-trideoxi- α -*L*-arabino-hexopiranosil)oxi]-6,8,11-trihidroxi-1-metoxi-7,8,9,10-tetrahidrotetracen-5,12-diona (dímero de epirubicina)]

2,1

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Solución estándar A* y la *Solución muestra*. Registrar los cromatogramas durante al menos 3,5 veces el tiempo de retención del pico de epirubicina en la *Solución muestra* y medir las respuestas de todos los picos. [NOTA: para el cálculo del contenido multiplicar la respuesta del pico de doxorubicinona por 0,7]. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta del pico correspondiente a doxorubicinona no debe ser mayor a la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (1,0 %); la respuesta del pico correspondiente a doxorubicina no debe ser mayor a la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (1,0 %); ninguna otra impureza individual debe ser mayor a 0,5 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (0,5 %); y la suma de todas las impurezas no debe ser mayor a dos veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (2,0 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor a 0,05 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (0,05 %).

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que Clorhidrato de Epirubicina está destinado a la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral, no debe contener más de 1,1 Unidades de Endotoxinas por mg de Clorhidrato de Epirubicina.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por trimetilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 6 μ m de diámetro. Mantener la columna a 35 °C. El caudal debe ser aproximadamente 2,5 ml por minuto.

Solución de laurilsulfato de sodio y ácido fosfórico - Preparar una solución que contenga 0,37 % p/v de laurilsulfato de sodio y 2,8 % p/v de ácido fosfórico diluido 2 M.

Fase móvil - *Solución de laurilsulfato de sodio y ácido fosfórico*, acetonitrilo y metanol (54:29:17). Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de resolución - Disolver 10 mg de Clorhidrato de Epirubicina SR-FA y 10 mg de Clorhidrato de Doxorubicina en *Fase móvil*, transferir a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Clorhidrato de Epirubicina SR-FA y transferir a un matraz aforado de 25 ml. Disolver en *Fase móvil*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Clorhidrato de Epirubicina y transferir a un matraz aforado de 25 ml. Disolver en *Fase móvil*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

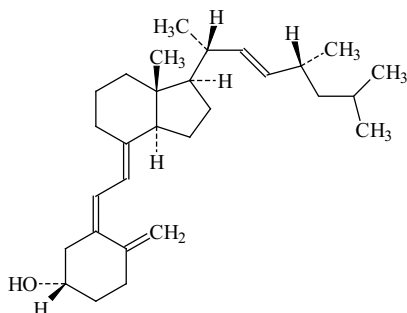
Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de epirubicina y doxorubicina no debe ser menor de 2,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₂₇H₂₉NO₁₁·HCl en la porción de Clorhidrato de Epirubicina en ensayo.

ROTULADO

Cuando Clorhidrato de Epirubicina esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral indicar en el rótulo que está libre de endotoxinas.

ERGOCALCIFEROL



$C_{28}H_{44}O$ PM: 396,7 50-14-6

Sinonimias - Calciferol. Vitamina D_2 .

Definición - Ergocalciferol es (3 β ,5Z,7E, 22E)-9,10-Secoergosta-5,7,10(19),22-tetraen-3-ol. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_{28}H_{44}O$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales blancos, inodoros. Se altera por exposición a la luz, al aire y al calor. Soluble en alcohol, cloroformo, éter y en aceites grasos; insoluble en agua.

Sustancias de referencia - Ergocalciferol SR-FA. Vitamina D para Aptitud del Sistema de Valoración SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos herméticos, bajo nitrógeno y en un sitio fresco.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.* Registrar el espectro entre 2 y 12 μ m.

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: alcohol.

Concentración: 10 μ g por ml.

Las absortividades a 265 nm, calculada sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

C - Disolver aproximadamente 0,5 mg de Ergocalciferol en 5 ml de cloroformo, agregar 0,3 ml de anhídrido acético y 0,1 ml de ácido sulfúrico y agitar vigorosamente: se debe producir un color rojo brillante que rápidamente se torna violeta y luego cambia de azul a verde.

Determinación del punto de fusión <260>

Método I. Colocar la muestra en un envase cerrado y enfriarla a 10 °C o a una temperatura

inferior, durante no menos de 2 horas. Sin pulverización previa, cargar el material enfriado en un tubo capilar, luego colocar de inmediato el tubo capilar cargado en un desecador al vacío y secar a una presión que no exceda los 20 mm Hg durante 3 horas. Inmediatamente después de retirar el desecador, sellar a la llama el extremo abierto del tubo y proceder lo antes posible con la determinación del punto de fusión del siguiente modo: calentar el baño hasta alcanzar una temperatura de 10 ± 1 °C por debajo del punto de fusión esperado, luego introducir el tubo cargado y calentar a una velocidad de ascenso de $3,0 \pm 0,5$ °C por minuto hasta completar la fusión. Si el tamaño de partícula del material es demasiado grande para el capilar, enfriar previamente la muestra como se indicó anteriormente. Luego, aplicando la menor presión posible, romper cuidadosamente las partículas a un tamaño apropiado para que entren en el capilar. Debe fundir entre 115 y 119 °C.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +103° y +106°.

Solución muestra: 15 mg por ml, en alcohol.

[NOTA: preparar la solución rápidamente, empleando Ergocalciferol de un envase que lleve abierto no más de 30 minutos y proceder a la determinación dentro de los 30 minutos posteriores a la preparación de la solución.]

Sustancias reductoras

A 10 ml de una solución de Ergosterol en alcohol absoluto 1 en 100, agregar 0,5 ml de una solución de azul de tetrazolio (SR). Luego agregar 0,5 ml de una solución de hidróxido de tetrametilamonio (SR) en alcohol absoluto 1 en 10. Dejar reposar la mezcla durante exactamente 5 minutos y luego agregar 1 ml de ácido acético glacial. Preparar un blanco tratando 10 ml de alcohol absoluto del mismo modo. Determinar la absorbancia de la solución a 525 nm, con un espectrofotómetro apropiado, contra el blanco: la absorbancia no debe ser mayor que la obtenida a partir de una solución de aproximadamente 0,2 μ g por ml de hidroquinona en alcohol absoluto, tratado de forma similar.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por partículas porosas de sílice de 5 a 10 μ m de

diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Hexano deshidratado - Preparar una columna cromatográfica empacando un tubo cromatográfico de 60 cm × 8 cm, con 500 g de tierra silicea para cromatografía, con un tamaño de partícula de 50 a 250 µm, activada por secado a 150 °C durante 4 horas (ver *Cromatografía de adsorción en columna* en 100. *Cromatografía*). Pasar 500 ml de hexano a través de la columna y recolectar el eluido en un recipiente con tapa de vidrio.

Fase móvil - Alcohol *n*-amílico en *Hexano Deshidratado* (3 en 1.000). Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de aptitud del sistema - Disolver aproximadamente 250 mg de Vitamina D para Aptitud del Sistema de Valoración SR-FA en 10 ml de una mezcla de tolueno y *Fase móvil* (50:50). Calentar esta solución a reflujo a 90 °C durante 45 minutos y enfriar. Esta solución contiene colecalciferol, pre-colecalciferol y *trans*-colecalciferol.

Preparación estándar - [NOTA: emplear material de vidrio inactínico y preparar las soluciones en el día de su uso]. Pesar exactamente alrededor de 30 mg de Ergocalciferol SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en tolueno sin calentar, completar a volumen con tolueno y mezclar. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 120 µg por ml.

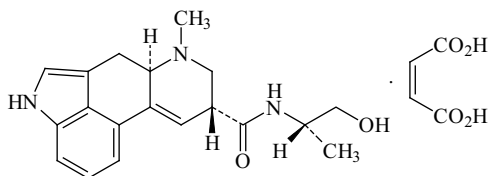
Preparación muestra - [NOTA: emplear material de vidrio inactínico y preparar las soluciones en el día de su uso]. Pesar exactamente alrededor de 30 mg de Ergocalciferol, transferir a un matraz aforado de 50 ml y proceder según se indica para *Preparación estándar*, comenzando donde dice: “*disolver en tolueno sin calentar...*”, para obtener una solución de aproximadamente 120 µg por ml.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de *trans*-colecalciferol y pre-colecalciferol no debe ser menor de 1; los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,4 para pre-colecalciferol, 0,5 para *trans*-colecalciferol y 1,0 para colecalciferol; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (entre 5 y 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación*

muestra, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₂₈H₄₄O en la porción de Ergocalciferol en ensayo.

ERGOMETRINA, MALEATO DE



$C_{23}H_{27}N_3O_6$

PM: 441,5

Sinonimia - Ergonovina, Maleato de

Definición - Maleato de Ergometrina es Maleato de [8 α (S)]-9,10-dihidro-N-(2-hidroxi-1-metiletil)-6-metilergolinocarboxamida. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{23}H_{27}N_3O_6$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Moderadamente soluble en agua; poco soluble en alcohol; prácticamente insoluble en éter.

Sustancia de referencia - Maleato de Ergometrina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de vidrio, herméticamente cerrados. En sitio frío.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Sustancias relacionadas*. La mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra B* se debe corresponder en valor de R_f , color y tamaño a la mancha principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar A*.

Determinación del pH <250>

Entre 3,6 y 4,4, determinado sobre una solución de aproximadamente 10 mg por ml.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +50° y +56°.

Solución muestra: 10 mg por ml.

Pérdida por secado <680>

Secar 200 mg de Maleato de Ergometrina sobre pentóxido de difósforo a 80 °C durante 2 horas y a una presión que no exceda los 20 mm Hg; no debe perder más de 2 % de su peso.

Sustancias relacionadas

[NOTA: realizar todas las operaciones tan rápidamente como sea posible y protegidas de la luz. Preparar las *Soluciones muestra y estándar* en el momento de su uso].

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol y agua (75:25:3).

Diluyente - Alcohol al 80 % v/v y amoníaco concentrado (9:1).

Solución muestra A - Disolver 50 mg de Maleato de Ergometrina en *Diluyente* y diluir a 5 ml con el mismo solvente.

Solución muestra B - Diluir 1,0 ml de la *Solución muestra A* a 10 ml con *Diluyente*.

Solución estándar A - Disolver 10 mg de Maleato de Ergometrina SR-FA en *Diluyente* y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Diluir 5 ml de la *Solución estándar A* a 50 ml con *Diluyente*.

Solución estándar C - A 2 ml de la *Solución estándar B* agregar 2,0 ml de *Diluyente*.

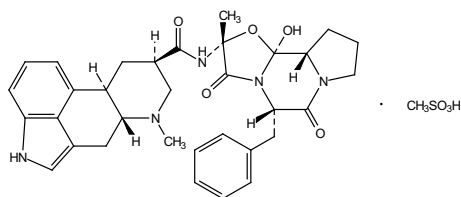
Revelador - Disolver 1 g de dimetilaminabenzaldehído en 50 ml de ácido clorhídrico y agregar 50 ml de alcohol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 μ l de las *Soluciones muestra A y B* y 5 μ l de las *Soluciones estándar A, B y C*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Secar la placa en una corriente de aire frío. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y secar nuevamente en una corriente de aire templado durante aproximadamente 2 minutos. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra A*, ninguna mancha, a excepción la mancha principal, debe ser más intensa que la mancha principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar B* (1,0 %); y sólo una de ellas puede ser más intensa que la mancha principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar C* (0,5 %).

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 150 mg de Maleato de Ergometrina y disolver en 40 ml de ácido acético anhidro. Titular con ácido perclórico 0,05 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,05 N equivale a 22,07 mg de $C_{23}H_{27}N_3O_6$.

ERGOTAMINA, MESILATO DE DIHIDRO



$C_{33}H_{37}N_5O_5 \cdot CH_4O_3S$ PM: 679,8 6190-39-2

Definición - Mesilato de Dihidroergotamina es Monometansulfonato de 9,10-dihidro-12'-hidroxi-2'-metil-5'-(fenilmetil)-ergotaman-3',6',18-triona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_{33}H_{37}N_5O_5 \cdot CH_4O_3S$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco, de olor débil. Soluble en alcohol; poco soluble en agua y cloroformo.

Sustancia de referencia - Mesilato de Dihidroergotamina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: alcohol al 70 %.

Concentración: 50 µg por ml.

Las absorptividades a 280 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

C - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Alcaloides relacionados*. El valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución madre del estándar*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -37° y -43° , determinado sobre la sustancia seca.

Solución muestra: disolver 250 mg de Mesilato de Dihidroergotamina en 25 ml de piridina seca.

Determinación del pH <250>

Entre 4,4 y 5,4, determinado sobre una solución 1 en 1.000.

.Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a $100^\circ C$ hasta peso constante: no debe perder más de 4,0 % de su peso.

Alcaloides relacionados

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo y alcohol (9:1).

Diluyente - Cloroformo, metanol e hidróxido de amonio (10:10:1).

Solución madre del estándar - Preparar una solución de Mesilato de Dihidroergotamina SR-FA en *Diluyente* de aproximadamente 20 mg por ml.

Soluciones estándar - Diluir cuantitativamente y en etapas la *Solución madre del estándar* con *Diluyente* para obtener tres *Soluciones estándar* con las siguientes concentraciones:

Solución Estándar	Concentración (mg por ml)	% con respecto a la muestra
A	0,4	2,0
B	0,2	1,0
C	0,1	0,5

Solución muestra - Preparar una solución de Mesilato de Dihidroergotamina en *Diluyente* de aproximadamente 20 mg por ml.

Revelador - Disolver 800 mg de *p*-dimetilaminobenzaldehído en una mezcla fría de 80 g de alcohol y 20 g de ácido sulfúrico.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de la *Solución muestra*, 5 µl de la *Solución madre del estándar* y 5 µl de las *Soluciones estándar A, B y C*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que se evapore. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución madre del estándar*. Estimar la concentración de cualquier otra mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* por comparación con las manchas obtenidas con las *Soluciones estándar A, B y C*: la suma de las impurezas no debe ser mayor de 2,0 %.

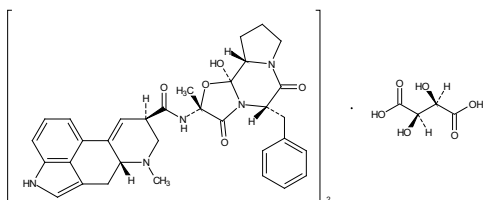
VALORACIÓN

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Mesilato de Dihidroergotamina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 200 ml, agregar 2 ml de metanol, completar a volumen con solución de ácido tartárico 1 en 100 y mezclar.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Mesilato de Dihidroergotamina, transferir a un matraz aforado de 200 ml, agregar 2 ml de metanol, completar a volumen con solución de ácido tartárico 1 en 100 y mezclar.

Procedimiento - Transferir a sendos erlenmeyers 3,0 ml de *Preparación estándar*, 3,0 ml de *Preparación muestra* y 3,0 ml de solución de ácido tartárico 1 en 100 para preparar un blanco. Agregar a cada uno 6,0 ml de *p*-dimetilaminobenzaldehído (SR), agitar y dejar reposar durante 20 minutos. Determinar concomitantemente las absorbancias de estas soluciones obtenidas a partir de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 585 nm, con un espectrofotómetro, contra el blanco. Calcular la cantidad de $C_{33}H_{37}N_5O_5 \cdot CH_4O_3S$ en la porción de Mesilato de Dihidroergotamina en ensayo.

ERGOTAMINA, TARTRATO DE



$(C_{33}H_{35}N_5O_5)_2 \cdot C_4H_6O_6$ PM: 1.313,4 379-79-3

Definición - Tartrato de Ergotamina es Tartrato de 12'-hidroxi-2'-metil-5' α -(fenilmetil)-ergotaman-3',6',18-triona. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $(C_{33}H_{35}N_5O_5)_2 \cdot C_4H_6O_6$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco o cristales incoloros, ligeramente higroscópico. Poco soluble en alcohol; prácticamente insoluble en éter. Sus soluciones acuosas se enturbian poco a poco por hidrólisis, lo cual se puede evitar agregando ácido tartárico.

Sustancia de referencia - Tartrato de Ergotamina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados, en un sitio frío.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Alcaloides relacionados*. El cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe presentar una mancha fluorescente y una mancha azul con el mismo valor de R_f que la mancha principal obtenida con la *Solución madre del estándar*.

Rotación específica de ergotamina base (ver 170. *Determinación de la rotación óptica*)

[NOTA: emplear cloroformo al cual se le ha extraído el alcohol mediante un lavado previo con agua].

A partir de la rotación angular de la solución y la concentración de ergotamina base, calcular la rotación específica de la base: debe ser entre -155° y -165° .

Solución muestra - Disolver 350 mg de Tartrato de Ergotamina en 25 ml de solución de ácido tartárico 1 en 100, dentro de una ampolla de decantación. Agregar y disolver 500 mg de bicarbonato de

sodio y mezclar suavemente. Agregar 10 ml de cloroformo, agitar vigorosamente y una vez que las capas se hayan separado transferir la fase clorofórmica, a través de un filtro pequeño previamente humedecido con cloroformo, a un matraz aforado de 50 ml. Rápidamente continuar la extracción con tres porciones de 10 ml de cloroformo, pasando los extractos a través del mismo filtro. Colocar el matraz en un baño a $20^\circ C$ durante 10 minutos y ajustar el volumen del extracto a 50,0 ml, a $20^\circ C$, mediante el agregado de cloroformo. Mezclar la solución y determinar la rotación angular a $20^\circ C$. Determinar la concentración de ergotamina en la solución clorofórmica mediante la evaporación de una alícuota de 25,0 ml de la solución en un evaporador rotatorio hasta sequedad, manteniendo la temperatura del baño por debajo de los $45^\circ C$. Disolver el residuo en 25 ml de ácido acético glacial, agregar 1 gota de cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,05 N (SV) hasta punto final verde azulado. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,05 N equivale a 29,08 mg de $C_{33}H_{35}N_5O_5$.

Pérdida por secado <680>

Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Tartrato de Ergotamina y secar al vacío a $60^\circ C$ durante 4 horas: no debe perder más de 5,0 % de su peso.

Alcaloides relacionados

[NOTA: realizar este ensayo sin exposición a la luz diurna y con la mínima exposición necesaria a la luz artificial].

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Éter, dimetilformamida, cloroformo y alcohol absoluto (70:15:10:5).

Diluyente - Cloroformo y metanol (9:1).

Solución madre del estándar - Preparar una solución de Tartrato de Ergotamina SR-FA en *Diluyente* de aproximadamente 10,0 mg por ml.

Soluciones estándar A, B, C y D - Preparar diluciones de la *Solución madre del estándar* en *Diluyente* con las siguientes concentraciones:

Solución estándar	Concentración (mg por ml)	% con respecto a la muestra
A	0,2	2,0
B	0,1	1,0
C	0,05	0,5
D	0,025	0,25

Solución muestra - Disolver 50,0 mg de Tartrato de Ergotamina en 5,0 ml de *Diluyente*.

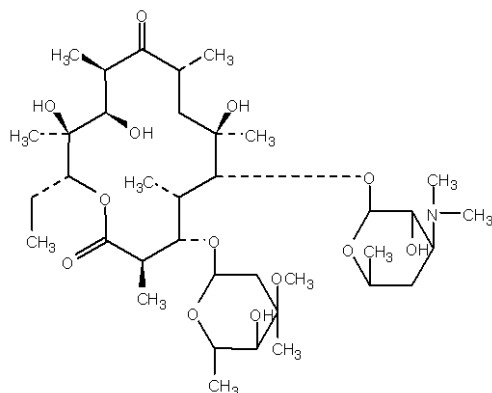
Revelador - Emplear una solución recientemente preparada de 200 mg de *p*-(dimetilamino)benzaldehído en una mezcla de 5,5 ml de ácido clorhídrico y 4,5 ml de agua.

Procedimiento - Equilibrar la cámara durante 15 minutos y aplicar por separado sobre la placa 5 μ l de la *Solución muestra*, 5 μ l de la *Solución madre del estándar* y 5 μ l de cada una de las *Soluciones estándar A, B, C y D*. Exponer las aplicaciones a la acción de vapores de amoníaco durante 20 segundos, a continuación dejar que la placa se seque en una corriente de aire frío durante 20 segundos. Desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore en una corriente de aire frío durante aproximadamente 2 minutos. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y secar a 60 °C durante aproximadamente 5 minutos: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución madre del estándar*; la suma de las intensidades de todas las manchas secundarias en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la intensidad de la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A* (2,0 %); y la intensidad de solo una de las manchas secundarias puede ser mayor que la correspondiente a la mancha principal de la *Solución estándar B* (1,0 %).

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Tartrato de Ergotamina y disolver en 40 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,05 N (SV) determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,05 N equivale a 32,84 mg de $(C_{33}H_{35}N_5O_5)_2 \cdot C_4H_6O_6$.

ERITROMICINA



Eritromicina A

$C_{37}H_{67}NO_{13}$

PM: 733,9

114-07-8

Definición - Eritromicina es una mezcla de antibióticos macrólidos producidos por una cepa de *Streptomyces erythreus*, siendo el componente principal de la mezcla la (3*R**,4*S**,5*S**,6*R**,7*R**,9*R**,11*R**,12*R**,13*S**,14*R**)-4-[(2,6-Dideoxi-3-*C*-metil-3-*O*-metil- α -*L*-ribo-hexapiranosil)oxi]-14-etil-7,12,13-trihidroxi-3,5,7,9,11,13-hexametil-6-[[3,4,6-trideoxi-3-(dimetilamino)- β -*D*-xilo-hexapiranosil]oxi]oxaciclotetradecano-2,10-diona (eritromicina A). Debe tener una potencia equivalente a no menos de 850 μ g de eritromicina ($C_{37}H_{67}NO_{13}$) por mg, calculada sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o ligeramente amarillo. Inodoro. Soluble en alcohol, cloroformo, acetona y acetato de etilo; moderadamente soluble en éter y cloruro de metileno; poco soluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Eritromicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. *En solución.* Preparar una solución clorofórmica con una concentración de 50 mg por ml de Eritromicina previamente secada a una presión que no exceda los 5 mm Hg, a 60 °C durante 3 horas. El espectro de absorción infrarroja, determinado en una celda de 0,1 mm, debe presentar máximos sólo a las mismas longitudes de onda que una preparación similar de Eritro-

micina SR-FA, excepto en la región entre 1.980 y 2.050 cm^{-1} .

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -71° y -78°; determinada luego de dejar la solución en reposo durante 30 minutos.

Solución muestra: 20 mg por ml, en alcohol absoluto.

Determinación del pH <250>

Entre 8,0 y 10,5, determinado sobre una solución de aproximadamente 0,7 mg por ml.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 10,0 %, empleando 20 ml de metanol con 10 % de imidazol en lugar de metanol en el recipiente de titulación.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Cristalinidad

Colocar partículas de Eritromicina en aceite mineral sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas deben presentar birrefringencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

Límite de tiocianato

[NOTA: emplear material de vidrio inactínico.]

Soluciones estándar - Pesar exactamente dos porciones de alrededor de 100 mg de tiocianato de potasio previamente secado a 105 °C durante 1 hora. Transferir las dos porciones a sendos matraces aforados de 50 ml. Agregar aproximadamente 20 ml de metanol a cada matraz, agitar por rotación hasta disolver, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Transferir 5,0 ml de cada una de estas soluciones a sendos matraces aforados de 50 ml, completar a volumen con metanol y mezclar. Transferir 5,0 ml de cada una de estas soluciones a sendos matraces aforados de 50 ml. A cada matraz, agregar 1,0 ml de cloruro férrico (SR), completar a volumen con metanol y mezclar. [NOTA: emplear estas soluciones dentro de los 30 minutos de su preparación.]

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Eritromicina, transferir a un matraz aforado de 50 ml. Agregar 20 ml de metanol y agitar por rotación hasta disolver. Agregar 1,0 ml de cloruro férrico (SR), completar a volumen con metanol y mezclar. [NOTA: emplear esta solución dentro de los 30 minutos de su preparación.]

Solución blanco - Transferir 1,0 ml de cloruro férrico (SR) a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con metanol y mezclar. [NOTA:

emplear esta solución dentro de los 30 minutos de su preparación.]

Procedimiento - Determinar concomitantemente las absorbancias de cada *Solución estándar* y de la *Solución muestra* a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 492 nm, con un espectrofotómetro, empleando la *Solución blanco*. Calcular el factor de aptitud S por la fórmula siguiente:

$$(A_1/P_1)(P_2/A_2)$$

en la cual A_1 y A_2 son las absorbancias obtenidas a partir de las respectivas *Soluciones estándar*, P_1 y P_2 son los pesos en mg de tiocianato de potasio empleados para preparar las *Soluciones estándar* correspondientes. El factor S no debe ser menor de 0,985 y no debe ser mayor de 1,015. Calcular el porcentaje de tiocianato en la porción de Eritromicina en ensayo, por la fórmula siguiente:

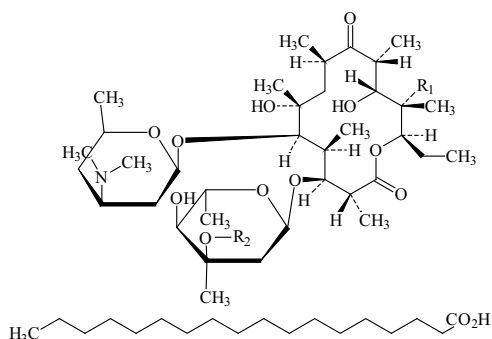
$$0,5(A_M/P_M)(58,08/97,18)[(P_1/A_1) + (P_2/A_2)]$$

en la cual 58,08 y 97,18 son los pesos moleculares de tiocianato y tiocianato de potasio, respectivamente, A_M es la absorbancia de la *Solución muestra*, P_M es el peso en mg de Eritromicina empleado para preparar la *Solución muestra* y los restantes términos son los definidos anteriormente: no debe contener más de 0,3 %.

VALORACIÓN

Proceder con Eritromicina según se indica para *Eritromicina* en 770. *Valoración microbiológica de antibióticos*.

ERITROMICINA, ESTEARATO DE



$C_{55}H_{103}NO_{15}$ PM: 1.018 643-22-1

Eritromicina	FM	R ₁	R ₂
A	$C_{55}H_{103}NO_{15}$	-OH	-CH ₃
B	$C_{55}H_{103}NO_{14}$	-H	-CH ₃
C	$C_{54}H_{101}NO_{15}$	-OH	-H

Definición - Estearato de Eritromicina es una mezcla de octadecanoatos de eritromicina y ácido esteárico. El componente principal es el octadecanoato de (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,11*R*,12*R*,13*S*,14*R*)-6-[[3-(dimetilamino)-3,4,6-tridesoxi-β-*D*-xilohexapiranosil]oxi]-14-etil-7,12,13-trihidroxi-3,5,7,9,11,13-hexametil-4-[(3-*C*-metil-3-*O*-metil-2,6-didesoxi-α-*L*-ribohexapiranosil)oxi]oxacictetradecano-2,10-diona (Eritromicina A). Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de la suma de Eritromicinas A, B y C expresado como sales de estearato, calculado sobre la sustancia anhidra y libre de ácido esteárico. Estearato de Eritromicina debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco. Soluble en acetona y metanol; prácticamente insoluble en agua. Sus soluciones pueden presentar opalescencia.

Sustancias de referencia - Estearato de Eritromicina SR-FA. Eritromicina A SR-FA. Eritromicina B SR-FA. Eritromicina C SR-FA. *N*-Desmetileritromicina A SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

- A** - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*
B - Emplear la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Solución de acetato de amonio - Preparar una solución de aproximadamente 150 g por litro y ajustar a pH 9,6 con amoniaco.

Fase móvil - Acetato de etilo, *Solución de acetato de amonio* y 2-propanol (9:8:4).

Solución estándar A - Disolver 20 mg de Eritromicina A SR-FA en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 10 mg de ácido esteárico en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución muestra - Disolver 28 mg de Estearato de Eritromicina en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Revelador 1 - Solución de diclorofluoresceína de aproximadamente 0,2 g por litro y solución de rodamina B de aproximadamente 0,1 g por litro en alcohol.

Revelador 2 - Anisaldehído (SR).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 μl de la *Solución muestra* y 5 μl de las *Soluciones estándar A* y *B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Dejar secar la placa al aire y pulverizar sobre la placa con *Revelador 1*. Mantener la placa durante unos segundos en el vapor de un baño de agua y examinar bajo luz ultravioleta a 366 nm: el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe presentar dos manchas, una con un valor de *R_f* similar a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A* y la otra con un valor de *R_f* similar a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar B*. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 2*, calentar a 110 °C durante 5 minutos y examinar bajo luz natural: la mancha coloreada obtenida a partir de la *Solución muestra* debe ser similar en valor de *R_f*, tamaño y color a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A*.

Ácido esteárico libre

Disolver 400 mg de Estearato de Eritromicina en 50 ml de metanol y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Calcular el volumen de hidróxido de sodio 0,1 N consumido por gramo de Estearato de Eritromicina (*n*₁ ml). Disolver 500 mg de Estearato de Eritromicina en 30 ml de cloruro de metileno. Si la solución es opalescente, filtrar y agitar el residuo con tres porciones de 25 ml de cloruro de metileno. Filtrar si fuera necesario y

lavar el residuo con cloruro de metileno. Combinar el filtrado y los líquidos de lavado y evaporar hasta 30 ml. Agregar 50 ml de ácido acético glacial y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Calcular el volumen consumido de ácido perclórico 0,1 N por gramo de Estearato de Eritromicina (n_2 ml). Calcular la cantidad en porcentaje de $C_{18}H_{36}O_2$ en la porción de Estearato de Eritromicina en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$2,845(n_1 - n_2)$$

No debe contener más de 14,0 % de $C_{18}H_{36}O_2$, calculado sobre la sustancia anhidra.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Fase móvil Diluyente, Preparación estándar A, Preparación estándar C y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* preparada según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Diluir 3,0 ml de la *Preparación estándar A* a 100 ml con una mezcla de metanol y *Diluyente* (1:1).

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 100 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas durante al menos cinco veces el tiempo de retención del pico de eritromicina A y medir las respuestas de todos los picos: a excepción de los picos correspondientes a Eritromicina A, Eritromicina B y Eritromicina C en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta de ningún pico debe ser mayor que la respuesta del pico principal obtenida con la *Solución estándar* (3,0 %). La suma de los contenidos de Estearato de Eritromicina B y Estearato de Eritromicina C no debe ser mayor de 5,0 %.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa - No más de 4,0 %, determinada sobre 300 mg de Estearato de Eritromicina y empleando como solvente una solución de imidazol en metanol anhidro de aproximadamente 100 g por litro.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,5 %.

VALORACIÓN

[NOTA: la *Preparación muestra* y las *Preparaciones estándar* pueden ser usadas dentro de las 24 horas de preparadas si se conservan a 5 °C].

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 215 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida

por copolímero rígido, esférico de divinilbenceno y estireno, de 8 a 10 μ m de diámetro con un tamaño de poro de 100 nm. Mantener la columna y al menos la tercera parte del tubo que precede a la columna a 70 °C. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - A 50 ml de una solución de fosfato ácido de potasio al 3,5 % ajustada a pH 9,0 con ácido fosfórico diluido, agregar 400 ml de agua, 165 ml de 2-metil-2-propanol y 30 ml de acetonitrilo y diluir a 1 litro con agua.

Diluyente - Transferir 20 g de fosfato dibásico de potasio a un matraz aforado de 1 litro, agregar 900 ml de agua, ajustar a pH 8,0 con ácido fosfórico y completar a volumen con agua.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 55 mg de Estearato de Eritromicina, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver en 5 ml de metanol y completar a volumen con *Diluyente*.

Preparación estándar A - Pesar exactamente alrededor de 40 mg de Eritromicina A SR-FA, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver en 5 ml de metanol y completar a volumen con *Diluyente*.

Preparación estándar B - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Eritromicina B SR-FA y 10 mg de Eritromicina C SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en 25 ml de metanol y completar a volumen con *Diluyente*.

Preparación estándar C - Pesar exactamente alrededor de 5 mg de *N*-Desmetileritromicina A SR-FA, transferir a un matraz aforado de 25 ml y disolver en la *Preparación estándar B*. Agregar 1 ml de *Preparación estándar A* y completar a volumen con la *Preparación estándar B*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar C* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el orden de elución debe ser: *N*-desmetileritromicina A, eritromicina C, eritromicina A y eritromicina B; la resolución *R* entre los picos de *N*-desmetileritromicina A y eritromicina C no debe ser menor de 0,8; la resolución *R* entre los picos de *N*-desmetileritromicina A y eritromicina A no debe ser menor de 5,5. Cromatografiar la *Preparación estándar A* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para la respuesta del pico de eritromicina A no debe ser mayor de 2,0 %.

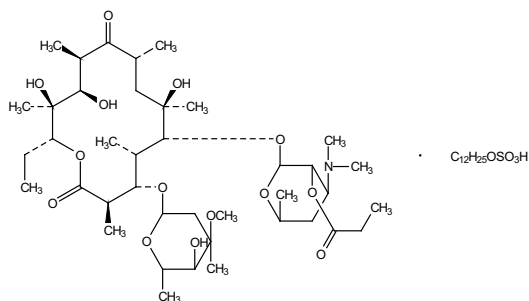
Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 100 μ l) de las *Preparaciones estándar A* y *B* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales.

Calcular la cantidad en porcentaje de Eritromicina A a partir del cromatograma obtenido con la *Preparación estándar A* y expresar el resultado

como Estearato de Eritromicina A multiplicando el contenido en porcentaje de Eritromicina A por 1,387.

Calcular la cantidad en porcentaje de Eritromicina B y Eritromicina C a partir del cromatograma obtenido con la *Preparación estándar B* y expresar el resultado como Estearato de Eritromicina B y Estearato de Eritromicina C multiplicando los valores de Eritromicina B y Eritromicina C, según corresponda, por 1,387.

ERITROMICINA, ESTOLATO DE



$C_{40}H_{71}NO_{14} \cdot C_{12}H_{22}O_4S$ PM: 1056,4 3521-62-8

Definición - Estolato de Eritromicina es Dodecil sulfato de 2'-propanoato de eritromicina. Debe tener una potencia equivalente a no menos de 600 μ g de eritromicina ($C_{37}H_{67}NO_{13}$) por mg, calculada sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco, inodoro. Soluble en alcohol, acetona y cloroformo; prácticamente insoluble en agua.

Sustancias de referencia - Estolato de Eritromicina SR-FA. Eritromicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Disolver aproximadamente 10 mg de Estolato de Eritromicina en 5 ml de ácido clorhídrico al 25 % p/v. Dejar reposar entre 10 a 20 minutos: se debe desarrollar color amarillo.

Cristalinidad

Colocar partículas de Estolato de Eritromicina en aceite mineral sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas deben presentar birrefringencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 7,0, determinado sobre una suspensión acuosa de 10 mg por ml.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 4,0 %, empleando 20 ml de metanol con 10 % de imidazol en lugar de emplear metanol en el recipiente de titulación.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, alcohol y una solución de acetato de amonio al 15 % previamente ajustada a pH 7,0 (85:15:1).

Solución estándar - Disolver 8 mg de Eritromicina SR-FA en acetona y diluir a 100 ml con el mismo solvente.

Solución muestra - Disolver 40 mg de Estolato de Eritromicina en acetona y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

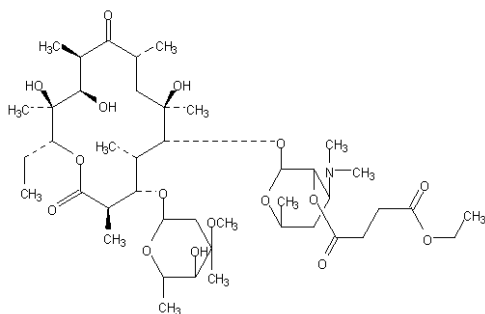
Revelador - Preparar una solución mezclando 0,5 ml de *p*-anisaldehído, 10 ml de ácido acético glacial, 85 ml de metanol y 5 ml de ácido sulfúrico.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución estándar* y 10 μ l de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*. Calentar a 110 °C durante 5 minutos y dejar enfriar: a excepción de la mancha principal, ninguna mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser mayor en intensidad a la mancha obtenida con la *Solución estándar* (2,0 %).

VALORACIÓN

Proceder con Estolato de Eritromicina según se indica para *Eritromicina* en 770. *Valoración microbiológica de antibióticos*, empleando una cantidad exactamente pesada de Estolato de Eritromicina disuelta en metanol para obtener una solución que contenga el equivalente a 1,0 mg de eritromicina por ml. De inmediato diluir cuantitativamente con 9 volúmenes de *Solución reguladora N° 3* y dejar reposar a temperatura ambiente durante 18 horas. Diluir una porción de esta solución cuantitativamente con *Solución reguladora N° 3* para obtener una *Solución muestra diluida*.

ERITROMICINA, ETILSUCCINATO DE



$C_{43}H_{75}NO_{16}$ PM: 862,1 1264-62-6

Definición - Etilsuccinato de Eritromicina es 2'-Etil butanodioato de eritromicina. Debe tener una potencia equivalente a no menos de 765 μ g de eritromicina ($C_{37}H_{67}NO_{13}$) por mg, calculada sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o ligeramente amarillo, inodoro. Fácilmente soluble en acetona, alcohol, cloroformo, metanol y polietilenglicol; muy poco soluble en agua.

Sustancias de referencia - Eritromicina SR-FA. Etilsuccinato de Eritromicina

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En solución.*

Solvente: cloroformo.

Concentración: 1 en 100.

Paso óptico de la celda: 1,0 mm.

B - A aproximadamente 5 mg de Etilsuccinato de Eritromicina, agregar 5 ml de una solución de xantidrol al 0,02 % en una mezcla de ácido acético y ácido clorhídrico (99:1) y calentar en un baño de agua: se debe desarrollar color rojo.

Cristalinidad

[NOTA: cuando en el rótulo se indique que Etilsuccinato de Eritromicina es amorfo, esta exento de este requisito]. Colocar partículas de Etilsuccinato de Eritromicina en aceite mineral sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas presentan birrefringencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

Determinación del pH <250>

Entre 6,0 y 8,5, determinado sobre una suspensión acuosa al 1 %.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 3,0 %, empleando 20 ml de metanol con 10 % de imidazol en lugar de metanol en el recipiente de titulación.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 1,0 %, luego de someter a ignición a 550 ± 50 °C. Humedecer el residuo carbonizado con 2 ml de ácido nítrico y 5 gotas de ácido sulfúrico

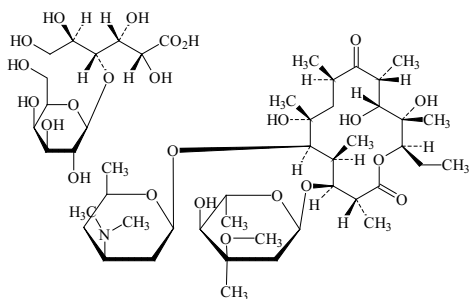
VALORACIÓN

Proceder con Etilsuccinato de Eritromicina según se indica para *Eritromicina* en 770. *Valoración microbiológica de antibióticos.*

ROTULADO

Indicar en el rótulo si el Etilsuccinato de Eritromicina es amorfo o cristalino.

ERITROMICINA, LACTOBIONATO DE



C₄₉H₈₉NO₂₅

PM: 1092

3847-29-8

Definición - Lactobionato de Eritromicina es una mezcla de Ácido-4-*O*- β -D-galactopiranosil-D-glucónico y Eritromicina (1:1). El componente principal es el 4-*O*- β -D-galactopiranosil-D-gluconato de (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,11*R*,12*R*,13*S*,14*R*)-4-[(2,6-dideoxi-3-*C*-metil-3-*O*-metil- α -L-ribo-hexapiranosil)oxi]-14-etil-7,12,13-trihidroxi-3,5,7,9,11,13-hexametil-6-[(3,4,6-trideoxi-3-dimetilamino- β -D-xilo-hexopiranosil)oxi]-oxacictetradecano-2,10-ona (Lactobionato de Eritromicina A). Debe contener no menos de 93,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de la suma de Lactobionato de Eritromicina A, B y C, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o ligeramente amarillo. Higroscópico. Fácilmente soluble en alcohol y metanol; soluble en agua; muy poco soluble en acetona y cloruro de metileno; prácticamente insoluble en éter.

Sustancias de referencia - Eritromicina A SR-FA. Eritromicina B SR-FA. Eritromicina C SR-FA. *N*-Desmetileritromicina A SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases herméticos.

ENSAYOS

Identificación

A - Emplear la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una capa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Metanol, agua y ácido acético glacial (90:10:3).

Solución muestra - Disolver 30 mg de Lactobionato de Eritromicina en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar A - Disolver 20 mg de Eritromicina A SR-FA en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 10 mg de ácido lactobiónico en agua y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Revelador - Permanganato de potasio al 0,5 % en hidróxido de sodio 1 N.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 μ l de la *Solución muestra* y 5 μ l de las *Soluciones estándar A* y *B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido tres cuartas partes de la longitud de la placa. Dejar secar al aire, pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar a 110 °C durante 5 minutos: el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe presentar dos manchas, una con un valor de *R_f* similar a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A* y la otra con un valor de *R_f* similar a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar B*.

B - Pesar alrededor de 10 mg de Lactobionato de Eritromicina y disolver en 5 ml de ácido clorhídrico: se debe producir color verde-amarillento.

Determinación del pH <250>

Entre 6,5 y 7,5; determinado sobre una solución preparada disolviendo 0,5 g de Lactobionato de Eritromicina en agua libre de dióxido de carbono y diluida a 25 ml con el mismo solvente.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 5 %, determinada sobre 200 mg de Lactobionato de Eritromicina, empleando como solvente una solución de imidazol en metanol anhidro al 10 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,5 %.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución reguladora de pH 7,0, Diluyente, Preparación estándar A, Preparación estándar C y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* preparada según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Diluir 3,0 ml de la *Preparación estándar A* a 100 ml con *Diluyente*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 100 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas durante al menos cinco veces el tiempo de retención del pico de eritromicina A y medir las respuestas de todos los

picos: a excepción de los picos correspondientes a Eritromicina A, Eritromicina B y Eritromicina C en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta de ningún pico debe ser mayor que la respuesta del pico principal obtenida con la *Solución estándar* (3,0 %). La suma de los contenidos de Lactobionato de Eritromicina B y Lactobionato de Eritromicina C no debe ser mayor de 5,0 %.

Ácido lactobiónico libre

Disolver 400 mg de Lactobionato de Eritromicina en 50 ml de agua y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Calcular el volumen de hidróxido de sodio 0,1 N consumido por gramo de Lactobionato de Eritromicina (n_1 ml). Disolver 500 mg de Lactobionato de Eritromicina en 40 ml de ácido acético glacial y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Calcular el volumen consumido de ácido perclórico 0,1 N por gramo de Lactobionato de Eritromicina (n_2 ml). Calcular la cantidad en porcentaje de $C_{12}H_{22}O_{12}$ en la porción de Lactobionato de Eritromicina en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$3,580(n_1 - n_2)$$

No debe contener más de 1,0 % de $C_{12}H_{22}O_{12}$ calculado sobre la sustancia anhidra.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando el Lactobionato de Eritromicina esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas parenterales, debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de piretógenos <340>

Cuando el Lactobionato de Eritromicina esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas parenterales, debe cumplir con los requisitos. Inyectar a cada conejo 1,0l de una solución de aproximadamente 7,4 mg de Lactobionato de Eritromicina por ml de *Agua para Inyectables* (equivalente a 5 mg de Eritromicina), por kilogramo de peso corporal.

VALORACIÓN

[NOTA: la *Preparación muestra* y las *Preparaciones estándar* pueden ser usadas dentro de las 24 horas de preparadas si se conservan a 5 °C].

Sistema cromatográfico y Fase móvil - Proceder según se indica para *Estearato de Eritromicina* en *Valoración*.

Solución reguladora de pH 7,0 - Mezclar 82,4 ml de fosfato dibásico de sodio al 7,15 % con 17,6 ml de ácido cítrico al 2,1 %p/v.

Diluyente - *Solución reguladora de pH 7,0* y metanol (3:1).

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 60 mg de Lactobionato de Eritromicina, transferir a un matraz aforado de 10 ml y disolver y completar a volumen con *Diluyente*.

Preparación estándar A - Pesar exactamente alrededor de 40 mg de Eritromicina A SR-FA, transferir a un matraz aforado de 10 ml y disolver y completar a volumen con *Diluyente*.

Preparación estándar B - Pesar exactamente alrededor de 10 mg Eritromicina B SR-FA y 10 mg de Eritromicina C SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml y disolver y completar a volumen con *Diluyente*.

Preparación estándar C - Pesar exactamente alrededor de 5 mg de *N*-Desmetileritromicina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 25 ml y disolver en la *Preparación estándar B*. Agregar 1,0l de *Preparación estándar A* y completar a volumen con la *Preparación estándar B*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar C* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el orden de elución debe ser: *N*-desmetileritromicina A, eritromicina C, eritromicina A y eritromicina B; la resolución *R* entre los picos de *N*-desmetileritromicina A y eritromicina C no debe ser menor de 0,8; la resolución *R* entre los picos de *N*-desmetileritromicina y eritromicina A no debe ser menor de 5,5. Cromatografiar la *Preparación estándar A* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para la respuesta del pico de Eritromicina A no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 100 µl) de las *Preparaciones estándar A* y *B* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales.

Calcular la cantidad en porcentaje de Eritromicina A a partir del cromatograma obtenido con la *Preparación estándar A* y expresar el resultado como Lactobionato de Eritromicina A multiplicando el contenido en porcentaje de Eritromicina A por 1,4877.

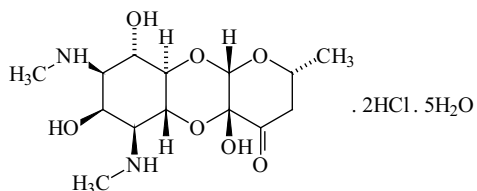
Calcular la cantidad en porcentaje de Eritromicina B y Eritromicina C a partir del cromatograma obtenido con la *Preparación estándar B* y expresar el resultado como Lactobionato de Eritromicina B y Lactobionato de Eritromicina C multiplicando los valores de Eritromicina B y Eritromicina C, según corresponda por 1,4877.

ROTULADO

Cuando el Lactobionato de Eritromicina esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas

parenterales, indicar en el rótulo que es estéril y apiretógeno.

ESPECTINOMICINA, CLORHIDRATO DE



$\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{HCl} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ PM: 495,35 22189-32-8

Definición - Clorhidrato de Espectinomicina es Diclорhidrato de [2*R*-(2 α , 4 $\alpha\beta$, 5 $\alpha\beta$, 6 β , 7 β , 8 β , 9 α , 9 $\alpha\alpha$, 10 $\alpha\beta$)]-decahidro-4*a*, 7,9-trihidroxi-2-metil-6,8-bis-(metilamino)-4*H*-piranol [2,3*b*] [1,4]benzodioxin-4-ona, pentahidrato. Debe contener una potencia equivalente a no menos de 603 μg de espectinomicina ($\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_7$) por mg y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco a castaño claro. Fácilmente soluble en agua; prácticamente insoluble en alcohol, cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Espectinomicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. [NOTA: no secar la sustancia].

B - Disolver 250 mg de Clorhidrato de Espectinomicina en 25 ml de agua libre de dióxido de carbono. Debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 3,8 y 5,6, determinado sobre una solución de aproximadamente 10 mg por ml.

Cristalinidad

Colocar partículas de Clorhidrato de Espectinomicina en aceite mineral sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas deben presentar birrefringencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 16,0 y 20,0 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 1,0 %, humedeciendo el residuo carbonizado con 2 ml de ácido nítrico y 5 gotas de ácido sulfúrico.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que el Clorhidrato de Espectinomicina es estéril o debe ser empleado para la preparación de formas farmacéuticas inyectables, no debe contener más de 0,09 Unidades de Endotoxina por mg de Espectinomicina.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que el Clorhidrato de Espectinomicina es estéril, debe cumplir con los requisitos según se indica en *Método de filtración por membrana*.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 60 cm \times 3 mm con una fase estacionaria constituida por 5 % de una mezcla de 5 % de fenil polisiloxano y 95 % de metil polisiloxano sobre un soporte de tierra silíceo para cromatografía de gases que ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C con un tamaño de malla de 80 a 100. [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido, luego se lava con agua hasta neutralidad, pero no se lava con bases. La tierra silíceo debe ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener la columna, el inyector y el detector aproximadamente a 190, 215 y 220 °C, respectivamente. Se debe emplear helio seco como gas transportador con una velocidad de flujo de aproximadamente 45 ml por minuto.

Solución del estándar interno - Disolver trifenilantimonio en dimetilformamida para obtener una solución que contenga 2 mg por ml.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 30 mg de Clorhidrato de Espectinomicina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 25 ml, agregar 10 ml de *Solución del estándar interno* y 1 ml de hexametildisilazano y agitar intermitentemente durante 1 hora.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 30 mg de Clorhidrato de Espectinomicina, transferir a un matraz aforado de 25 ml, agregar 10 ml de *Solución del estándar interno* y 1 ml de hexametildisilazano y agitar intermitentemente durante 1 hora.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos principa-

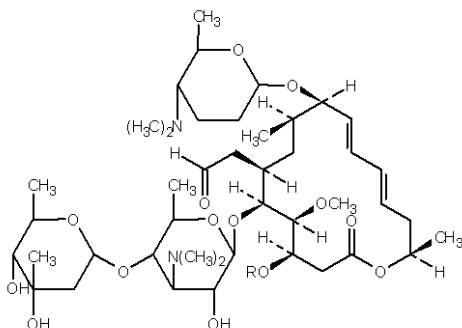
les no debe ser menor de 2,0; la desviación estándar relativa de las respuestas relativas al estándar interno, de inyecciones repetidas de la *Preparación estándar* no debe ser mayor de 3,5 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 1 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad en µg de $C_{14}H_{24}N_2O_7$ en la porción de Clorhidrato de Espectinomicina en ensayo.

ROTULADO

Cuando Clorhidrato de Espectinomicina esté destinado para la preparación de formas farmacéuticas inyectables, en el rótulo se debe indicar que es estéril.

ESPIRAMICINA



C₄₃H₇₄N₂O₁₄ PM: 843,0 8025-81-8

Espiramicina	R	FM
I	-H	C ₄₃ H ₇₄ N ₂ O ₁₄
II	-CO-CH ₃	C ₄₅ H ₇₆ N ₂ O ₁₅
III	-CO-CH ₂ -CH ₃	C ₄₆ H ₇₈ N ₂ O ₁₅

Definición - La Espiramicina es un antibiótico macrólido cuyo principal componente debe ser (4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,10*R*,11*E*,13*E*,16*R*)-6-[3,6-didesoxi-4-*O*-(2,6-didesoxi-3-*C*-metil- α -*L*-ribo-hexopiranosil)-3-dimetilamino- β -*D*-glucopiranosiloxi]-4-hidroxi-9,16-dimetil-5-metoxi-7-(2-oxoetil)-10-[(2,3,4,6-tetradesoxi-4-dimetilamino-*D*-eritrohexopiranosil)oxi]oxaciclohexadeca-11,13-dien-2-ona (Espiramicina I). Contiene también Espiramicina II (4-*O*-acetilespiramicina I) y Espiramicina III (4-*O*-propanoilespiramicina I). Debe tener una potencia de no menos de 4.100 UI por mg, calculada sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o ligeramente amarillento, ligeramente higroscópico. Fácilmente soluble en acetona, alcohol y metanol; moderadamente soluble en éter; poco soluble en agua.

Sustancia de referencia - Espiramicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases herméticos.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción ultravioleta <470>

Disolver 100 mg de Espiramicina en metanol y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Diluir 1 ml de esta solución a 100 ml con metanol. Examinar esta solución entre 220 y 350 nm: debe presentar un

máximo a 232 nm y el coeficiente de extinción específico E (1%, 1cm) a esa longitud de onda debe ser aproximadamente 340.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Emplear la fase superior de una mezcla de acetato de etilo, una solución de acetato de amonio de aproximadamente 0,15 g por ml ajustada a pH 9,6 con hidróxido de sodio y 2-propanol (9:8:4).

Solución estándar A - Disolver 40 mg de Espiramicina SR-FA en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 40 mg de *Eritromicina* en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución muestra - Disolver 40 mg de Espiramicina en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Revelador - A 10,0 ml de anisaldehído agregar 90 ml de alcohol, mezclar, agregar 10,0 ml de ácido sulfúrico y mezclar nuevamente.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 μ l de las *Soluciones estándar A* y *B* y 5 μ l de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar a 110 °C durante 5 minutos: la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar en valor de R_f , tamaño e intensidad a la obtenida con la *Solución estándar A*. Si en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se observan una o dos manchas con valores de R_f ligeramente superiores a los de la mancha principal, estas manchas deben ser similares en posición e intensidad a las manchas secundarias obtenidas con la *Solución estándar A* y deben ser diferentes de las manchas obtenidas con la *Solución estándar B*.

Determinación del pH <250>

Entre 8,5 y 10,5; determinado sobre una solución preparada disolviendo 500 mg de Espiramicina en 5 ml de metanol y diluyendo a 100,0 ml con agua libre de dióxido de carbono.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre - 80° y - 85°, con respecto a la sustancia seca.

Solución muestra: 20 mg por ml, en ácido acético al 10 %.

Sustancias relacionadas

[NOTA: Preparar todas las soluciones al momento de su uso.]

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 232 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro, esféricas, con una superficie específica de 350 m² por g y un tamaño de poro de 10 nm. El caudal debe ser aproximadamente 0,8 ml por minuto.

Solución de hidróxido de sodio - Preparar una solución de hidróxido de sodio al 8,5 %. Transferir 4 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución reguladora de pH 2,2 - Transferir 6,7 ml de ácido fosfórico al 87 % a un matraz aforado de 1 litro, agregar 50 ml de *Solución de hidróxido de sodio* y completar a volumen con agua.

Fase móvil - Solución reguladora de pH 2,2 conteniendo 9,3 mg de perclorato de sodio por ml y acetonitrilo (70:30). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Agua y acetonitrilo (7:3).

Solución madre del estándar - Disolver 25 mg de Espiramicina SR-FA en *Diluyente* y diluir a 100 ml con *Diluyente*.

Solución estándar A - Transferir 2,0 ml de *Solución madre del estándar* a un matraz aforado de 100 ml, diluir y completar a volumen con *Diluyente*.

Solución estándar B - Transferir 5,0 ml de *Solución madre del estándar* a un matraz aforado de 100 ml, diluir y completar a volumen con *Diluyente*.

Solución estándar C - Disolver 5 mg de Espiramicina SR-FA en 25 ml de *Fase móvil* y calentar a 60 °C en un baño de agua durante 30 minutos.

Solución muestra - Disolver 25 mg de Espiramicina en *Diluyente*, transferir a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Diluyente*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar A* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: Cromatografiar la *Solución estándar B* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el ensayo solo es válido si en el cromatograma obtenido se observa un pico significativo con un tiempo de retención relativo a espiramicina I de aproximadamente 1,1. Cromatografiar la *Solución estándar C* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de neoespiramicina I

(Impureza A: (4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,10*R*,11*E*, 16*R*)-6-[[3,6-dideoxi-3-(dimetilamino)-β-*D*-glucopiranosil]oxi]-4-hidroxi-5-metoxi-9,16-dimetil-7-(2-oxometil)-10-[[2,3,4,6-tetradeoxi-4-(dimetilamino)-*D*-eritro-hexapiranosil]oxi]oxaciclohexadecan-11,13-dien-ona), que eluye en primer lugar y la espiramicina I (que eluye entre los 13 y 17 minutos) no debe ser menor a 6,3.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución estándar A* y la *Solución muestra*. Cromatografiar la *Solución muestra* durante al menos tres veces el tiempo de retención del pico de Espiramicina I. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos: a excepción de los picos correspondientes a espiramicina I, II y III en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta de ningún pico debe ser mayor que la del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (2,0 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor a 0,05 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A*.

Composición

Sistema cromatográfico, Solución de hidróxido de sodio, Solución reguladora de pH 2,2, Fase móvil, Diluyente, Solución madre del estándar y Solución muestra - Proceder según se indica para *Sustancias relacionadas*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución madre del estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica *Procedimiento*: la desviación estándar relativa de inyecciones repetidas para el pico de espiramicina I no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución madre del estándar* y la *Solución muestra*. Cromatografiar la *Solución muestra* durante al menos tres veces el tiempo de retención del pico de espiramicina I. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular la cantidad en porcentaje de Espiramicina I, II y III: no debe contener menos de 80,0 % de Espiramicina I; no debe contener más de 5,0 % de Espiramicina II y no más de 10,0 % de Espiramicina III. La suma del contenido de Espiramicina I, II y III no debe ser menor de 90,0 %, calculado sobre la sustancia seca.

Límite de metales pesados <590>

Método VI. Preparar la *Solución muestra* a partir de 1,0 g de Espiramicina y la *Solución estándar* empleando 2 ml de *Solución estándar de plomo* (10 ppm). No más de 0,002 %.

Pérdida por secado <680>

Secar 500 mg de Espiramicina sobre pentóxido de fósforo a 80 °C durante 6 horas a una presión que no exceda los 5 mm Hg: no debe perder más de 3,5 % de su peso.

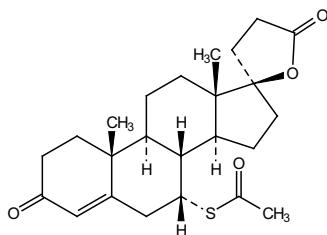
Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

VALORACIÓN

Proceder según se indica en 770. *Valoración microbiológica de antibióticos.*

ESPIRONOLACTONA



C₂₄H₃₂O₄S

PM: 416,6

52-01-7

Definición - Espironolactona es γ -Lactona del ácido (7 α ,17 α)-7-(acetiltio)-17-hidroxi-3-oxopregn-4-eno-21-carboxílico. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de C₂₄H₃₂O₄S, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino casi blanco. Estable al aire. Fácilmente soluble en benceno y cloroformo; soluble en acetato de etilo y alcohol; poco soluble en aceites fijos y metanol; prácticamente insoluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Espironolactona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En solución.*

Solvente: cloroformo.

Concentración: 1 en 20.

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: metanol.

Concentración: 10 μ g por ml.

Las absorbancias a 238 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

C - Agregar 100 mg de Espironolactona a una mezcla de 10 ml de agua y 2 ml de hidróxido de sodio 1 N, calentar la mezcla a ebullición durante 3 minutos, enfriar y agregar 1 ml de ácido acético glacial y 1 ml de acetato de plomo (SR): se debe formar un precipitado castaño o negro de sulfuro de plomo.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 198 y 209 °C, con descomposición. Ocasionalmente puede observarse una fusión preliminar aproximadamente a 135 °C, seguida de re-solidificación.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -33° y -37°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en cloroformo.

Límite de mercaptanos

Agitar 2,0 g de Espironolactona con 30 ml de agua y filtrar. A 15 ml del filtrado, agregar 3 ml de almidón (SR) y titular con iodo 0,010 N empleando una microbureta. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). No se deben consumir más de 0,10 ml de iodo 0,010 N.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Impurezas comunes <510>

Solución muestra y Solución estándar: emplear cloroformo como solvente.

Fase móvil: Acetato de butilo.

Revelador: 5.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 230 nm y una columna de 15 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El celular debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol y agua (60:40). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Acetonitrilo y agua (1:1).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Espironolactona SR-FA en *Diluyente* y diluir cuantitativamente con la misma mezcla para obtener una solución de aproximadamente de 0,5 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Espironolactona, transferir a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 2; y la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,5 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación*

muestra, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{24}H_{32}O_4S$ en la porción de Espironolactona en ensayo.

ESTEÁRICO, ÁCIDO

57-11-4

Definición - Ácido Esteárico es Ácido octadecanoico. Se elabora a partir de grasas y aceites obtenidos de fuentes comestibles y es una mezcla de ácido esteárico ($C_{18}H_{36}O_2$) y ácido palmítico ($C_{16}H_{32}O_2$). Ácido Esteárico no debe contener menos de 40,0 por ciento de $C_{18}H_{36}O_2$ y la suma de los dos ácidos no debe ser menor de 90,0 por ciento y debe cumplir con las siguientes especificaciones. [NOTA: Ácido Esteárico cuyo rótulo declara que es exclusivamente para uso externo, no necesita prepararse a partir de fuentes comestibles.]

Caracteres generales - Sólido cristalino, algo brillante, blanco o ligeramente amarillento, o polvo blanco o amarillento. Fácilmente soluble en cloroformo y en éter; soluble en alcohol; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Ácido Esteárico SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Determinación de la temperatura de solidificación <180>

No debe ser menor de 54 °C.

Determinación del índice de iodo <480>

Proceder como se indica en *Método I*, excepto que deben emplearse 35 ml de cloroformo. No más de 4.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 4 mg, determinado sobre una porción de 4 g (0,1 %).

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 10 ppm.

Ácidos minerales

Agitar 5 g de Ácido Esteárico fundido con un volumen igual de agua caliente durante 2 minutos, enfriar y filtrar: la solución obtenida no debe desarrollar coloración rojiza por el agregado de 1 gota de naranja de metilo (SR).

Grasa neutra o parafina

Transferir 30 ml de solución de carbonato de sodio anhidro (1 en 60) a un matraz, agregar 1 g de Ácido Esteárico, mezclar y calentar a ebullición: la solución resultante, mientras esté caliente, no debe presentar más que una ligera opalescencia.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un cromatógrafo de gases equipado con un detector de ionización a la llama y una columna preferentemente de vidrio, de 1,5 m × 3 mm, con fase estacionaria constituida por poliéster de succinato de dietilenglicol al 15 % sobre un soporte formado por tierra silícea para cromatografía de gases, mezcla de tierra de diatomeas y carbonato de sodio, fundida y calcinada a una temperatura de 900 °C. [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido y luego con agua hasta neutralidad, pero no con bases]. Mantener la columna a una temperatura de 165 °C y el inyector y el detector a 210 °C. Emplear helio como gas transportador.

Preparación estándar - Transferir aproximadamente 50 mg de Ácido Esteárico SR-FA y aproximadamente 50 mg de ácido palmítico a un erlenmeyer adecuado para calentar a reflujo. Agregar 5,0 ml de una solución preparada disolviendo 14 g de trifluoruro de boro en 100 ml de metanol, mezclar y calentar a reflujo durante 15 minutos o hasta disolución. Enfriar, transferir la mezcla mediante la ayuda de 10 ml de éter de petróleo para cromatografía a una ampolla de decantación de capacidad adecuada, agregar 10 ml de agua y 10 ml de solución saturada de cloruro de sodio. Agitar, dejar separar las fases y descartar la capa acuosa inferior. Filtrar la fase etérea a través de 6 g de sulfato de sodio anhidro, previamente lavado con éter de petróleo para cromatografía y transferir a un matraz apropiado.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Ácido Esteárico y proceder según se indica en *Preparación estándar* comenzando donde dice "...Agregar 5,0 ml de una solución preparada...".

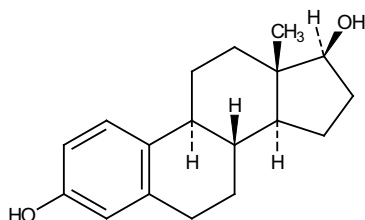
Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de palmitato de metilo y de estearato de metilo no debe ser menor de 2,0 y el coeficiente de variación de cinco inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,5 % para estearato de metilo y palmitato de metilo.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 2 µl) de la *Preparación estándar* y de la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos de los ésteres de los ácidos grasos. Calcular la cantidad de $C_{18}H_{36}O_2$ en la porción de Ácido Esteárico en ensayo.

ROTULADO

Indicar en el rótulo cuando Ácido Esteárico esté destinado exclusivamente para uso externo.

ESTRADIOL



$C_{18}H_{24}O_2$ PM: 272,4 50-28-2

Definición - Estradiol es (17 β)-Estra-1,3,5(10)-trieno-3,17-diol. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_{18}H_{24}O_2$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino o cristales pequeños blancos o casi blancos. Higroscópico. Soluble en alcohol, acetona, dioxano, clorofor-mo y soluciones de hidróxidos alcalinos; moderadamente soluble en aceites vegetales; prácticamente insoluble en agua.

Sustancias de referencia - Estradiol SR-FA. Estrona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*.

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: alcohol.

Concentración: 50 μ g por ml.

Las absorptividades a 280 nm, calculadas sobre la sustancia anhidra, no deben diferir en más de 3,0 %.

Determinación del punto de fusión <260>

Método I. Entre 173 y 179 °C. [NOTA: secar sobre sílica gel durante al menos 16 hs].

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre + 76 ° y + 83 °.

Solución muestra: 10 mg por ml, en dioxano.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 3,5 %.

Pureza cromatográfica

[NOTA: preparar las soluciones en el momento de su uso].

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de

25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - 2,2,4-Trimetilpentano, cloruro de *n*-butilo y metanol (45:4:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Diluyente - Cloruro de *n*-butilo y metanol (5:1).

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 70 mg de Estradiol, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver en *Diluyente*, mezclar vigorosamente, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución muestra* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de estradiol y de cualquier impureza no debe ser menor de 1,0; la eficiencia de la columna no debe ser menor de 800 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 1,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 10 μ l de la *Solución muestra*, registrar el cromatograma y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Estradiol en ensayo, relacionando la respuesta del pico de cada impureza y la suma de las respuestas de todos los picos: no debe contener más de 0,5 % de cualquier impureza y no debe contener más de 1,0 % de impurezas totales.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 205 nm y una columna de 30 cm \times 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo y agua (55:45). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Solución del estándar interno - Transferir aproximadamente 300 mg de *Etilparabeno* a un matraz aforado de 500 ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

Preparación estándar - Disolver cantidades exactamente pesadas de Estradiol SR-FA y Estrona SR-FA en metanol para obtener una solución de aproximadamente 0,40 mg y 0,24 mg por ml, respectivamente. Transferir 10 ml de esta solución y

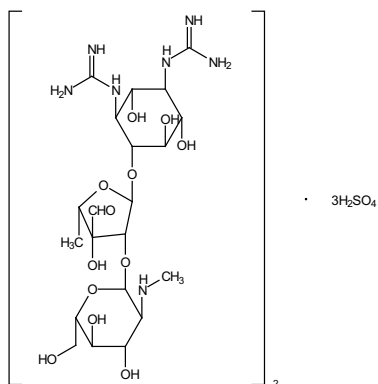
5 ml de la *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 200 ml. Agregar 100 ml de metanol, completar a volumen con agua y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 20 µg de Estradiol SR-FA por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Estradiol, transferir a un matraz aforado de 250 ml, completar a volumen con metanol y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 200 ml, agregar 5,0 ml de *Solución del estándar interno* y 100 ml de metanol, completar a volumen con agua y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de estradiol y la estrona no debe ser menor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 25 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,7 para el estándar interno, 1,3 para la estrona y 1,0 para el estradiol. Calcular la cantidad de C₁₈H₂₄O₂ en la porción de Estradiol en ensayo, relacionando las respuestas de los picos del estradiol y las del estándar interno.

ESTREPTOMICINA, SULFATO DE



(C₂₁H₃₉N₇O₁₂)₂ · 3H₂SO₄ PM: 1457,4 3810-74-0

Definición - Sulfato de Estreptomicina es Sulfato de *O*-2-deoxi-2-(metilamino)- α -*L*-glucopiranosil-(1 \rightarrow 2)-*O*-5-deoxi-3-*C*-formil- α -*L*-lixofuranosil-(1 \rightarrow 4)-*N,N'*-bis(aminoiminometil)-*D*-estreptamina (3:2). Debe tener una potencia equivalente a no menos de 650 μ g y no más de 850 μ g de estreptomicina (C₂₁H₃₉N₇O₁₂) por mg y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Inodoro. Higroscópico, estable al aire y a la exposición a la luz. Sus soluciones son desde ácidas hasta prácticamente neutras al tornasol. Fácilmente soluble en agua; muy poco soluble en alcohol; prácticamente insoluble en cloroformo.

Sustancia de referencia - Sulfato de Estreptomicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - *Reactivo de cloruro férrico* - Disolver 5 g de cloruro férrico en 50 ml de ácido clorhídrico 0,1 N. Transferir 2,5 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con ácido clorhídrico 0,01 N y mezclar. [NOTA: preparar este reactivo en el momento de su uso].

Procedimiento - Disolver una cantidad exactamente pesada de Sulfato de Estreptomicina en agua y diluir con agua para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml. A 5 ml de esta solución, agregar 2,0 ml de hidróxido de sodio 1 N y calentar en un baño de agua durante 10 minutos.

Enfriar en agua helada durante 3 minutos, luego agregar 2,0 ml de ácido clorhídrico 1,2 N y mezclar. Agregar 5 ml de *Reactivo de cloruro férrico* y mezclar: se debe producir un color violeta.

B - Debe responder a los ensayos para *Sulfato* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 7,0, determinado sobre una solución de aproximadamente 200 mg de Estreptomicina por ml.

Pérdida por secado <680>

Secar 100 mg en un pesafiltro provisto de perforación capilar al vacío a una presión que no exceda los 5 mm Hg, a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 5,0 % de su peso.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que el Sulfato de Estreptomicina es estéril, no debe contener más de 0,25 Unidades de Endotoxina por mg de Estreptomicina.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que el Sulfato de Estreptomicina es estéril, debe cumplir con los requisitos según se indica en *Método de filtración por membrana*.

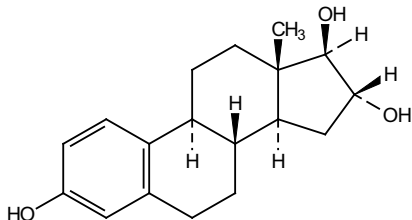
VALORACIÓN

Procedimiento - Proceder según se indica en <770>. *Valoración microbiológica de antibióticos*, empleando un volumen exactamente medido de la *Preparación muestra* diluida cuantitativamente con agua para obtener una *Preparación muestra diluida* con una concentración igual al nivel de dosis intermedio del *Estándar*.

ROTULADO

Cuando el Sulfato de Estreptomicina esté destinado para la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral, se debe indicar que debe cumplir con los ensayos para *Endotoxinas bacterianas* y *Esterilidad*.

ESTRIOL



$C_{18}H_{24}O_3$ PM: 288,4 50-27-1

Definición - Estriol es (16 α ,17 β)-Estra-1,3,5(10)-trieno-3,16,17-triol. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_{18}H_{24}O_3$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Funde aproximadamente a 280 °C. Soluble en acetona, cloroformo, dioxano, éter y aceites vegetales; moderadamente soluble en alcohol; insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Estriol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: alcohol.

Concentración: 100 μ g por ml.

Disolución completa <280>

Disolver 250 mg de Estriol en 5 ml de piridina: la solución debe ser transparente y exenta de sólidos no disueltos.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +54° y +62°.

Solución muestra: 4 mg por ml, en dioxano.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol, acetona y ácido acético (90:5:5:5). [NOTA: preparar inmediatamente antes de su uso.]

Diluyente - Dioxano y agua (9:1).

Solución muestra - Preparar una solución de Estriol en *Diluyente* de aproximadamente 20,0 mg por ml.

Solución madre del estándar - Preparar una solución de Estriol SR-FA en *Diluyente* de aproximadamente 20,0 mg por ml.

Soluciones estándar - Preparar una serie de diluciones de la *Solución madre del estándar* en *Diluyente* para obtener las siguientes soluciones:

Soluciones estándar	Concentración (mg por ml)	% con respecto a la muestra
A	0,40	2,0
B	0,20	1,0
C	0,10	0,5
D	0,05	0,25

Cámara cromatográfica - Revestir una cámara (ver 100. *Cromatografía*) con papel absorbente y verter en la cámara 200 ml de *Fase móvil*. Equilibrar la cámara durante 15 minutos antes de su uso.

Revelador - Metanol y ácido sulfúrico (7:3).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 μ l de la *Solución muestra*, 5 μ l de *Solución madre del estándar* y 5 μ l de *Soluciones estándar* A, B, C y D. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar a 100 °C durante 15 minutos. El valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar al obtenido con la *Solución madre del estándar*. Si en el cromatograma de la *Solución muestra* se observan manchas secundarias a la mancha principal, estimar la concentración de cada una por comparación con las manchas obtenidas en los cromatogramas de las *Soluciones estándar* A, B, C y D. La suma de las impurezas en la *Solución muestra* no debe ser mayor de 2,0 %.

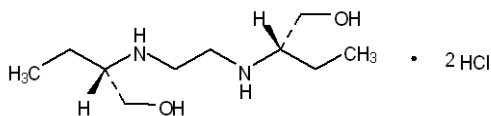
VALORACIÓN

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Estriol, disolver en alcohol, diluir hasta 100,0 ml y mezclar. Diluir 10,0 ml de esta solución con alcohol a 100,0 ml.

Preparación estándar - Pesar exactamente una cantidad de Estriol SR-FA y disolver en alcohol para obtener una solución de aproximadamente 50 µg por ml.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de ambas soluciones en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 281 nm, con un espectrofotómetro. Calcular la cantidad de $C_{18}H_{24}O_3$ en la porción de Estriol en ensayo.

ETAMBUTOL, CLORHIDRATO DE



$C_{10}H_{24}N_2O_2 \cdot 2HCl$ PM: 277,2 1070-11-7

Definición - Clorhidrato de Etambutol es Di-clorhidrato de (+)-2,2'-(etilendiimino)-di-1-butanol. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_{10}H_{24}N_2O_2 \cdot 2HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco. Fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol y metanol; poco soluble en éter y cloroformo.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Etambutol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Una solución de Clorhidrato de Etambutol al 10 % debe responder al ensayo para *Cloruro* <410>.

C - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Límite de 2-aminobutanol*. La mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra B* se debe corresponder en valor de R_f , tamaño e intensidad a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar B*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +6,0° y +6,7°.

Solución muestra: 100 mg por ml, en agua.

Límite de 2-aminobutanol

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Metanol, agua y amoníaco concentrado (75:15:10).

Revelador - Disolver 200 mg de ninhidrina en 10 ml de etanol y agregar 2 ml de ácido acético glacial.

Solución muestra A - Disolver 500 mg de Clorhidrato de Etambutol en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución muestra B - Diluir 1 ml de *Solución muestra A* a 10 ml con metanol.

Solución estándar A - Disolver 50 mg de 2-aminobutanol en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente. Diluir 1,0 ml de esta solución a 10 ml con metanol.

Solución estándar B - Disolver 50 mg de Clorhidrato de Etambutol SR-FA en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 2 μ l de las *Soluciones muestra A y B* y 2 μ l de las *Soluciones estándar A y B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Dejar secar al aire, calentar a 110 °C durante 10 minutos, enfriar, pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar a 110 °C durante 5 minutos: la mancha correspondiente al 2-aminobutanol en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra A* no debe ser más intensa que la mancha obtenida con la *Solución estándar A* (1,0 %).

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Impurezas comunes <510>

Solución muestra y Solución estándar: emplear metanol como solvente.

Fase móvil: metanol e hidróxido de amonio (18:1).

Revelador: 16.

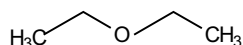
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Clorhidrato de Etambutol, disolver en una mezcla de 100 ml de ácido acético glacial y 5 ml de acetato mercúrico (SR). Agregar cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) hasta punto final verde azulado. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 13,86 mg de $C_{10}H_{24}N_2O_2 \cdot 2HCl$.

ÉTER ANESTÉSICO



C₄H₁₀O PM: 74,1 60-29-7

Definición - Éter Anestésico es 1,1'-oxibisetano. Puede contener un antioxidante no volátil a una concentración apropiada y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido límpido e incoloro, volátil, muy fluido, altamente inflamable. Miscible con aceites grasos y alcohol. Soluble en agua.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos herméticos, en un sitio fresco. El contenido de un envase parcialmente vacío puede deteriorarse rápidamente.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe cumplir con el ensayo *Determinación de la densidad relativa* <160>.

B - Debe cumplir con el ensayo *Determinación del intervalo de destilación* <240>.

Peróxidos

Transferir 8 ml de ioduro de potasio y almidón (SR) a una probeta con tapón esmerilado. Completar a volumen con Éter Anestésico, mezclar y dejar reposar protegido de la luz durante 30 minutos: no se debe producir coloración.

Acetona y aldehídos

Transferir 10,0 ml de Éter Anestésico a una probeta con tapón esmerilado, agregar 1 ml de tetraiodomercuriato de potasio (SR) y agitar durante 10 segundos. Dejar reposar al amparo de la luz durante 5 minutos: la fase inferior debe presentar una ligera opalescencia.

Si el Éter Anestésico no cumple con este ensayo, pero si con el ensayo para *Peróxidos*; destilar 40 ml hasta que solo queden 5 ml. Recolectar el destilado en un envase enfriado en un baño de hielo y repetir este ensayo empleando 10,0 ml del destilado.

Acidez

A 20 ml de alcohol, agregar 0,25 ml de azul de bromotimol (SR1) y, gota a gota, hidróxido de sodio 0,02 M hasta que aparezca una coloración azul persistente durante 30 segundos. Agregar 25 ml de Éter Anestésico. Agitar y agregar nuevamente, gota a gota, hidróxido de sodio 0,02 M hasta

que reaparezca la coloración azul persistente durante 30 segundos. No deben consumirse más de 0,4 ml de hidróxido de sodio 0,02 M.

Determinación de la densidad relativa <160>

Entre 0,714 y 0,716.

Determinación del intervalo de destilación <240>

Método I.

[NOTA: No destilar nunca la muestra si no cumple con el ensayo para *Peróxidos*]. El Éter Anestésico debe destilar completamente entre 34 y 35 °C. Realizar el ensayo empleando un dispositivo apropiado como fuente de calor y trabajar con precaución, evitando calentar directamente el envase por encima del nivel del líquido.

Sustancias no volátiles

[NOTA: comprobar previamente que el Éter Anestésico cumple con el ensayo para *Peróxidos*]. Evaporar 50 ml de Éter Anestésico en un baño de agua a sequedad. Secar el residuo en una estufa entre 100 y 105 °C. El residuo no debe pesar más de 1 mg (0,002 %).

Sustancias aromáticas extrañas

Humedecer con 5 ml de Éter Anestésico un disco de papel de filtro de 80 mm de diámetro. Dejar evaporar. No se debe percibir ningún olor extraño inmediatamente después de la evaporación.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,2 %, determinado sobre 20 ml.

ROTULADO

Indicar en el rótulo el nombre y la concentración del antioxidante no volátil empleado.

ETILCELULOSA

9004-57-3

Definición - Etilcelulosa es el Éter etílico de la celulosa. Es celulosa parcialmente *o*-etilada. Debe contener no menos de 44,0 por ciento y no más de 51,0 por ciento de grupos etoxi (-OC₂H₅) calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo o polvo granuloso blanco o blanco-amarillento. Inodoro. Soluble en cloruro de metileno y en una mezcla de 20 g de alcohol y 80 g de tolueno; poco soluble en acetato de etilo y metanol; prácticamente insoluble en agua, glicerol al 85 % y propilenglicol. Sus soluciones pueden presentar una ligera opalescencia.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. Proceder según se indica en *Identificación por medio de espectros de referencia*.

Acidez o alcalinidad

A 0,5 g de Etilcelulosa agregar 25 ml de agua libre de dióxido de carbono y agitar durante 15 minutos. Filtrar a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad fina. Transferir 10 ml de esta solución a un erlenmeyer y agregar 0,1 ml de Fenoltaleína (SR1) y 0,5 ml de hidróxido de sodio 0,01 N: la solución debe ser rosa. Transferir 10 ml de la solución a un erlenmeyer y agregar 0,1 ml de Rojo de metilo (SR1) y 0,5 ml de ácido clorhídrico 0,01 N: la solución debe ser roja.

Determinación de la viscosidad <190>

Agitar hasta disolver una porción de Etilcelulosa equivalente a 5,00 g de la sustancia seca con 95 g de una mezcla de 20 g de alcohol y 80 g de tolueno. Determinar la viscosidad empleando un viscosímetro capilar a 25 °C: cuando en el rótulo se indique que la viscosidad nominal debe ser mayor de 6 mPa.s, no debe ser menor de 80,0 ni mayor de 120,0 %; y cuando en el rótulo se indique que la viscosidad nominal debe ser menor de 6 mPa.s, no debe ser menor de 75,0 ni mayor de 140,0 %.

Acetaldehído

Solución estándar - Pesar exactamente 1,0 g de acetaldehído, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver con agua y completar a volumen con el mismo solvente. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 500 ml y completar a volumen con agua. [NOTA: preparar esta solu-

ción en el momento de su uso]. Transferir 3,0 ml de esta solución a una matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 25 ml, agregar 5 ml de una solución de 0,5 g por litro de clorhidrato de metilbenzotiazolinona-hidrazona y calentar a 60 °C, empleando un baño de agua durante 5 minutos. Agregar 2 ml de cloruro férrico-ácido sulfámico (SR) y calentar nuevamente a 60 °C durante 5 minutos. Enfriar y completar a volumen con agua.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 3,0 g de Etilcelulosa, transferir a un erlenmeyer de 250 ml con tapón esmerilado, agregar 10 ml de agua y agitar mecánicamente durante 1 hora. Dejar reposar durante 24 horas, filtrar y diluir el filtrado a 100 ml con agua. Proceder según se indica para *Solución estándar* comenzando donde dice "*Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 25 ml...*": el color de la *Solución muestra* no debe ser más intenso que el obtenido con la *Solución estándar*.

Límite de cloruro

Solución muestra - Dispersar 250 mg de Etilcelulosa en 50 ml de agua, calentar a ebullición y dejar enfriar agitando ocasionalmente. Filtrar y descartar los primeros 10 ml del filtrado.

Procedimiento - A 10 ml del filtrado agregar 15 ml de agua. Agregar 1 ml de ácido nítrico al 12,5 % y transferir la mezcla a un tubo de ensayo que contenga 1 ml de nitrato de plata (SR) y proteger de la luz. Proceder del mismo modo con una mezcla constituida por 10 ml de solución de cloruro (5 ppm) (SL) y 5 ml de agua. Luego de 5 minutos, si la *Solución muestra* presenta opalescencia, ésta no debe ser más intensa que la del control (0,1 %).

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 3 % de su peso.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más 0,002 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,5 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 5 m × 2 mm con fase estacionaria constituida por tierra de diatomeas de 150 a 180 µm de diámetro impregnada con polidimetilsiloxano al 3 % p/p. Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 200 °C y la columna aproximadamente a 80 °C. Se debe emplear nitrógeno como

gas transportador con un caudal de aproximadamente 15 ml por minuto.

Solución del estándar interno - Transferir 120 µl de tolueno a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con *o*-xileno.

Precaución - El ácido iodhídrico y sus subproductos de reacción son muy tóxicos. Desarrollar todos los pasos de las preparaciones bajo campana.

Preparación estándar - Pesar exactamente 100,0 mg de ácido adípico, transferir a un recipiente de 10 ml de paredes gruesas con cierre hermético tipo septo, agregar 4,0 ml de *Solución del estándar interno* y 4,0 ml de ácido iodhídrico. Cerrar el recipiente herméticamente y pesarlo. Inyectar 50 µl de iodoetano a través del septo empleando una jeringa, pesar nuevamente el recipiente y calcular por diferencia la masa de iodoetano agregada. Agitar bien y dejar que las dos fases se separen. Emplear la fase superior.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 50,0 mg de Etilcelulosa y 50,0 mg de ácido adípico, transferir a un recipiente de 5 ml de paredes gruesas con cierre hermético tipo septo y agregar 2,0 ml de *Solución del estándar interno*. Agregar cuidadosamente 2,0 ml de ácido iodhídrico, inmediatamente cerrar herméticamente el recipiente y pesarlo. Agitar el recipiente durante 30 segundos, calentar a aproximadamente 125 °C durante 10 minutos y dejar enfriar durante 2 minutos. Repetir estas operaciones dos veces. Dejar enfriar el recipiente durante 45 minutos y volver a pesar. Emplear la fase superior. [NOTA: se debe descartar la mezcla y preparar otra si la pérdida de peso es mayor a 10 mg].

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar la respuesta de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,6 para iodoetano, 1,0 para tolueno y 2,3 para *o*-xileno. Ajustar la sensibilidad del sistema para que la altura de los dos picos principales sea al menos el 50 % de la escala completa del registrador. El ensayo sólo es válido si la resolución *R* entre los picos de iodoetano y tolueno no es menor de 2,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 1 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el contenido en porcentaje de grupos etoxilos en la porción de Etilcelulosa en ensayo, por la fórmula siguiente:

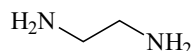
$$\frac{451.000R_M P_E}{312R_E P_M (100 - d)}$$

en la cual P_M es el peso en mg de Etilcelulosa empleado en la *Preparación muestra*, P_E es el peso en mg de iodoetano en la *Preparación estándar*, d es la pérdida de peso expresada en porcentaje, y R_M y R_E son los cocientes entre los picos de iodoetano y del estándar interno obtenidos a partir de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, respectivamente.

ROTULADO

Indicar en el rótulo la viscosidad nominal en mPa.s para una solución al 5 % p/p.

ETILENDIAMINA



$C_2H_8N_2$

PM: 60,1

107-15-3

Definición - Etilendiamina es 1,2-Etanodiamina. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_2H_8N_2$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido transparente incoloro o ligeramente amarillo. Miscible con agua y alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto, bien llenos.

Precaución - Etilendiamina es cáustica y sus vapores son irritantes.

ENSAYOS

[NOTA: proteger de la exposición al aire, puede absorber rápidamente dióxido de carbono.]

Identificación

A 2 ml de una solución de sulfato cúprico al 1 %, agregar 3 gotas de una solución de Etilendiamina preparada disolviendo 1 ml de Etilendiamina en 6 ml de agua y agitar: se debe producir color azul púrpura.

Límite de metales pesados <590>

Método I. Evaporar a sequedad 5,0 ml de Etilendiamina en un baño de vapor, agregar 1 ml de ácido clorhídrico y 0,5 ml de ácido nítrico y evaporar a sequedad. Disolver el residuo obtenido en 20 ml de agua caliente, enfriar y diluir a 100 ml con agua. Mezclar y emplear 20 ml de esta solución. El límite es 20 ppm (0,002 %).

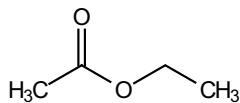
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 1 ml de Etilendiamina en un recipiente previamente pesado que contenga 25 ml de agua. Diluir con agua a 75 ml, agregar una mezcla de verde de bromocresol (SR) y rojo de metilo (SR) 5 en 6, mezclar y titular con ácido clorhídrico 1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido clorhídrico 1 N equivale a 30,05 mg de $C_2H_8N_2$.

ETILO, ACETATO DE



C₄H₈O₂

PM: 88,1

141-78-6

Definición - Acetato de Etilo es Éster etílico del ácido acético. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de C₄H₈O₂ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido límpido, incoloro, volátil. Soluble en agua; miscible con acetona, alcohol, éter, cloruro de metileno, aceites fijos y aceites volátiles.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto y evitar la exposición al calor excesivo.

ENSAYOS

Identificación

Líquido de olor característico que se volatiliza fácilmente incluso a baja temperatura y es inflamable; cuando se quema debe producir una llama amarilla.

Determinación de la densidad relativa <160>

Entre 0,894 y 0,898.

Acidez

A una solución de 2,0 ml de Acetato de Etilo en 10 ml de alcohol neutralizado, agregar 2 gotas de fenolftaleína (SR): no debe consumir más de 0,10 ml de hidróxido de sodio 0,10 N para ser neutralizada.

Ensayo de sustancias fácilmente carbonizables <350>

Transferir cuidadosamente 2 ml de Acetato de Etilo sobre 10 ml de ácido sulfúrico (SR) de manera de formar capas separadas: después de 15 minutos, la interfase entre los dos líquidos no debe desarrollar un color oscuro.

Límite de residuo no volátil

Transferir 50 ml de Acetato de Etilo a una cápsula de porcelana, previamente pesada, evaporar en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no debe ser mayor de 0,02 %.

Límite de compuestos metílicos

Transferir 20 ml de Acetato de Etilo a un balón de 500 ml, agregar una solución de 20 g de hidróxido de sodio en 50 ml de agua. Agitar la mezcla

vigorosamente hasta que se produzca un líquido homogéneo, destilar y recolectar aproximadamente 25 ml del destilado. A 0,05 ml del destilado, agregar 1 gota de ácido fosfórico diluido al 5 % y 1 gota de solución de permanganato de potasio al 5 %. Mezclar, dejar reposar durante 1 minuto y agregar una solución de bisulfito de sodio 1 en 20, gota a gota, hasta que desaparezca el color del permanganato. Si persiste un color castaño, agregar 1 gota de ácido fosfórico diluido. A la solución incolora, agregar 5 ml de ácido cromotrópico (SR) preparado recientemente, y calentar en un baño de vapor a 60 °C durante 10 minutos: no se debe producir coloración violeta.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un cromatógrafo de gases equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de 1,8 m × 4 mm con fase estacionaria constituida por carbono grafito con un área superficial nominal de 100 m² por g modificado con cantidades pequeñas de vaselina y polietilenglicol. Mantener la temperatura de la columna a 115 °C durante 6 minutos, luego se aumenta a razón de 16 °C por minuto hasta 200 °C y se mantiene a 200 °C durante 15 minutos.

Solución de resolución - Cloroformo, acetato de etilo, acetato de isobutilo y acetato de *n*-butilo (3:1:1:1).

Solución muestra - Emplear el Acetato de Etilo en ensayo.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar 0,1 µl de la *Solución de resolución*, empleando una jeringa de 1 µl, y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría para el pico de acetato de etilo no debe ser mayor de 1,5; la resolución *R* entre los picos de cloroformo y acetato de etilo no debe ser menor de 1,3 y entre los picos de acetato de isobutilo y acetato de *n*-butilo no debe ser menor de 1,5. Los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,9 para cloroformo, 2,7 para acetato de isobutilo y 2,8 para acetato de *n*-butilo.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 0,06 µl) de Acetato de Etilo y la *Solución de resolución*, empleando una jeringa de 1 µl, registrar el cromatograma y medir las respuestas de todos los picos: la suma de las respuestas de todos los picos, excepto la respuesta del pico de acetato de etilo, no debe ser mayor de 1 % de la respuesta del pico de acetato de etilo.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

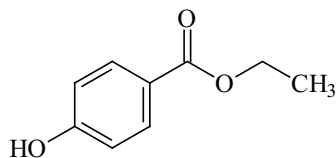
Método I. Cumple con los requisitos, haciendo las siguientes modificaciones al *Sistema cromatográfico*: emplear una columna capilar de sílice

fundida de $30\text{ m} \times 0,53\text{ mm}$ con fase estacionaria constituida por polietilenglicol de aproximadamente 15.000 con ligando diepóxido de $1\ \mu\text{m}$. El gas transportador debe tener una velocidad lineal de aproximadamente 10 cm por segundo . El gas de compensación adicional, nitrógeno, debe tener un flujo de aproximadamente 30 ml por minuto . La temperatura de la columna se debe programar manteniendo a $50\text{ }^\circ\text{C}$ durante 12 minutos, luego se debe aumentar hasta $175\text{ }^\circ\text{C}$ a razón de $8\text{ }^\circ\text{C por minuto}$, seguido de un incremento hasta $230\text{ }^\circ\text{C}$ a razón de $35\text{ }^\circ\text{C por minuto}$ y luego se debe mantener a esa temperatura durante 16 minutos.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de $1,5\text{ g}$ de Acetato de Etilo en un recipiente con tapa, previamente pesado. Transferir el Acetato de Etilo a un erlenmeyer apropiado, agregar $50,0\text{ ml}$ de hidróxido de sodio $0,5\text{ N (SV)}$ y calentar a reflujo en un baño de vapor durante 1 hora. Dejar enfriar, agregar fenolftaleína (SR) y titular el exceso de hidróxido de sodio con ácido clorhídrico $0,5\text{ N (SV)}$. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver *Titulaciones residuales* en 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio $0,5\text{ N}$ equivale a $44,05\text{ mg}$ de $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$.

ETILPARABENO



$C_9H_{10}O_3$

PM: 166,2

120-47-8

Sinonimia - Nipagin A.

Definición - Etilparabeno es el Éster etílico del ácido 4-hidroxibenzoico. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_9H_{10}O_3$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o cristales incoloros, pequeños. Fácilmente soluble en acetona, alcohol, éter y propilenglicol; poco soluble en agua y glicerina.

Sustancia de referencia - Etilparabeno SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Pureza Cromatográfica*. La mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra B* se debe corresponder en tamaño y valor de R_f a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar B*.

Color de la solución

Proceder según se indica en *Color de la solución en Metilparabeno*.

Acidez

Proceder según se indica en *Acidez en Metilparabeno*.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía, con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Metanol, agua y ácido acético glacial (70:30:1).

Solución muestra A - Preparar una solución de Etilparabeno en acetona que contenga 10 mg por ml.

Solución muestra B - Transferir 1 ml de *Solución muestra A* a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con acetona y mezclar.

Solución estándar A - Transferir 0,5 ml de *Solución muestra A* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con acetona y mezclar.

Solución estándar B - Pesarse exactamente alrededor de 10 mg de Etilparabeno SR-FA, transferir a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con acetona y mezclar.

Solución estándar C - Pesarse exactamente alrededor de 10 mg de *Metilparabeno*, transferir a un matraz aforado de 10 ml, agregar 1 ml de *Solución muestra A*, completar a volumen con acetona y mezclar.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 2 μ l de las *Soluciones muestra A* y *B*, y 2 μ l de las *Soluciones estándar A*, *B* y *C*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm. En el cromatograma obtenido con la *Solución muestra A*, cualquier mancha secundaria no debe ser mayor en tamaño e intensidad a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A* (0,5 %). El ensayo solo es válido si el cromatograma obtenido con la *Solución estándar C* presenta dos manchas completamente separadas.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 115 y 118 °C.

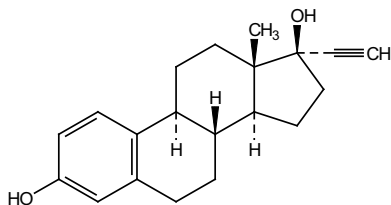
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Pesarse exactamente alrededor de 1 g de Etilparabeno, transferir a un recipiente adecuado, agregar 20,0 ml de hidróxido de sodio 1 N (SV) y calentar a 70 °C durante 1 hora. Enfriar rápidamente en un baño de hielo. Titular a temperatura ambiente el exceso de hidróxido de sodio con ácido sulfúrico 1 N (SV), continuando la titulación hasta el segundo punto de inflexión y determinar el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver *Titulación residual en 780. Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 1 N equivale a 166,2 mg de $C_9H_{10}O_3$.

ETINILESTRADIOL



$C_{20}H_{24}O_2$ PM: 296,4 57-63-6

Definición - Etinilestradiol es (17 α)-19-Norpregna-1,3,5(10)-trien-20-ino-3,17-diol. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{20}H_{24}O_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Inodoro. Soluble en aceites vegetales, alcohol, cloroformo, éter y en soluciones de hidróxidos alcalinos; insoluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Etinilestradiol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto, no metálicos.

ENSAYOS

Precaución - Manipular con cuidado el Etinilestradiol.

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. En fase sólida.

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: alcohol.

Concentración: 50 μ g por ml.

Las absorbancias a 281 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 180° y 186 °C. Puede existir una modificación polimórfica que funde entre 142 y 146 °C.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -28,0 y -29,5°.

Solución muestra: 4 mg por ml, en piridina. La piridina debe ser incolora y tomada de un recipiente recientemente abierto.

Disolución completa

Disolver 100 mg de Etinilestradiol en 5 ml de alcohol: la solución debe ser transparente y libre de sólidos no disueltos.

Pérdida por secado <680>

Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Etinilestradiol, secar al vacío sobre gel de sílice durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 15 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua y acetonitrilo (1:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución del estándar interno - Preparar una solución de *Etilparabeno* en una mezcla de agua y acetonitrilo (1:1) de aproximadamente 0,5 mg por ml.

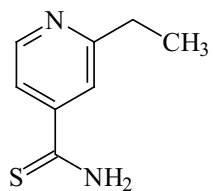
Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Etinilestradiol SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml y agregar 10 ml de *Fase móvil*. Agregar 5,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 0,2 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Etinilestradiol, transferir a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, agregar 5,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,6 para etilparabeno y 1,0 para etinilestradiol; la resolución *R* entre los picos de etinilestradiol y etilparabeno no debe ser menor de 4,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 25 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{20}H_{24}O_2$ en la porción de Etinilestradiol en ensayo.

ETIONAMIDA



$C_8H_{10}N_2S$ PM: 166,2 536-33-4

Definición - Etionamida es 2-Etilticionicotinamida. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_8H_{10}N_2S$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo amarillo brillante. Soluble en metanol; moderadamente soluble en alcohol y propilenglicol; poco soluble en agua, cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Etionamida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases herméticos.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Examinar los espectros de absorción en el ultravioleta obtenidos en *Valoración*. El espectro de absorción obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido a partir de la *Preparación estándar*.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 158 y 164 °C.

Determinación del pH <250>

Entre 6,0 y 7,0; determinado sobre una suspensión en agua 1,0 %.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 2,0 %

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Límite de selenio <610>

No más de 0,003 %; empleando 200 mg.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en placa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo y metanol (90:10).

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Etionamida, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver en acetona y completar a volumen con el mismo solvente.

Solución estándar A - Diluir 0,5 ml de *Solución muestra* a 100 ml con acetona.

Solución estándar B - Diluir 0,2 ml de *Solución muestra* a 100 ml con acetona.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de *Solución muestra* y 10 µl de las *Soluciones estándar A* y *B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente, dejar secar al aire y examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* ninguna mancha, a excepción de la mancha principal, debe ser mayor en tamaño o intensidad a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A* (0,5 %) y no más de una mancha debe ser más intensa que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar B* (0,2 %).

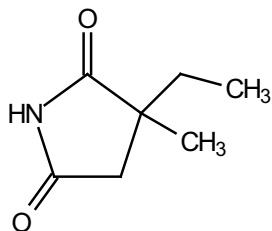
VALORACIÓN

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Etionamida SR-FA en metanol y diluir cuantitativamente con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 10 µg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Etionamida, transferir a un matraz aforado de 250 ml, disolver en 100 ml de metanol, diluir a volumen con el mismo solvente y mezclar. Transferir 5 ml de la solución anterior a un matraz aforado de 200 ml, diluir a volumen con metanol y mezclar.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de ambas soluciones en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, 290 nm, (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) empleando metanol como blanco. Calcular la cantidad de $C_8H_{10}N_2S$ en la porción de Etionamida en ensayo.

ETOSUXIMIDA



$C_7H_{11}NO_2$ PM: 141,2 77-67-8

Definición - Etosuximida es (\pm)-3-Etil-3-metil-2,5-pirrolidindiona. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_7H_{11}NO_2$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino o sólido céreo blanco a casi blanco. Muy soluble en alcohol y éter; fácilmente soluble en agua y cloroformo; muy poco soluble en éter de petróleo.

Sustancia de referencia - Etosuximida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En solución.*

Solvente: cloroformo.

Concentración: 1 en 15.

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: alcohol.

Concentración: 1 mg por ml.

Las absorbividades a 248 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3 %.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 47 y 52 °C.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,5 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,5 %.

Límite de cianuro

Disolver 1 g de Etosuximida en 10 ml de alcohol y agregar 3 gotas de sulfato ferroso (SR), 1 ml de hidróxido de sodio 1 N y unas gotas de cloruro férrico (SR). Calentar suavemente y acidificar con ácido sulfúrico 2 N: no se debe desarrollar color azul ni precipitado de color azul dentro de los 15 minutos.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico, Solución reguladora de pH 3,0, Fase móvil, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Disolver cantidades exactamente pesadas de Etosuximida SR-FA y ácido 2-etil-2-metilsuccínico en *Fase móvil*, diluir cuantitativamente y en etapas con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml de cada uno.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 1 g de Etosuximida, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver con *Fase móvil*, sonicar si fuera necesario, completar a volumen y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos con un área mayor de 0,1 % del área total, a excepción del pico de etosuximida. Calcular el porcentaje de ácido 2-etil-2-metilsuccínico en la porción de Etosuximida en ensayo, relacionando las respuestas de los picos de ácido 2-etil-2-metilsuccínico en la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. No debe contener más de 0,1 %. Calcular el porcentaje de cualquier otra impureza en la porción de Etosuximida en ensayo, relacionando las respuestas de los picos de cada impureza en el cromatograma obtenido con la *Solución muestra* con la respuesta del pico de etosuximida obtenido con la *Solución estándar*. No debe contener más de 0,1 % de cualquier otra impureza y la suma de todas las impurezas no debe ser mayor de 0,5 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 220 nm y una columna de 30 cm \times 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución reguladora de pH 3,0 - Mezclar 4,1 ml de ácido fosfórico y 1 litro de agua. Ajustar a pH 3,0 con hidróxido de sodio (SR).

Fase móvil - Solución reguladora de pH 3,0 y acetonitrilo (90:10). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Etosuximida SR-FA en *Fase*

móvil y diluir con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 10 mg por ml.

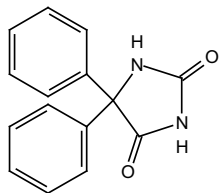
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Etosuximida, transferir a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución de aptitud del sistema - Disolver cantidades apropiadas de ácido 2-etil-2-metilsuccínico y Etosuximida SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 2 mg y 10 mg por ml, respectivamente.

Aptitud del sistema - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de ácido 2-etil-2-metilsuccínico y etosuximida no debe ser menor de 6,6; la eficiencia de la columna no debe ser menor de 2.900 platos teóricos; el factor de asimetría para el pico de etosuximida no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_7H_{11}NO_2$ en la porción de Etosuximida en ensayo.

FENITOÍNA



$C_{15}H_{12}N_2O_2$ PM: 252,3 57-41-0

Sinonimia - 5,5-Difenilhidantoína.

Definición - Fenitoína es 5,5-Difenil-2,4-imidazolidinodiona. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{15}H_{12}N_2O_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco. Inodoro. Funde aproximadamente a 295 °C. Soluble en alcohol caliente; poco soluble en alcohol frío, cloroformo y éter; prácticamente insoluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Fenitoína SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Fenitoína, agregar 1 ml de agua y 0,05 ml de amoníaco concentrado. Calentar a ebullición, agregar 0,05 ml de una solución de sulfato cúprico de aproximadamente 50 mg por ml en amoníaco diluido y lavar: se debe observar un precipitado rosa cristalino.

Claridad de la solución

Disolver 1 g de Fenitoína en una mezcla de 5 ml de hidróxido de sodio 1 N y 20 ml de agua: la solución debe ser transparente y su coloración no debe ser más oscura que amarillo pálido.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico y Fase móvil - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Fenitoína SR-FA en metanol y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con metanol para obtener una solución de aproximadamente 10 µg por ml.

Solución muestra - Emplear la *Preparación madre de la muestra* preparada según se indica en *Valoración*.

Solución de resolución - Preparar una solución de benzoína en metanol de aproximadamente 10 µg por ml. Disolver 10 mg de Fenitoína SR-FA en 10,0 ml de esta solución.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,75 para fenitoína y 1,0 para benzoína; la resolución *R* entre los picos no debe ser menor de 1,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Fenitoína en ensayo, en relación a la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar*. No debe contener más de 0,9 % de impurezas totales, excluyendo la benzofenona.

Límite de benzofenona

Sistema cromatográfico y Fase móvil - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de benzofenona en metanol y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con metanol para obtener una solución de aproximadamente 1,0 µg por ml.

Solución muestra - Emplear la *Preparación madre de la muestra* preparada según se indica en *Valoración*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,25 para fenitoína y 1,0 para benzofenona; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 5,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de benzofenona en la porción de Fenitoína en ensayo, a partir de las respuestas de los picos de benzofenona obtenidos con la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. No debe contener más de 0,1 % de benzofenona.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 220 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol y agua (55:45). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Fenitoína SR-FA en *Fase móvil*, con la ayuda de sonicación, y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 100 µg por ml.

Preparación madre de la muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Fenitoína, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en metanol, completar a volumen con metanol y mezclar.

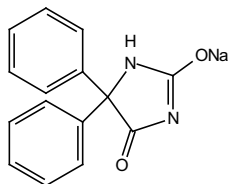
Preparación muestra - Transferir 10,0 ml de *Preparación madre de la muestra* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución de resolución - Preparar una solución de benzoína en *Fase móvil* de aproximadamente 1,5 mg por ml. Mezclar 1,0 ml de esta solución y 9,0 ml de la *Preparación estándar*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,75 para fenitoína y 1,0 para benzoína; la resolución *R* entre los picos no debe ser menor de 1,5; el factor de asimetría para el pico de fenitoína no debe ser mayor de 1,5. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₁₅H₁₂N₂O₂ en la porción de Fenitoína en ensayo.

FENITOÍNA SÓDICA



$C_{15}H_{11}N_2NaO_2$ PM: 274,3 630-93-3

Sinonimia - Sal Sódica de 5,5-Difenilhidantoína.

Definición - Fenitoína Sódica es la Sal monosódica de 5,5-difenil-2,4-imidazolidinodiona. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{15}H_{11}N_2NaO_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco. Inodoro. Algo higroscópico y expuesto al aire absorbe gradualmente dióxido de carbono. Fácilmente soluble en agua, la solución es generalmente algo turbia debido a la hidrólisis parcial y a la absorción de dióxido de carbono; soluble en alcohol; prácticamente insoluble en cloroformo y éter.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Fenitoína SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.* Pesar exactamente alrededor de 300 mg de Fenitoína Sódica y disolver en 50 ml de agua en una ampolla de decantación. Agregar 10 ml de ácido clorhídrico 3 N y extraer con tres porciones sucesivas de 100, 60 y 30 ml, respectivamente, de una mezcla de éter y cloroformo 1 en 2. Evaporar los extractos combinados y secar el residuo de fenitoína a 105 °C durante 4 horas: el espectro de absorción infrarroja de una dispersión en bromuro de potasio del residuo así obtenido debe presentar máximos sólo a las mismas longitudes de onda que el de una preparación similar de Fenitoína SR-FA.

B - Debe responder al ensayo a la llama para Sodio <410>.

Claridad de la solución

Disolver 1,0 g de Fenitoína Sódica en 20 ml de agua libre de dióxido de carbono y agregar hidróxido de sodio 0,10 N hasta disolver la fenitoína hidro-

lizada: no deben requerirse más de 4 ml de hidróxido de sodio 0,10 N para producir una solución transparente.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución estándar, Solución de resolución y Aptitud del sistema - Proceder según se indica para Pureza cromatográfica en Fenitoína.

Solución muestra - Emplear la Preparación madre de la muestra preparada según se indica en Valoración.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la Solución estándar y la Solución muestra, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Fenitoína Sódica en ensayo, en relación a la respuesta del pico principal obtenido con la Solución estándar. No debe contener más de 0,9 % de impurezas totales, excluyendo la benzofenona.

Límite de benzofenona

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Solución estándar - Proceder según se indica para Límite de benzofenona en Fenitoína.

Solución muestra - Emplear la Preparación madre de la muestra preparada según se indica en Valoración.

Solución de resolución - Preparar una solución de benzoína en metanol de aproximadamente 10 μ g por ml. Disolver 10 mg de Fenitoína SR-FA en 100,0 ml de esta solución.

Aptitud del sistema (ver 100. Cromatografía) - Cromatografiar la Solución de resolución y registrar las respuestas de los picos según se indica en Procedimiento: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,75 para fenitoína y 1,0 para benzoína; la resolución R no debe ser menor de 1,5. Cromatografiar la Solución estándar y registrar las respuestas de los picos según se indica en Procedimiento: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,25 para fenitoína y 1,0 para benzofenona; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 5,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la Solución estándar y la Solución muestra, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de benzofenona en la porción de Fenitoína Sódica en ensayo, a partir de las respuestas de los picos de benzofenona obtenidos con la Solución muestra y la Solución estándar. No debe contener más de 0,1 % de benzofenona.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 2,5 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

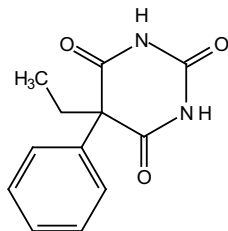
Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución de resolución, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica para Valoración en Fenitoína.

Preparación madre de la muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Fenitoína Sódica, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en metanol, completar a volumen con metanol y mezclar.

Preparación muestra - Transferir 10,0 ml de *Preparación madre de la muestra* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{15}H_{11}N_2NaO_2$ en la porción de Fenitoína Sódica en ensayo.

FENOBARBITAL



$C_{12}H_{12}N_2O_3$

PM: 232,2

50-06-6

Definición - Fenobarbital es 5-Etil-5-fenil-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-pirimidinotrióna. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{12}H_{12}N_2O_3$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino o cristales pequeños, brillosos, blancos. Estable al aire. Su solución saturada tiene un pH de aproximadamente 5. Soluble en alcohol, éter y en soluciones de hidróxidos alcalinos y carbonatos; moderadamente soluble en cloroformo; muy poco soluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Fenobarbital SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. [NOTA: si se observan diferencias, disolver porciones de la muestra y de la *Sustancia de Referencia* en un solvente apropiado, evaporar las soluciones hasta sequedad y repetir el ensayo con los residuos.]

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*, ambos relativos al estándar interno.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 174 y 178 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 2 °C.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,15 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Solución reguladora de pH 4,5 - Disolver 6,6 g de acetato de sodio trihidratado y 3,0 ml de ácido acético glacial en 1 litro de agua y ajustar, si fuera necesario, a pH 4,5 ± 0,1 con ácido acético glacial.

Fase móvil - *Solución reguladora de pH 4,5* y metanol (3:2). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución del estándar interno - Disolver una cantidad de *Cafeína* en una mezcla de metanol y *Solución reguladora de pH 4,5* (1:1) para obtener una solución de aproximadamente 125 μg por ml.

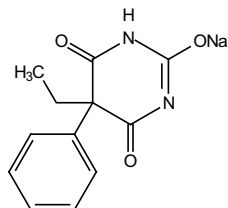
Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Fenobarbital SR-FA y disolver en 15,0 ml de *Solución del estándar interno*. Sonicar si fuera necesario.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Fenobarbital, transferir a un erlenmeyer, agregar 15,0 ml de *Solución del estándar interno*, mezclar y sonicar durante 15 minutos.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar la respuesta de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,6 para cafeína y 1,0 para fenobarbital; la resolución *R* entre el pico de fenobarbital y cafeína no debe ser menor de 1,2; el factor de asimetría para el pico de fenobarbital y de cafeína no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{12}H_{12}N_2O_3$ en la porción de Fenobarbital en ensayo.

FENOBARBITAL SÓDICO



$C_{12}H_{11}N_2NaO_3$ PM: 254,2 57-30-7

Definición - Fenobarbital Sódico es la Sal monosódica de 5-etil-5-fenil-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-pirimidinotrióna. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{12}H_{11}N_2NaO_3$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino o cristales de color blanco. Inodoro e higroscópico. Sus soluciones son alcalinas frente a la fenoltaleína (SR) y poco estables. Muy soluble en agua; soluble en alcohol; prácticamente insoluble en cloroformo y éter.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Fenobarbital SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.* Disolver aproximadamente 50 mg de Fenobarbital Sódico en 15 ml de agua, transferir a una ampolla de decantación, agregar 2 ml de ácido clorhídrico, agitar y extraer el fenobarbital liberado con cuatro porciones de 25 ml de cloroformo. Filtrar los extractos combinados a través de una torunda de algodón u otro filtro apropiado a un vaso de precipitados y lavar la ampolla de decantación y el filtro con varias porciones pequeñas de cloroformo. Evaporar una porción de 50 ml de la solución cloroformica de fenobarbital en un baño de vapor con la ayuda de una corriente de aire. Agregar 10 ml de éter, evaporar nuevamente y secar el residuo a 105 °C durante 2 horas: el espectro de absorción infrarroja de una dispersión en bromuro de potasio del residuo así obtenido debe presentar máximos sólo a las mismas longitudes de onda que el de una preparación similar de Fenobarbital SR-FA.

B - Someter a ignición aproximadamente 200 mg de Fenobarbital Sódico: el residuo debe desarrollar efervescencia con ácidos.

C - Debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

D - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*, ambos relativos al estándar interno.

Claridad de la solución

Mezclar 1,0 g de Fenobarbital Sódico con 10 ml de agua libre de dióxido de carbono: luego de 1 minuto, la solución debe ser transparente y excen-ta de sólidos no disueltos.

Determinación del pH <250>

Entre 9,2 y 10,2; determinado sobre la solución preparada en el ensayo para *Claridad de la solución*.

Límite de metales pesados <590>

Disolver 2,0 g de Fenobarbital Sódico en 52 ml de agua. Agregar lentamente, con agitación, 8 ml de ácido clorhídrico 1 N y filtrar. Descartar los primeros 5 ml del filtrado. Diluir 20 ml del filtrado con agua a 25 ml: el límite es 0,003 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 150 °C durante 4 horas: no debe perder más de 7,0 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que el Fenobarbital Sódico es estéril no debe contener más de 0,3 Unidades de Endotoxina por mg de Fenobarbital Sódico.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que el Fenobarbital Sódico es estéril, debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Solución reguladora de pH 4,5, Fase móvil, Solución del estándar interno, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración* en *Fenobarbital*.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 22 mg de Fenobarbital Sódico, transferir a un erlenmeyer, agregar 15,0 ml de *Solución del estándar interno*, mezclar y sonicar durante 15 minutos.

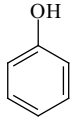
Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las

respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{12}H_{11}N_2NaO_3$ en la porción de Fenobarbital Sódico en ensayo.

ROTULADO

Cuando el Fenobarbital Sódico esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas inyectables, indicar en el rótulo que es estéril.

FENOL



C₆H₆O

PM: 94,1

108-95-2

Definición - Fenol debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de C₆H₆O, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones. Puede contener un estabilizante apropiado.

Caracteres generales - Cristales aciculares, incoloros o de color rosa pálido, sueltos o agrupados en masas cristalinas. Se licua por calentamiento o por el agregado de un 10 % de agua. Punto de ebullición aproximadamente a 182 °C con vapores inflamables. Se oscurece gradualmente por exposición al aire y a la luz. Muy soluble en aceites fijos y volátiles, alcohol, cloroformo, éter y glicerina; soluble en agua; moderadamente soluble en vaselina.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Precaución - Evitar el contacto con la piel, ya que puede producir quemaduras graves.

Identificación

A - A una solución de Fenol agregar unas gotas de bromo (SR): se debe formar un precipitado blanco, que se disuelve al principio, pero se torna permanente a medida que se agrega más reactivo.

B - A 10 ml de una solución de Fenol al 1 % agregar 1 gota de cloruro férrico (SR): se debe producir color violeta.

Transparencia y reacción de la solución

Una solución de Fenol 1 en 15 debe ser transparente, y neutra o ácida frente al papel tornasol.

Determinación de la temperatura de solidificación <180>

No debe ser menor de 39,5 °C.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,5 %.

Residuo no volátil

Pesar exactamente alrededor de 5 g de Fenol, y calentar en una cápsula de porcelana, previamente pesada, en un baño de vapor hasta evaporación y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no debe ser mayor de 0,05 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

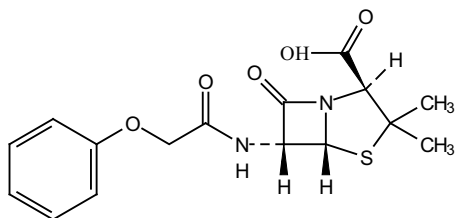
Pesar exactamente alrededor de 2 g de Fenol, transferir a un matraz aforado de 1 litro, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 20 ml de esta solución a un matraz para iodo, agregar 30 ml de bromo 0,1 N (SV), agregar 5 ml de ácido clorhídrico y tapar inmediatamente. Agitar el matraz durante 30 minutos, dejar reposar durante 15 minutos, agregar rápidamente 5 ml de solución de yoduro de potasio 1 en 5, evitando que escapen vapores de bromo y tapar inmediatamente. Agitar vigorosamente, retirar y enjuagar el tapón y el cuello del matraz con una cantidad pequeña de agua y recolectar el lavado dentro del matraz. Agregar 1 ml de cloroformo, agitar y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final.

Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver *Titulaciones residuales en 780. Volumetría*). Cada ml de bromo 0,1 N equivale a 1,57 mg de C₆H₆O.

ROTULADO

Indicar en el rótulo el nombre y cantidad de cualquier sustancia agregada como estabilizante.

FENOXIMETILPENICILINA



C₁₆H₁₈N₂O₅S PM: 350,4 87-08-1

Sinonimia - Penicilina V.

Definición - Fenoximetilpenicilina es el Ácido [2*S*-(2 α ,5 α ,6 β)] -3,3-dimetil-7-oxo-6-[(fenoxiacetil)amino]-4-tia-1-azabicyclo [3.2.0] heptano-2-carboxílico. Debe contener una potencia de no menos de 1.525 y no más de 1.780 Unidades de Fenoximetilpenicilina por mg y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco, inodoro. Fácilmente soluble en alcohol y acetona; muy poco soluble en agua; insoluble en aceites fijos.

Sustancia de referencia - Fenoximetilpenicilina Potásica SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. [NOTA: no se debe secar las muestras.]

B - Transferir 2 mg de Fenoximetilpenicilina a un tubo de ensayo. Humedecer con 0,05 ml de agua, agregar 2 ml de ácido sulfúrico-formaldehído (SR) y mezclar con agitación: la solución debe presentar un color pardo rojizo. Transferir el tubo de ensayo a un baño de agua durante 1 minuto: se debe desarrollar un color pardo rojizo oscuro.

Determinación del pH <250>

Entre 2,5 y 4,0, determinado sobre una suspensión que contenga 30 mg por ml.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 2,0 %.

Cristalinidad

Colocar partículas de Fenoximetilpenicilina en aceite mineral, sobre un portaobjetos de vidrio.

Examinar la mezcla empleando un microscopio con luz polarizada: las partículas deben presentar birrefringencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

Límite de ácido fenoxiacético

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm x 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Diluyente - Solución reguladora de fosfato pH 6,6 (ver *Soluciones reguladoras* en *Soluciones*).

Fase móvil - Agua, acetonitrilo y ácido acético glacial (65:35:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de ácido fenoxiacético en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml.

Solución muestra - Disolver una cantidad exactamente pesada de Fenoximetilpenicilina en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 20,0 mg por ml. [NOTA: preparar esta solución en el momento de su uso.]

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 1,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos de ácido fenoxiacético. Calcular el porcentaje de ácido fenoxiacético en la porción de Fenoximetilpenicilina en ensayo, a partir de las respuestas de los picos de ácido fenoxiacético obtenidos con la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. No debe contener más de 0,5 %.

Límite de *p*-hidroxifenoximetilpenicilina

Empleando el cromatograma de la *Preparación muestra* obtenido en *Valoración*, calcular el porcentaje de *p*-hidroxifenoximetilpenicilina en la porción de Fenoximetilpenicilina en ensayo, en relación a la suma de las respuestas de los picos de *p*-hidroxifenoximetilpenicilina y fenoximetilpenicilina. No debe contener más de 5,0 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector

ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm × 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, acetonitrilo y ácido acético glacial (650:350:5,75). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Fenoximetilpenicilina Potásica SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 2,5 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 125 mg de Fenoximetilpenicilina, transferir a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución de resolución - Preparar una solución en *Fase móvil* de aproximadamente 2,5 mg de bencilpenicilina potásica y 2,5 mg de Fenoximetilpenicilina Potásica por ml.

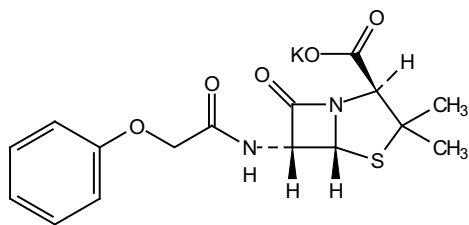
Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,8 para bencilpenicilina y 1,0 para fenoximetilpenicilina; la eficiencia de la columna determinada a partir del pico de fenoximetilpenicilina no debe ser menor de 1.800 platos teóricos; la resolución *R* entre los picos de bencilpenicilina y fenoximetilpenicilina no debe ser menor de 3,0. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos de fenoximetilpenicilina y *p*-hidroxifenoximetilpenicilina con un tiempo de retención de aproximadamente 0,4, relativo al pico principal de fenoximetilpenicilina. Calcular la cantidad de Unidades de Fenoximetilpenicilina por mg en la porción de Fenoximetilpenicilina en ensayo.

ROTULADO

Señalar en el rótulo cuando se indique su uso solamente para administración no parenteral.

FENOXIMETILPENICILINA POTÁSICA



C₁₆H₁₇KN₂O₅S PM: 388,5 132-98-9

Sinonimia - Penicilina V Potásica.

Definición - Fenoximetilpenicilina Potásica es la Sal monopotásica del ácido [2S-(2 α ,5 α ,6 β)]-3,3-dimetil-7-oxo-6-[(fenoxiacetil)amino]-4-tia-1-azabicyclo [3.2.0] heptano-2-carboxílico. Debe contener una potencia de no menos de 1.380 y no más de 1.610 Unidades de Fenoximetilpenicilina por mg y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco, inodoro. Muy soluble en agua; poco soluble en alcohol; insoluble en acetona.

Sustancia de referencia - Fenoximetilpenicilina Potásica SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Debe responder al ensayo a la llama para *Potasio* <410>.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +220° y +235°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en agua libre de dióxido de carbono.

Determinación del pH <250>

Entre 4,0 y 7,5, determinado sobre una solución que contenga 30 mg por ml.

Cristalinidad

Colocar partículas de Fenoximetilpenicilina Potásica en aceite mineral, sobre un portaobjetos. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas deben presentar birrefringencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

Límite de ácido fenoxiacético

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Diluyente, Solución estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en el ensayo para *Límite de Ácido fenoxiacético* en *Fenoximetilpenicilina*.

Solución muestra - Disolver cuantitativamente en *Diluyente* una cantidad exactamente pesada de Fenoximetilpenicilina Potásica para obtener una solución de aproximadamente 20,0 mg por ml. [NOTA: preparar esta solución en el momento de su uso.]

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* para el ensayo de *Límite de Ácido fenoxiacético* en *Fenoximetilpenicilina*. Calcular el porcentaje de ácido fenoxiacético en la porción de Fenoximetilpenicilina Potásica en ensayo, a partir de las respuestas de los picos de ácido fenoxiacético obtenidos con la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, respectivamente. No debe contener más de 0,5 %.

Límite de p-hidroxifenoximetilpenicilina

Calcular empleando el cromatograma de la *Preparación muestra* obtenido en *Valoración* el porcentaje de p-hidroxifenoximetilpenicilina en la porción de Fenoximetilpenicilina Potásica en ensayo, en relación a la suma de las respuestas de los picos de p-hidroxifenoximetilpenicilina y fenoximetilpenicilina. No debe contener más de 5,0 %.

Pérdida por secado <680>

Secar aproximadamente 100 mg de Fenoximetilpenicilina Potásica en un pesafiltro provisto de una tapa con perforación capilar al vacío a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 1,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar, Solución de resolución y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración* en *Fenoximetilpenicilina*.

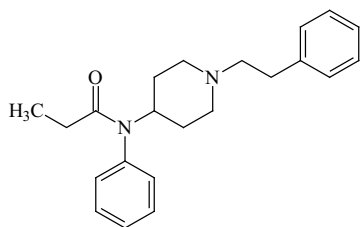
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 125 mg de Fenoximetilpenicilina Potásica, transferir a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* para la *Valoración* en *Fenoximetilpenicilina*. Calcular la cantidad de Unidades de Fenoximetilpenicilina por mg en la porción de Fenoximetilpenicilina Potásica en ensayo.

ROTULADO

Indicar en el rótulo cuando esté destinada sólo para uso no parenteral.

FENTANILO



$C_{22}H_{28}N_2O$ PM: 336,5 437-38-7

Definición - Fentanilo es *N*-Fenil-*N*-[1-(2-feniletíl)-4-piperidinil]propanamida. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{22}H_{28}N_2O$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en alcohol y metanol; prácticamente insoluble en agua.

Presenta polimorfismo.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. Proceder según en *Identificación por medio de espectros de referencia*. [NOTA: si el espectro obtenido presenta diferencias, disolver la muestra en una cantidad mínima de alcohol absoluto, evaporar hasta sequedad a temperatura ambiente bajo una corriente de aire y registrar nuevamente el espectro].

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 220 nm y una columna de 10 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto. Programar el cromatógrafo del siguiente modo:

Tiempo (minutos)	Solución A (%)	Solución B (%)	Etapas
0-15	90→40	10→60	Gradiente lineal
15-20	40	60	Isocrático
20-25	90	10	Retorno a la composición inicial del eluyente
25	90	10	Restablecer el gradiente

Equilibrar la columna durante al menos 30 minutos con acetonitrilo y luego con la composición inicial durante al menos 5 minutos.

Solución A - Disolver carbonato de amonio en una mezcla de agua y tetrahidrofurano (90:10) para obtener una solución al 0,5 %. Filtrar y desgasificar.

Solución B - Acetonitrilo. Filtrar y desgasificar.

Fase móvil - Emplear mezclas variables de *Solución A* y *Solución B* según se indica en *Sistema cromatográfico*. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Disolver 100 mg de Fentanilo en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar A - Preparar el producto de degradación *in situ* (*N*-fenil-1-(2-feniletíl)piperidin-4-amino) de la siguiente manera. Transferir 10 mg de Fentanilo a un balón y disolver en 10 ml de ácido clorhídrico al 7,3 %. Conectar a un refrigerante y calentar en un baño de agua durante 4 horas y neutralizar con 10 ml de hidróxido de sodio al 8,5 %. Evaporar a sequedad en un baño de agua, enfriar, redissolver el residuo con 10 ml de metanol y filtrar.

Solución estándar B - Diluir 1 ml de la *Solución muestra* a 100 ml con metanol. Diluir 5 ml de esta solución a 20 ml con metanol.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar A* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención deben ser aproximadamente 10 minutos para fentanilo y 12 minutos para *N*-fenil-1-(2-feniletíl)piperidin-4-amino; la resolución entre los picos de fentanilo y *N*-fenil-1-(2-feniletíl)piperidin-4-amino no debe ser menor de 8.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μl) de la *Solución estándar B*, la *Solución muestra* y metanol, que será empleado como blanco. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos: a excepción del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta de ningún pico debe ser mayor a la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar B* (0,25 %); la suma de las respuestas de todos los picos, a excepción del pico principal, no debe ser mayor de dos veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar B* (0,5 %). Ignorar cualquier pico obtenido con el blanco y cualquier pico con una respuesta menor de 0,2 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar B*.

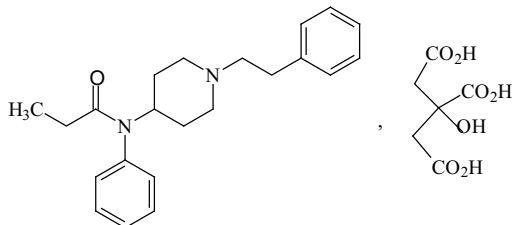
Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 50 °C: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Fentanilo, disolver en 50 ml de una mezcla de metil etil cetona y ácido acético glacial (7:1) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), empleando 0,2 ml de *p*-naftolbenceína (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 33,65 mg de $C_{22}H_{28}N_2O$.

FENTANILO, CITRATO DE



$C_{28}H_{36}N_2O_8$

PM: 528,6

990-73-8

Definición - Citrato de Fentanilo es Citrato de *N*-Fenil-*N*-[1-(2-feniletíl)-4-piperidinil]propanamida. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{28}H_{36}N_2O_8$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en metanol; soluble en agua; moderadamente soluble en alcohol. Funde aproximadamente a 152 °C, con descomposición.

Sustancia de referencia - Citrato de Fentanilo SR-FA

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

Precaución - Manipular Citrato de Fentanilo con sumo cuidado, evitando su inhalación y el contacto con la piel.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. En fase sólida.

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: ácido clorhídrico diluido en metanol (1 en 10).

Concentración: 500 µg por ml.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Solución A, Solución B, Fase móvil y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Sustancias relacionadas en Fentanilo*.

Solución muestra - Proceder según se indica en *Solución muestra* en *Sustancias relacionadas en Fentanilo*, empleando 100 mg de Citrato de Fentanilo.

Solución estándar A - Proceder según se indica en *Solución estándar A* en *Sustancias relacionadas en Fentanilo*, empleando 10 mg de Citrato de Fentanilo.

Solución estándar B - Proceder según se indica en *Solución estándar B* en *Sustancias relacionadas en Fentanilo*.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Sustancias relacionadas en Fentanilo*. A excepción del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta de ningún pico debe ser mayor a la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar B* (0,25 %); la suma de las respuestas de todos los picos, a excepción del pico principal, no debe ser mayor de dos veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar B* (0,5 %). Ignorar cualquier pico obtenido con el blanco, cualquier pico con un tiempo de retención relativo menor a 0,05 y cualquier pico con una respuesta menor de 0,2 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar B*.

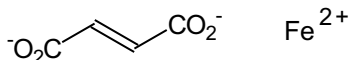
Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 60 °C: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 300 mg de Citrato de Fentanilo, disolver en 50 ml de una mezcla de metil etil cetona y ácido acético glacial (7:1) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), empleando 0,2 ml de *p*-naftolbenceína (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 52,86 mg de $C_{28}H_{36}N_2O_8$.

FERROSO, FUMARATO



$\text{C}_4\text{H}_2\text{FeO}_4$ PM: 169,9 141-01-5

Definición - Fumarato Ferroso es 2-Butenodioato ferroso. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $\text{C}_4\text{H}_2\text{FeO}_4$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo anaranjado rojizo a rojo pardo, inodoro. Puede contener masas blandas que producen una superficie amarilla cuando se muele. Poco soluble en agua; muy poco soluble en alcohol. Se separa ácido fumárico frente al agregado de ácido clorhídrico diluido.

Sustancia de referencia - Ácido Fumárico SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.* A 1,5 g de Fumarato Ferroso agregar 25 ml de ácido clorhídrico diluido 1 en 2, diluir con agua a 50 ml, calentar hasta disolución completa y enfriar. Filtrar en un crisol de vidrio sinterizado de porosidad fina, lavar el precipitado con ácido clorhídrico diluido 3 en 100, reservando el filtrado para el ensayo de *Identificación B*, y secar el precipitado a 105 °C: la absorción infrarroja de una dispersión en bromuro de potasio del precipitado seco obtenido, debe presentar máximos sólo a las mismas longitudes de onda que el de una preparación similar de Ácido Fumárico SR-FA.

B - Una porción del filtrado obtenido en el ensayo de *Identificación A* debe responder al ensayo para *Hierro* <410>.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 16 horas: no debe perder más de 1,5 % de su peso.

Sulfato

Transferir 1,0 g de Fumarato Ferroso a un vaso de precipitados de 250 ml, agregar 100 ml de agua y calentar en un baño de vapor, agregando ácido clorhídrico gota a gota hasta disolución completa (se requerirán aproximadamente 2 ml de ácido). Filtrar la solución si fuera necesario y diluir el filtrado con agua a 100 ml. Calentar el filtrado a ebullición, agregar 10 ml de cloruro de bario (SR), calentar en un baño de vapor durante 2 horas, tapar

y dejar reposar durante 16 horas (si se forman cristales de fumarato ferroso, calentar la solución en el baño de vapor hasta disolución). Filtrar la solución empleando papel de filtro libre de cenizas, lavar el residuo con agua caliente hasta que, con la adición de sulfuro de amonio (SR), no se forme más precipitado negro en el filtrado y transferir el papel que contenga el residuo a un crisol previamente pesado. Carbonizar el papel, sin quemarlo, y someter a ignición el crisol con su contenido a una temperatura de 600 °C hasta peso constante: cada mg de residuo equivale a 0,412 mg de sulfato: no debe contener más de 0,2 %.

Límite de arsénico <540>

Método I. Transferir 2,0 g de Fumarato Ferroso a un vaso de precipitados, agregar 10 ml de agua y 10 ml de ácido sulfúrico y calentar hasta precipitar completamente el ácido fumárico. Dejar enfriar, agregar 30 ml de agua, filtrar y transferir el filtrado a un matraz aforado de 100 ml. Lavar el precipitado con agua, agregando los lavados al filtrado, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 50,0 ml de esta solución al matraz generador de arsina y diluir con agua a 55 ml: proceder según se indica en *Procedimiento*, excepto que se debe omitir el agregado de los 20 ml de ácido sulfúrico 7 N: no debe contener más de 3 ppm.

Límite de ión férrico

Pesar exactamente alrededor de 2,0 g de Fumarato Ferroso, transferir a un erlenmeyer de 250 ml con tapón de vidrio, agregar 25 ml de agua y 4 ml de ácido clorhídrico y calentar en una placa calefactora hasta disolución completa. Tapar y dejar enfriar a temperatura ambiente. Agregar 3 g de ioduro de potasio, tapar nuevamente y agitar por rotación para mezclar. Dejar reposar en la oscuridad durante 5 minutos. Agregar 75 ml de agua y titular con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. No se debe consumir más de 7,16 ml de tiosulfato de sodio 0,1 N (2,0 %).

Límite de plomo

[NOTA: para la preparación de todas las soluciones acuosas y para enjuagar los materiales de vidrio antes de usar, emplear agua previamente pasada a través de una resina de intercambio iónico de lecho mixto. Seleccionar todos los reactivos de manera de tener un contenido de plomo lo más bajo posible y almacenar todas las soluciones de reactivos en envases de vidrio al borosilicato. Lavar el material de vidrio antes de usar sumergiéndolo en ácido nítrico 8 N caliente durante 30 minutos y luego enjuagar con agua deionizada].

Solución de ácido ascórbico-ioduro de sodio - Transferir 20 g de ácido ascórbico y 38,5 g de iodu-

ro de sodio a un matraz aforado de 200 ml, disolver con agua, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Solución de óxido de trioctilfosfina - [Precaución - Esta solución es irritante. Evitar el contacto con los ojos, la piel y la ropa. Tomar precauciones especiales para eliminar las soluciones a las que se agrega este reactivo]. Transferir 5,0 g de óxido de trioctilfosfina a un matraz aforado de 100 ml, disolver con 4-metil-2-pentanona, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Solución estándar - Transferir 5,0 ml de la *Solución madre de nitrato de plomo* (ver 590. *Límite de metales pesados*) a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 2,0 ml de esta solución a un vaso de precipitados de 50 ml, agregar 6 ml de ácido nítrico y 10 ml de ácido perclórico y evaporar bajo campana hasta sequedad. [Precaución - Agregar el ácido perclórico bajo campana]. Dejar enfriar, disolver el residuo en 10 ml de ácido clorhídrico 9 N y transferir con la ayuda de 10 ml de agua a un matraz aforado de 50 ml. Agregar 20 ml de *Solución de ácido ascórbico-ioduro de sodio* y 5,0 ml de *Solución de óxido de trioctilfosfina*, agitar durante 30 segundos y dejar separar las fases. Agregar agua para llevar la capa de solvente orgánico hasta el cuello del matraz, agitar nuevamente y dejar separar. La capa del solvente orgánico es la *Solución estándar* (2,0 µg de plomo por ml).

Solución blanco - Proceder según se indica para *Solución estándar* desde donde dice: "agregar 6 ml de ácido nítrico y 10 ml de ácido perclórico y evaporar...". La capa del solvente orgánico es la *Solución blanco* (0,0 µg de plomo por ml).

Solución muestra - Transferir 1,0 g de Fumarato Ferroso a un vaso de precipitados de 50 ml y agregar 6 ml de ácido nítrico y 10 ml de ácido perclórico. [Precaución - Agregar el ácido perclórico bajo campana]. Cubrir con un vidrio de reloj estriado y calentar bajo campana hasta sequedad. Dejar enfriar. Disolver el residuo en 10 ml de ácido clorhídrico 9 N y transferir con la ayuda de aproximadamente 10 ml de agua a un matraz aforado de 50 ml. Proceder según se indica para *Solución estándar* desde donde dice: "Agregar 20 ml de *Solución de ácido ascórbico-ioduro de sodio* y 5,0 ml de...". La capa de solvente orgánico es la *Solución muestra*.

Procedimiento - Determinar concomitantemente las absorbancias de la *Solución blanco*, la *Solución estándar* y la *Solución muestra* en la línea de emisión del plomo a 283,3 nm con un espectrofotómetro de absorción atómica (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*) equipado con una lámpara de plomo de cátodo hueco y

una llama de aire-acetileno, empleando 4-metil-2-pentanona para llevar a cero la lectura del instrumento. La absorbancia de la *Solución blanco* no debe ser mayor a 20 % de la diferencia entre la absorbancia de la *Solución estándar* y la absorbancia de la *Solución blanco*; la absorbancia de la *Solución muestra* no debe ser mayor a la absorbancia de la *Solución estándar* (0,001 %).

Límite de mercurio

Solución muestra - Disolver 2,0 g de Fumarato Ferroso en una mezcla de 10 ml de ácido clorhídrico libre de plomo y 80 ml de agua, calentando si fuera necesario para favorecer la disolución. Dejar enfriar, filtrar, si fuera necesario, y diluir hasta 100 ml con agua.

Solución estándar de mercurio (10 ppm) - Disolver una cantidad de cloruro mercurioso que corresponda a a 0,338 g de HgCl₂, en agua y completar a 250,0 ml con el mismo solvente. Inmediatamente antes de su uso, diluir 1,0 ml de esta solución a 100,0 ml con agua.

Solución estándar - Preparar una serie de diluciones a partir de la *Solución estándar de mercurio (10 ppm)* y diluyendo con una solución de ácido clorhídrico libre de plomo al 25,0 % v/v.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Método I* en 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*. Siguiendo las instrucciones del fabricante, introducir, separadamente, 5,0 ml de *Solución muestra* y 5,0 ml de cada una de las *Soluciones estándar* en el vaso del equipo de valoración de mercurio en vapor frío y agregar 10 ml de agua y 1 ml de cloruro estañoso (SR). Determinar la absorbancia de todas las soluciones a 253,7 nm, empleando una lámpara de cátodo hueco de mercurio como fuente de radiación. No debe contener más de 1 ppm de mercurio.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

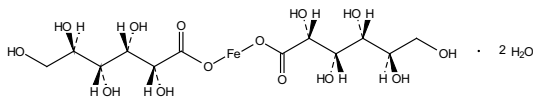
Método II.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Fumarato Ferroso, transferir a un erlenmeyer de 500 ml y agregar 25 ml de ácido clorhídrico diluido 2 en 5. Calentar a ebullición y agregar gota a gota una solución de 5,6 g de cloruro estañoso en 50 ml de ácido clorhídrico diluido 3 en 10 hasta que el color amarillo desaparezca y luego agregar 2 gotas en exceso. Enfriar la solución en un baño de hielo hasta que alcance la temperatura ambiente, agregar 10 ml de solución de cloruro mercurioso 1 en 20 y dejar reposar durante 5 minutos. Agregar 200 ml de agua, 25 ml de ácido sulfúrico diluido 1 en 2 y 4 ml de ácido fosfórico. Luego agregar 2 gotas de ortofenantrolina (SR) y titular con sulfato céri-

co 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada ml de sulfato cérico 0,1 N equivale a 16,99 mg de $C_4H_2FeO_4$.

FERROSO, GLUCONATO



$C_{12}H_{22}FeO_{14} \cdot 2H_2O$ PM: 482,2 12389-15-0

Anhidro PM: 446,1 299-29-6

Definición - Gluconato Ferroso es bis(D-gluconato-O¹, O²) de hierro, dihidrato. Debe contener no menos de 11,8 por ciento y no más de 12,5 por ciento de hierro (II), calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo fino o granulos de color gris o amarillo verdoso. Una solución 1 en 20 es ácida frente al tornasol. Soluble en agua con calentamiento suave; prácticamente insoluble en alcohol.

Sustancia de referencia - Gluconato de Potasio SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Proceder según se indica en el ensayo de Identificación B en Gluconato de Calcio.

B - Una solución de Gluconato Ferroso 1 en 200 debe producir un precipitado azul oscuro con ferricianuro de potasio (SR).

Pérdida por secado <680>

Secar entre 100 y 105 °C durante 5 horas: debe perder entre 7,0 y 10,5 % de su peso. Emplear 500 mg de muestra.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Una porción de 1,0 g de Gluconato Ferroso no debe contener más cloruro que el que corresponde a 1,0 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,07 %).

Sulfato - Una porción de 1,0 g de Gluconato Ferroso no debe contener más sulfato que el que corresponde a 1,0 ml de ácido sulfúrico 0,020 N (0,1 %).

Ácido oxálico

Disolver 1,0 g de Gluconato Ferroso en 10 ml de agua, agregar 2 ml de ácido clorhídrico y transferir a una ampolla de decantación. Extraer sucesivamente con porciones de 50 y 20 ml de éter. Combinar los extractos etéreos, agregar 10 ml de

agua y evaporar el éter en un baño de vapor. Agregar 1 gota de ácido acético 6 N y 1 ml de solución de acetato de calcio 1 en 20: no se debe producir turbidez dentro de los 5 minutos.

Límite de arsénico <540>

Método I. Transferir 1,0 g de Gluconato Ferroso a un balón de 100 ml con junta esmerilada. Agregar 40 ml de ácido sulfúrico 9 N y 2 ml de solución de bromuro de potasio 3 en 10. Conectar inmediatamente a un aparato de destilación que posea un refrigerante con agua helada y calentar hasta disolver. Destilar, recolectar 25 ml de destilado y transferir al matraz generador de arsina. Lavar el refrigerante y el recipiente colector varias veces con porciones pequeñas de agua, agregar los lavados al destilado en el matraz generador de arsina, agregar bromo (SR) hasta obtener una solución ligeramente amarilla y diluir con agua a 35 ml. Proceder según se indica en *Procedimiento*: el límite es 3 ppm.

Límite de hierro (III)

Pesar exactamente alrededor de 5 g de Gluconato Ferroso y disolver en una mezcla de 100 ml de agua y 10 ml de ácido clorhídrico. Agregar 3 g de ioduro de potasio, agitar y dejar reposar en la oscuridad durante 5 minutos. Titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 5,585 mg de hierro férrico. No debe contener más de 2,0 % de hierro férrico.

Plomo

[NOTA: para la preparación de todas las soluciones acuosas y para el enjuague del material de vidrio antes de usar, emplear agua previamente procesada a través de una resina de intercambio iónico de lecho mixto. Seleccionar todos los reactivos de manera de tener un contenido de plomo lo más bajo posible y almacenar todas las soluciones en envases de vidrio al borosilicato. Limpiar el material de vidrio antes de usar con ácido nítrico 8 N calentado suavemente durante 30 minutos y enjuagar con agua desionizada].

Solución de ácido ascórbico-ioduro de sodio - Transferir 20 g de Ácido Ascórbico y 38,5 g de ioduro de sodio a un matraz aforado de 200 ml, disolver en agua, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Solución de óxido de trioctilfosfina - [Precaución - Esta solución es irritante. Evitar el contacto con los ojos, la piel y la ropa. Tomar precauciones especiales para eliminar las porciones no empleadas].

das de las soluciones a las cuales se agrega este reactivo]. Transferir 5,0 g de óxido de trioctilfosfina a un matraz aforado de 100 ml, disolver en 4-metil-2-pentanona, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Solución estándar - Transferir 5,0 ml de *Solución madre de nitrato de plomo* (ver 590. *Límite de metales pesados*) a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 2,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, agregar 10 ml de ácido clorhídrico 9 N y aproximadamente 10 ml de agua. Agregar 20 ml de *Solución de ácido ascórbico-ioduro de sodio* y 5,0 ml de *Solución de óxido de trioctilfosfina*, agitar durante 30 segundos y dejar separar las fases. Agregar agua para llevar la fase de solvente orgánico hasta el cuello del matraz, agitar nuevamente y dejar separar. Emplear la fase de solvente orgánico como *Solución estándar*, la cual contiene 2,0 µg de plomo por ml.

Blanco - Transferir 10 ml de ácido clorhídrico 9 N y aproximadamente 10 ml de agua a un matraz aforado de 50 ml. Agregar 20 ml de *Solución de ácido ascórbico-ioduro de sodio* y 5,0 ml de *Solución de óxido de trioctilfosfina*, agitar durante 30 segundos y dejar separar las fases. Agregar agua para llevar la fase de solvente orgánico hasta el cuello del matraz, agitar nuevamente y dejar separar. Emplear la fase de solvente orgánico como *Blanco*, la cual no contiene plomo.

Solución muestra - Transferir 1,0 g de Gluconato Ferroso, 10 ml de ácido clorhídrico 9 N, aproximadamente 10 ml de agua, 20 ml de *Solución de ácido ascórbico-ioduro de sodio* y 5,0 ml de *Solución de óxido de trioctilfosfina* a un matraz aforado de 50 ml. Agitar durante 30 segundos y dejar separar las fases. Agregar agua para llevar la fase de solvente orgánico hasta el cuello del matraz, agitar nuevamente y dejar separar. Emplear la fase de solvente orgánico como *Solución muestra*.

Procedimiento - Determinar concomitantemente las absorbancias de la *Solución estándar*, la *Solución muestra* y el *Blanco* en la línea de emisión principal a 283,3 nm, con un espectrofotómetro de absorción atómica apropiado (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*) equipado con una lámpara de plomo de cátodo hueco y una llama de aire-acetileno, empleando 4-metil-2-pentanona para llevar a cero la lectura del aparato. El ensayo sólo es válido si la absorbancia del *Blanco* no es mayor de 20 % de la diferencia entre la absorbancia de la *Solución estándar* y el *Blanco*. La absorbancia de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la de la *Solución estándar* (0,001 %).

Azúcares reductores

Disolver 500 mg de Gluconato Ferroso en 10 ml de agua, calentar y alcalinizar con 1 ml de hidróxido de amonio 6 N. Pasar sulfuro de hidrógeno gaseoso a través de la solución para precipitar el hierro y dejar reposar durante 30 minutos para coagular el precipitado. Filtrar y lavar el precipitado con dos porciones sucesivas de 5 ml de agua. Acidificar el filtrado y los lavados combinados con ácido clorhídrico y agregar 2 ml de ácido clorhídrico 3 N en exceso. Calentar a ebullición hasta que los vapores no oscurezcan el papel de acetato de plomo y continuar calentando a ebullición, si fuera necesario, hasta reducir el volumen de la solución a aproximadamente 10 ml. Enfriar, agregar 5 ml de carbonato de sodio (SR) y 20 ml de agua, filtrar y ajustar el volumen del filtrado a 100 ml. A 5 ml del filtrado agregar 2 ml de tartrato cúprico alcalino (SR) y calentar a ebullición durante 1 minuto: no se debe formar precipitado rojo dentro de 1 minuto.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Disolver 500 mg de carbonato ácido de sodio en una mezcla de agua y ácido sulfúrico diluido (70:30). Cuando la efervescencia haya cesado, disolver en esta solución 1,0 g de Gluconato Ferroso con agitación suave. Titular con nitrato cérico amónico 0,1 M (SV), empleando 0,1 ml de ferroína como indicador. Cada ml de nitrato cérico amónico 0,1 M equivale a 5,585 mg de hierro (II).

FERROSO, SULFATO

FeSO ₄ · 7H ₂ O	PM: 278,0	7782-63-0
Anhidro	PM: 151,9	7720-78-7

Definición - Sulfato Ferroso es Sulfato ferroso heptahidratado. Debe contener una cantidad equivalente a no menos de 99,5 por ciento y no más de 104,5 por ciento de FeSO₄ · 7H₂O y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales o gránulos de color verde azulado pálido; inodoro y eflorescente en aire seco. Se oxida fácilmente en aire húmedo para formar sulfato férrico básico de color amarillo pardusco. Una solución 1 en 10 debe ser ácida frente al tornasol, teniendo un pH de aproximadamente 3,7. Muy soluble en agua a ebullición; fácilmente soluble en agua; insoluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Debe responder a los ensayos para *Sales ferrosas* <410> y *Sulfato* <410>.

Límite de arsénico <540>

Método I. Transferir 1,0 g de Sulfato Ferroso a un balón de 100 ml, agregar 40 ml de ácido sulfúrico 9 N y 2 ml de solución de bromuro de potasio 3 en 10. Conectar de inmediato el balón a un aparato de destilación que posea un refrigerante enfriado con agua helada y calentar el balón suavemente sobre una llama pequeña hasta que el sólido se disuelva, luego destilar hasta recolectar 25 ml de destilado en el recipiente colector. Transferir el destilado al generador de arsina y lavar el refrigerante y el recipiente colector con varias porciones pequeñas de agua, agregando los líquidos de lavado al generador de arsina. Agitar por rotación para mezclar, agregar bromo (SR) hasta que la solución sea ligeramente amarilla y diluir a 35 ml con agua. Proceder según se indica en *Procedimiento*: no más de 3 ppm.

Plomo

Empleando Sulfato Ferroso, proceder según se indica en el ensayo para *Plomo* en *Gluconato ferroso*: no más de 0,001 %.

Mercurio

Debe cumplir con los requisitos del ensayo para *Mercurio* en *Fumarato ferroso*.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

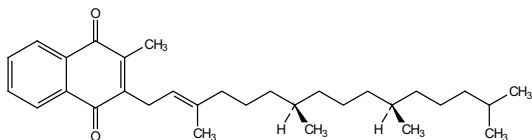
VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Sulfato Ferroso, disolver en una mezcla de 25 ml de ácido sulfúrico 2 N y 25 ml de agua recientemente hervida y enfriada. Agregar ortofenantrolina (SR) y titular inmediatamente con sulfato cérico 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de sulfato cérico 0,1 N equivale a 15,19 mg de FeSO₄ ó a 27,80 mg de FeSO₄ · 7H₂O.

ROTULADO

Indicar en el rótulo que el Sulfato Ferroso no se debe emplear si está recubierto con sulfato férrico básico de color amarillo pardusco.

FITOMENADIONA



$C_{31}H_{46}O_2$ PM: 450,7 84-80-0

Sinonimias - Fitonadiona. Vitamina K_1 .

Definición - Fitomenadiona es $[R-[R^*,R^*-(E)]]$ -2-Metil-3-(3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecenil)-1,4-naftalenodiona. Es una mezcla de *trans*-fitomenadiona (isómero *E*), *cis*-fitomenadiona (isómero *Z*) y *trans*-epoxifitomenadiona. Debe contener no más de 4,0 por ciento de *trans*-epoxifitomenadiona y no menos de 75,0 por ciento de *trans*-fitomenadiona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento del total de los tres componentes y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido transparente, amarillo intenso, oleoso y muy viscoso. Soluble en aceites vegetales, alcohol absoluto, cloroformo y éter; poco soluble en alcohol; insoluble en agua.

Sustancias de referencia - Fitomenadiona SR-FA. *Trans*-epoxifitomenadiona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

[NOTA: proteger la muestra, la *Sustancia de referencia* y las soluciones que las contengan de la exposición a la luz].

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En película fina*.

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: *n*-hexano.

Concentración: 10 μ g por ml.

Las absorptividades a 248 nm no deben diferir en más de 3,0 %.

Determinación del índice de refracción <230>

Entre 1,523 y 1,526.

Reacción

Una solución de Fitomenadiona 1 en 20 en alcohol absoluto debe ser neutra frente al tornasol.

Límite de menadiona y sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno y ciclohexano (80:20).

Solución muestra A - Disolver 400 mg de Fitomenadiona en ciclohexano y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución muestra B - Diluir 1 ml de *Solución muestra A* a 10 ml con ciclohexano.

Solución estándar A - Disolver 40 mg de Fitomenadiona SR-FA en ciclohexano y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Diluir 1 ml de *Solución muestra B* a 20 ml con ciclohexano.

Solución estándar C - Disolver 4,0 mg de menadiona en ciclohexano y diluir a 50 ml con el mismo solvente.

Revelador - Solución de ácido fosfomolibdico al 10 % en alcohol absoluto.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de las *Soluciones muestra A* y *B* y 10 μ l de las *Soluciones estándar A*, *B* y *C*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente, dejar secar al aire durante 5 minutos y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*, calentar a 120 °C durante 5 minutos y examinar bajo luz natural. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra A*, la mancha correspondiente a menadiona no debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar C* (0,2 %); a excepción de la mancha principal y de la mancha correspondiente a menadiona, ninguna mancha debe ser más intensa que la mancha obtenida con la *Solución estándar B* (0,5 %). Ignorar cualquier mancha por debajo de la mancha principal que pueda no estar completamente separada de esta.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por partículas porosas de sílice de 5 μ m de diámetro, con un tamaño de poro de 8 nm. El caudal debe ser aproximadamente 0,4 ml por minuto.

Fase móvil - Heptano, diisopropil éter y octanol (1.000:3,3:0,67). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar A - Pesar exactamente alrededor de 15 mg de Fitomenadiona SR-FA, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver y completar a volumen con *Fase móvil*.

Preparación estándar B - Pesar exactamente alrededor de 15 mg de Fitomenadiona SR-FA y 4,0 mg de *Trans*-epoxifitomenadiona SR-FA, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver y completar a volumen con *Fase móvil*.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 15 mg de Fitomenadiona, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver y completar a volumen con *Fase móvil*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar B* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el ensayo solo es válido si el orden de elución es: *trans*-epoxifitomenadiona, *cis*-fitomenadiona y *trans*-fitomenadiona. Cromatografiar la *Preparación estándar A* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de *trans*-fitomenadiona y *cis*-fitomenadiona debe ser mayor de 2,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar A* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales.

Calcular el porcentaje de *trans*-fitomenadiona en la porción de Fitomenadiona en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$A_{trans} P_E r_{Mtrans} / P_M r_{Etrans}$$

en la cual A_{trans} es el porcentaje de *trans*-fitomenadiona en Fitomenadiona SR-FA, P_E es el peso en mg de Fitomenadiona SR-FA en la *Preparación estándar A*, P_M es el peso en mg de Fitomenadiona en la *Preparación muestra* y r_{Mtrans} y r_{Etrans} son las respuestas de los picos correspondientes al isómero *trans* en la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar A*, respectivamente.

Calcular el porcentaje de *cis*-fitomenadiona en la porción de Fitomenadiona en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$A_{cis} P_E r_{Mcis} / P_M r_{Ecis}$$

en la cual A_{cis} es el porcentaje de *cis*-fitomenadiona en Fitomenadiona SR-FA, r_{Mcis} y r_{Ecis} son las respuestas de los picos correspondientes al isómero *cis* en la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*

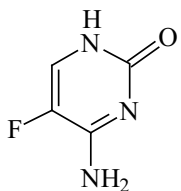
A, respectivamente y los demás términos son los definidos anteriormente.

Calcular el porcentaje de *trans*-epoxifitomenadiona en la porción de Fitomenadiona en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$A_{epoxi} P_E r_{Mepoxi} / P_M r_{Eepoxi}$$

en la cual A_{epoxi} es el porcentaje de *epoxi*-fitomenadiona en Fitomenadiona SR-FA, r_{Mepoxi} y r_{Eepoxi} son las respuestas de los picos correspondientes a *trans*-epoxifitomenadiona en la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar A*, respectivamente y los demás términos son los definidos anteriormente.

FLUCITOSINA



C₄H₄FN₃O

PM: 129,1

2022-85-7

Definición - Flucitosina es 5-Fluorocitosina. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,0 por ciento de C₄H₄FN₃O, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Moderadamente soluble en agua, poco soluble en alcohol; prácticamente insoluble en cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Flucitosina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Concentración: 8 µg por ml.

Medio: ácido clorhídrico diluido (1 en 100).

Las absorptividades a 285 nm, calculadas a partir de la sustancia seca, no deben diferir en más de 2,0 %.

C - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Límite de fluoruracilo*. El valor de R_F de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe corresponder con el obtenido a partir de la *Solución estándar*.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 1,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Fluoruro

[NOTA: Se recomienda el uso de material de plástico para contener las soluciones mientras se mide el potencial.]

Solución reguladora - Transferir 55 g de cloruro de sodio y 0,5 g de citrato de sodio a un matraz aforado de 1 litro y disolver con 350 ml de agua. Agregar cuidadosamente 75 g de hidróxido de sodio

y agitar hasta disolución. Enfriar a temperatura ambiente y agregar cuidadosamente 225 ml de ácido acético glacial. Enfriar a temperatura ambiente, agregar 300 ml de alcohol isopropílico, completar a volumen con agua y mezclar. El pH de la solución debe estar comprendido entre 5,0 y 5,5.

Solución madre del estándar - Pesar exactamente alrededor de 2,211 g de fluoruro de sodio, previamente secados a 150 °C durante 4 horas, y transferir a un matraz aforado de 1 litro. Disolver en aproximadamente 200 ml de agua, agregar 1,0 ml de solución de hidróxido de sodio 0,4 %, completar a volumen con agua y mezclar. Cada ml de esta solución contiene 1 mg de ión fluoruro.

Soluciones estándar - Diluir cuantitativamente y en etapas porciones de la *Solución madre del estándar* con *Solución reguladora* en sendos matraces aforados de 100 ml hasta obtener *Soluciones estándar* de aproximadamente 1, 3, 5 y 10 µg de fluoruro por ml, respectivamente.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 1 g de Flucitosina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a volumen con *Solución reguladora*.

Electrodo de referencia de calomel modificado - Mezclar 70 ml de una solución saturada de cloruro de potasio, recientemente preparada, con 30 ml de alcohol isopropílico, llenar el electrodo con el líquido sobrenadante transparente y dejar el electrodo sumergido en el resto de la solución durante por lo menos 2 horas antes de usar. Mantener el electrodo sumergido en la solución de alcohol-cloruro de potasio cuando no se emplee.

Curva estándar - Determinar los potenciales de las *Soluciones estándar* según se indica en *Procedimiento*. Representar gráficamente la concentración de flúor, en mg por 100 ml, en función del potencial para cada solución en escala semilogarítmica y calcular la ecuación de la recta que mejor ajuste.

Procedimiento - [NOTA: para realizar las mediciones, sumergir los electrodos en la solución, contenida en un vaso de precipitado de 150 ml y agitar durante 2 minutos antes de la lectura.] Medir concomitantemente el potencial, en mV (ver 780. *Volumetría*) de las *Soluciones estándar* y de la *Solución muestra*, con un potenciómetro apropiado equipado con un electrodo para ión fluoruro y el *Electrodo de referencia de calomel modificado*. Calcular el porcentaje de fluoruro, en la porción de Flucitosina en ensayo por la fórmula siguiente:

C/10

en la cual C es la concentración de fluoruro, en mg por 100 ml, a partir de la curva estándar: no debe contener más de 0,05 % de Fluoruro.

Límite de Fluorouracilo

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,5 mm de espesor.

Diluyente - Ácido acético glacial y agua (4:1).

Fase móvil - Cloroformo y ácido acético glacial (13:7).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de *Fluorouracilo* en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,025 mg por ml.

Solución muestra - Disolver 250 mg de Flucitosina en 10 ml de *Diluyente*.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 20 µl de *Solución muestra* y 20 µl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar el cromatograma hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente las tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente de solvente y dejar secar al aire. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: ninguna mancha de la *Solución muestra* debe ser mayor en tamaño o intensidad que la mancha de R_f similar obtenida a partir de la *Solución estándar*, correspondiendo a no más de 0,1 % de fluorouracilo.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

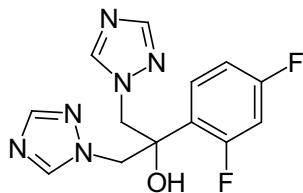
Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 400 mg de Flucitosina, y disolver en 150 ml de una mezcla de ácido acético glacial y anhídrido acético (2:1), calentando ligeramente fuera necesario. Titular con ácido perclórico 0,1N (SV), determinando el punto potenciométrico con un sistema de electrodos de vidrio-calomel. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 12,91 mg de $C_4H_4FN_3O$.

FLUCONAZOL



$C_{13}H_{12}F_2N_6O$ PM: 306,3 86386-73-4

Definición - Fluconazol es α -(2,4-difluorofenil)- α -(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)-1H-1,2,4-triazol-1-etanol. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,5 por ciento de $C_{13}H_{12}F_2N_6O$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco cristalino. Fácilmente soluble en metanol; soluble en acetona y alcohol; moderadamente soluble en cloroformo e isopropanol; ligeramente soluble en agua; muy poco soluble en tolueno.

Sustancias de referencia - Fluconazol SR-FA. Impureza A de Fluconazol SR-FA: 2-[2-fluoro-4-(1H-1,2,4-triazol-1-il)fenil]-1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-il)-propan-2-ol. Impureza B de Fluconazol SR-FA: 2-(4-fluorofenil)-1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-il)-propan-2-ol. Impureza C de Fluconazol SR-FA: 1,1'-(1,3-fenil-en)di(1H-1,2,4-triazol-1-il).

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto. Almacenar a temperaturas menores de 30 °C.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>.

Solvente: alcohol.

Concentración: 200 µg por ml.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 138 y 142 °C.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105°C durante 3 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %, determinado sobre 0,5 g de muestra.

Límite de hierro <580>

Pesar exactamente alrededor de 0,5 g de Fluconazol y transferir a un tubo de ensayo. Disolver en

5 ml de alcohol, agregar 5 ml de agua destilada y mezclar. El límite es de 0,002 %.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 260 nm y una columna de 15 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3,5 µm de diámetro. Mantener la temperatura de la columna aproximadamente a 40 °C. El caudal debe ser aproximadamente 0,5 ml por minuto.

Fase móvil - Agua y acetonitrilo (80:20). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Transferir una cantidad exactamente pesada de Fluconazol SR-FA, Impureza A de Fluconazol SR-FA, Impureza B de Fluconazol SR-FA e Impureza C de Fluconazol SR-FA a un matraz aforado apropiado, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 10 µg de cada *Sustancia de referencia* por ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 30 mg de Fluconazol, transferir a un matraz aforado de 10 ml, agregar 2 ml de acetonitrilo, completar a volumen con agua y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de impurezas B y C no debe ser menor de 1,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 5,0 %.

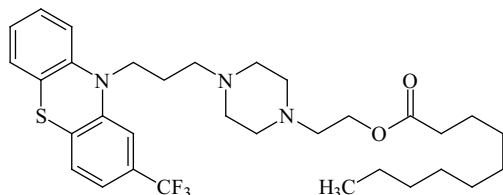
Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Los tiempos de retención deben ser aproximadamente 4,9 minutos para la impureza A de fluconazol, 8,0 minutos para la impureza B de fluconazol, 8,5 minutos para la impureza C de fluconazol y 9,9 minutos para el fluconazol. Calcular el porcentaje de las impurezas A, B y C de fluconazol y de cualquier otra impureza en la porción de Fluconazol en ensayo, relacionando las respuestas de los picos de impureza A, impureza B, impureza C o cualquier otra impureza, según corresponda, obtenidas a partir de la *Solución muestra* y el promedio de las respuestas de los picos correspondientes a la impureza A, impureza B, impureza C o de fluconazol, según corresponda, obtenido a partir de inyecciones repetidas de la *Solución estándar*: no debe contener más de 1,0 % de ninguna impureza individual con un tiempo de

retención relativo de aproximadamente 0,6; no debe contener más de 0,2 % de las impurezas A o C de fluconazol; no debe contener más de 0,1 % de la impureza B de fuconazol; no debe contener más de 0,1 % de cualquier otra impureza individual; no debe contener más de 0,3 % de impurezas totales desconocidas; y no debe contener más de 1,5 % de impurezas totales.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 125 mg de Fluconazol y disolver en 60 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 15,32 mg de $C_{13}H_{12}F_2N_6O$.

FLUFENAZINA, DECANOATO DE



$C_{32}H_{44}F_3N_3O_2S$ PM: 591,8 5002-47-1

Definición - Decanoato de Flufenazina es Decanoato de 4-[3-[2-(trifluorometil)-10-*H*-fenotiazin-10-il]propil]-1-piperazinoetanol. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,5 por ciento de $C_{32}H_{44}F_3N_3O_2S$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido viscoso amarillo pálido o sólido amarillo. Muy soluble en cloruro de metileno, etanol y éter; fácilmente soluble en metanol; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Decanoato de Flufenazina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. Examinar el Decanoato de Flufenazina en forma de discos preparados depositando 50 μ l de una solución de cloruro de metileno de aproximadamente 2,5 % en un disco de bromuro de potasio. [NOTA: secar los discos a 60 °C durante 1 hora antes de su uso].

B - Absorción ultravioleta <470>. Disolver 50 mg de Decanoato de Flufenazina en metanol y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Diluir 1 ml de esta solución a 50 ml con metanol. Examinar entre 230 y 350 nm. La solución debe presentar máximos de absorción a 260 y 310 nm.

Sustancias relacionadas

[NOTA: preparar las soluciones inmediatamente antes de su uso y protegidas de la luz].

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetona, ciclohexano y amoníaco concentrado (80:30:5).

Solución muestra - Disolver 200 mg de Decanoato de Flufenazina en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar A - Diluir 1 ml de la *Solución muestra* a 100 ml con metanol.

Solución estándar B - Diluir 5 ml de la *Solución estándar A* a 10 ml con metanol.

Revelador - Solución de ácido sulfúrico al 50 % v/v.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de las *Soluciones estándar A* y *B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar a 100 °C durante 15 minutos. Por ambos métodos de visualización: a excepción de la mancha principal, ninguna mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser mayor en intensidad a la mancha obtenida con la *Solución estándar A* (1,0 %) y como máximo una de las manchas debe ser más intensa que la mancha obtenida con la *Solución estándar B* (0,5 %).

Límite de metales pesados <590>

Método VI. Emplear 2 ml de *Solución estándar de plomo* (10 ppm). No más de 0,002 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 60 °C durante 3 horas, a una presión no mayor de 5 mm Hg: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

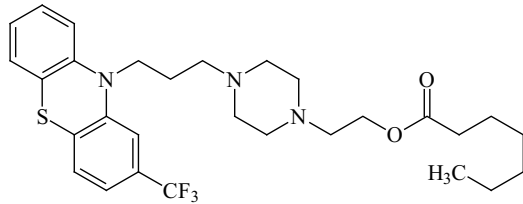
Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Decanoato de Flufenazina y disolver en 30 ml de ácido acético glacial. Emplear como indicador 0,05 ml de cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N hasta que el color cambie de violeta a verde. Realizar una determinación con un blanco (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 29,59 mg de $C_{32}H_{44}F_3N_3O_2S$.

FLUFENAZINA, ENANTATO DE



$C_{29}H_{38}F_3N_3O_2S$ PM: 549,7 2746-81-8

Definición - Enantato de flufenazina es el Enantato de 4-[3-[2-(trifluorometil)-10-*H*-fenotiazin-10-il]propil]1-piperazinilo. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,5 por ciento de $C_{29}H_{38}F_3N_3O_2S$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido viscoso amarillo pálido o sólido amarillo. Muy soluble en cloruro de metileno, etanol y éter; fácilmente soluble en metanol; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Enantato de Flufenazina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. Examinar el Enantato de Flufenazina en forma de discos preparados depositando 50 μ l de una solución de cloruro de metileno de aproximadamente 2,5 % en un disco de bromuro de potasio. [NOTA: secar los discos a 60 °C durante 1 hora antes de su uso].

Sustancias relacionadas

[NOTA: preparar las soluciones inmediatamente antes de su uso y protegerlas de la luz].

Fase estacionaria, Fase móvil y Revelador - Proceder según se indica en *Sustancias relacionadas* en *Decanoato de Flufenazina*.

Solución muestra - Disolver 200 mg de Enantato de Flufenazina en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar A - Diluir 1 ml de la *Solución muestra* a 100 ml con metanol.

Solución estándar B - Diluir 5 ml de la *Solución muestra* a 10 ml con metanol.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Sustancias relacionadas* en *Decanoato de Flufenazina*. Por ambos métodos de visualización, a excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ninguna

mancha debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar A* (1,0 %) y como máximo una de las manchas puede ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar B* (0,5 %).

Límite de metales pesados <590>

Método VI. Emplear 2 ml de *Solución estándar de plomo* (10 ppm) para preparar la *Solución estándar*. No más de 0,002 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 60 °C durante 3 horas, a una presión no mayor de 5 mm Hg: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

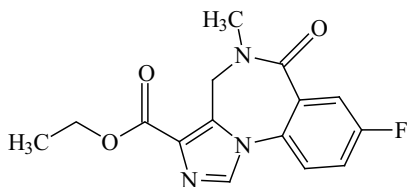
Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Enantato de Flufenazina y disolver en 30 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) empleando 0,05 ml de cristal violeta (SR) como indicador, hasta que el color vire de violeta a verde. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 27,49 mg de $C_{29}H_{38}F_3N_3O_2S$.

FLUMAZENILO



$C_{15}H_{14}FN_3O_3$ PM: 303,3 78755-81-4

Definición - Flumazenilo es Ácido 8-fluoro-5,6-dihidro-5-metil-6-oxo-4H-imidazo[1,5-a][1,4]benzodiazepina-3-carboxílico. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{15}H_{14}FN_3O_3$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en cloruro de metileno; moderadamente soluble en metanol; muy poco soluble en agua.

Sustancia de referencia - Impureza B de Flumazenilo SR-FA: 8-hidroxi-5-metil-6-oxo-5,6-dihidro-4H-imidazo[1,5-a][1,4]benzodiazepina-3-carboxilato de etilo.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. Proceder según se indica en *Identificación por medio de espectros de referencia*.

B - El punto de fusión debe estar comprendido entre 198 y 202 °C (ver 260. *Determinación del punto de fusión*).

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %; en un crisol de platino.

Límite de impureza C: Dietoxi-N,N-dimetilmetanamina

Disolver 100 mg de Flumazenilo en 0,5 ml de cloruro de metileno y diluir a 10 ml con alcohol butílico. A 5,0 ml de esta solución agregar 2,0 ml de una solución de ninhidrina al 0,2 % en una mezcla de alcohol butílico y ácido acético al 12 % p/v (95:5). Calentar en un baño de agua a 95 °C durante 15 minutos: el color azul-violeta producido en esta solución no debe ser más intenso que el de un control tratado del mismo modo, empleando 5,0 ml de una solución de dietilacetil de dimetilformamida al 0,01 % en alcohol butílico (1 %).

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 230 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano totalmente encapado, químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Transferir 800 ml de agua a un matraz aforado de 1 litro, ajustar a pH 2,0 con ácido fosfórico, agregar 130 ml de metanol y 70 ml de tetrahidrofurano. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Disolver 50 mg de Flumazenilo en 5,0 ml de metanol y diluir a 25 ml con *Fase móvil*.

Solución estándar A - Disolver 2 mg de Impureza B de Flumazenilo SR-FA y 2 mg de Flumazenilo en *Fase móvil* y diluir a 25 ml con *Fase móvil*. Diluir 2,0 ml de esta solución a 25 ml con *Fase móvil*.

Solución estándar B - Diluir 10,0 ml de *Solución muestra* a 100 ml con *Fase móvil*. Diluir 1,0 ml de esta solución a 100 ml con *Fase móvil*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar A* y registrar la respuesta de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de impureza B de flumazenilo y flumazenilo no debe ser menor de 3,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución estándar B* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas durante tres veces el tiempo de retención de flumazenilo y medir las respuestas de todos los picos: el tiempo de retención de flumazenilo debe ser aproximadamente 14 minutos; los tiempos de retención relativos al flumazenilo deben ser aproximadamente 0,4 para ácido 8-fluoro-5-metil-6-oxo-5,6-dihidro-4H-imidazo[1,5-a][1,4]benzodiazepina-3-carboxílico (impureza A); 0,5 para 7-fluoro-4-metil-3,4-dihidro-1H-1,4-benzodiazepina-2,5-diona (impureza D); 0,6 para 5-metil-6-oxo-5,6-dihidro-4H-imidazo[1,5-a][1,4]benzodiazepina-3-carboxilato de etilo (impureza E); 0,7 para impureza B y 2,4 para 8-cloro-5-metil-6-oxo-5,6-dihidro-4H-imidazo[1,5-a][1,4]benzodiazepina-3-carboxilato de etilo. El pico correspondiente a impureza B en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor a dos veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar B* (0,2 %); a excepción del pico principal y del pico correspondiente a impureza B en el cromatograma

obtenido a partir de la *Solución muestra*, ninguna impureza individual debe ser mayor al pico principal obtenido con la *Solución estándar B* (0,1 %); la suma de las respuestas de todos los picos, a excepción del pico principal, no debe ser mayor a 2 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar B* (0,2 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor a 0,5 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar B* (0,05 %).

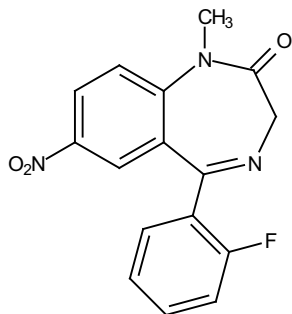
Pérdida por secado <680>

Secar entre 100 y 105 °C: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Flumazenilo, disolver en 50 ml de una mezcla de ácido acético glacial y anhídrido acético (3:2) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 30,33 mg de $C_{15}H_{14}FN_3O_3$.

FLUNITRAZEPAM



$C_{16}H_{12}FN_3O_3$ PM: 313,3 1622-62-4

Definición - Flunitrazepam es 5-(2-Fluorofenil)-1,3-dihidro-1-metil-7-nitro-2H-1,4-benzodiazepin-2-ona. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,5 por ciento de $C_{16}H_{12}FN_3O_3$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o amarillento. Soluble en acetona; poco soluble en alcohol y éter; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Flunitrazepam SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Sustancias relacionadas* con luz ultravioleta a 254 nm. La mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra B* se debe corresponder en valor de R_f y tamaño a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar B*.

Sustancias relacionadas

[NOTA: realizar el ensayo protegido de la luz.]

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Nitrometano y acetato de etilo (85:15)

Solución muestra A - Disolver 200 mg de Flunitrazepam en acetona y diluir a 5 ml con el mismo solvente. Preparar esta solución en el momento de su uso.

Solución muestra B - Diluir 1 ml de la *Solución muestra A* a 50 ml con acetona.

Solución estándar A - Diluir 1 ml de la *Solución muestra A* a 20 ml con acetona. Diluir 3 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 8 mg de Flunitrazepam SR-FA en acetona y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar C - Disolver 8 mg de Flunitrazepam SR-FA y 8 mg de *Nitrazepam* en acetona y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 μ l de la *Solución muestra A*, 5 μ l de la *Solución muestra B*, 5 μ l de la *Solución estándar A*, 5 μ l de la *Solución estándar B* y 5 μ l de la *Solución estándar C*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente, dejar secar al aire y examinar con luz ultravioleta a 254 nm: a excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra A*, ninguna mancha debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar A* (0,3 %). El ensayo sólo es válido si el cromatograma obtenido con la *Solución estándar C* presenta dos manchas claramente separadas.

Determinación del punto de fusión <260>

Método I. Entre 168 y 172 °C.

Pérdida por secado <680>

Secar entre 100 y 105 °C: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

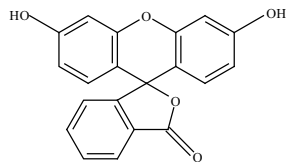
Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Flunitrazepam, disolver en 20 ml de ácido acético glacial y agregar 50 ml de anhídrido acético. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 31,33 mg de $C_{16}H_{12}FN_3O_3$.

FLUORESCÉINA



$C_{20}H_{12}O_5$ PM: 332,3 2321-07-5

Definición - Fluoresceína es 3',6'-Dihidroxispiro[isobenzofuran-1(3*H*),9'-[9*H*]xanten]-3-ona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{20}H_{12}O_5$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo rojo amarillento a rojo. Soluble en hidróxidos alcalinos diluidos; insoluble en agua.

Sustancias de referencia - Diacetilfluoresceína SR-FA. Fluoresceína SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Secar previamente sobre gel de sílice durante 16 horas.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 1,0 %.

Determinación de cinc

Suspender 100 mg de Fluoresceína en 10 ml de una solución saturada de cloruro de sodio, agregar 2 ml de ácido clorhídrico 3 N, mezclar, filtrar y agregar 1 ml de ferricianuro de potasio (SR) al filtrado: no se debe producir turbidez.

Acriflavina

Suspender 10 mg de Fluoresceína en 5 ml de agua, mezclar y filtrar. Agregar al filtrado unas pocas gotas de una solución de salicilato de sodio 1 en 10: no se debe formar precipitado.

VALORACIÓN

Diluyente - Solución reguladora alcalina de borato pH 9,0 (ver *Soluciones reguladoras* en *Reactivos y Soluciones*).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 110 mg de Diacetilfluoresceína SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver con 10 ml de alcohol, agregar 2 ml de hidróxido de

sodio 2,5 N y calentar en un baño de vapor hasta ebullición durante 20 minutos agitando con frecuencia. Enfriar, completar a volumen con agua y mezclar. Diluir cuantitativamente y en etapas con agua para obtener una solución de aproximadamente 1,1 μg de diacetilfluoresceína por ml. Transferir 3,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, agregar 20 ml de *Diluyente*, completar a volumen con agua y mezclar.

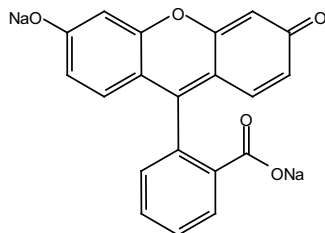
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 90 mg de Fluoresceína, transferir a un matraz aforado de 100 ml y disolver con 10 ml de alcohol. Agregar 2 ml de hidróxido de sodio 2,5 N y calentar en un baño de vapor hasta ebullición durante 20 minutos agitando con frecuencia. Enfriar, completar a volumen con agua y mezclar. Diluir cuantitativamente y en etapas con agua para obtener una solución de aproximadamente 0,9 μg por ml. Transferir 3,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, agregar 20 ml de *Diluyente*, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Determinar las intensidades de fluorescencia, con un fluorómetro, de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, a la longitud de onda de excitación y de emisión, 485 y 515 nm, respectivamente. Calcular la cantidad en mg de $C_{20}H_{12}O_5$ en la porción de Fluoresceína en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$(332,3/416,4)(3.333C)(I_M/I_E)$$

en la cual 332,3 y 416,4 son los pesos moleculares de Fluoresceína y Diacetilfluoresceína respectivamente, *C* es la concentración en μg por ml de Diacetilfluoresceína SR-FA en la *Preparación estándar*, y I_M e I_E son los valores de fluorescencia obtenidos a partir de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, respectivamente.

FLUORESCEÍNA SÓDICA



$C_{20}H_{10}Na_2O_5$ PM: 376,3 518-47-8

Definición - Fluoresceína Sódica es 2-(3-Oxo-6-óxido-3H-xanten-9-il) benzoato disódico. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_{20}H_{10}Na_2O_5$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo rojo anaranjado. Higroscópico e inodoro. Fácilmente soluble en agua; moderadamente soluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Una solución de Fluoresceína Sódica debe presentar una intensa fluorescencia aunque esté muy diluida. La fluorescencia debe desaparecer cuando la solución se acidifica y reaparecer cuando la solución se alcaliniza nuevamente.

B - El residuo remanente una vez sometido a ignición debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

C - Transferir 1 gota de una solución de Fluoresceína Sódica 1 en 2.000 sobre un trozo de papel de filtro: se debe producir una mancha amarilla y cuando ésta se expone, estando húmeda a vapores de bromo durante 1 minuto y luego al vapores de amoníaco, debe adquirir una coloración rosa profundo.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 17,0 %.

Cinc

Disolver 100 mg de Fluoresceína Sódica en 10 ml de una solución saturada de cloruro de sodio, agregar 2 ml de ácido clorhídrico 3 N, agitar, filtrar y agregar al filtrado 1 ml de ferrocianuro de potasio (SR): no se debe producir turbidez.

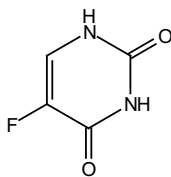
Acriflavina

Disolver 10 mg de Fluoresceína Sódica en 5 ml de agua y agregar unas gotas de solución de salicilato de sodio 1 en 10: no se debe formar precipitado.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Fluoresceína Sódica, transferir a un matraz aforado de 500 ml y completar a volumen con agua. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 200 ml y completar a volumen con una solución reguladora de fosfato pH 8 (ver *Soluciones reguladoras* en *Reactivos y Soluciones*). Medir la absorbancia de la solución en el máximo a 492 nm (ver 470. *Espectrofotometría de absorción ultravioleta y visible*). Calcular el contenido de $C_{20}H_{10}Na_2O_5$ empleando como coeficiente de extinción específica $E(1\%, 1\text{ cm})$ un valor de 2.050.

FLUOROURACILO



$C_4H_3FN_2O_2$ PM: 130,1 51-21-8

Definición - Fluorouracilo es 5-Fluoro-2,4(1*H*,3*H*)-pirimidinodiona. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_4H_3FN_2O_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco, prácticamente inodoro. Se descompone aproximadamente a 282 °C. Moderadamente soluble en agua; poco soluble en alcohol; prácticamente insoluble en cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Fluorouracilo SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

Precaución - Tomar precauciones para evitar la inhalación y el contacto con la piel.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*.

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: solución reguladora de acetato de pH 4,7 que contiene 8,4 g de acetato de sodio y 3,35 ml de ácido acético glacial mezclado con agua para obtener 1 litro.

Concentración: 10 µg por ml.

Las absorptividades a 266 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

C - A 5 ml de una solución de Fluorouracilo 1 en 100, agregar 1 ml de agua de bromo (SR): debe desaparecer el color del bromo.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Contenido de flúor

[NOTA: se recomienda el uso de material plástico para contener las soluciones durante todo el ensayo.]

Solución de alcohol isopropílico - Diluir 295 ml de alcohol isopropílico con agua a 500 ml.

Solución reguladora - Transferir 55 g de cloruro de sodio a un matraz aforado de 1 litro, agregar 500 mg de citrato de sodio, 255 g de acetato de sodio y 300 ml de agua. Agitar, disolver y agregar 115 ml de ácido acético glacial. Enfriar a temperatura ambiente, agregar 300 ml de alcohol isopropílico, completar a volumen con agua y mezclar. El pH de la solución resultante debe estar comprendido entre 5,0 y 5,5.

Solución madre de la muestra - Transferir 200 mg de Fluorouracilo exactamente pesados a un matraz aforado de 250 ml, agregar aproximadamente 150 ml de 1,2-dimetoxietano, agitar mecánicamente hasta disolver, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Solución muestra - Transferir 15 ml de la *Solución madre de la muestra* a un matraz de 500 ml de fondo plano y provisto de una junta de vidrio esmerilado, agregar 15 ml de solución de bifenilo sódico a través de un embudo de vástago largo para evitar salpicaduras, agitar el matraz suavemente por rotación y cubrir con un vidrio de reloj. Dejar reposar a temperatura ambiente durante 20 minutos, agregar cuidadosamente 50,0 ml de alcohol isopropílico mientras se agita el matraz por rotación. Agregar 10,0 ml de peróxido de hidrógeno al 30 % y 4,0 ml de hidróxido de sodio 1 N y conectar el matraz a un refrigerante, previamente enjuagado con agua y alcohol isopropílico y secado. Colocar el matraz sobre una placa calefactora, aproximadamente a 245 °C, y calentar a reflujo durante 1 hora. Enfriar a temperatura ambiente, enjuagar el refrigerante con 15 ml de *Solución de alcohol isopropílico*, transferir el contenido a un matraz aforado de 250 ml empleando *Solución de alcohol isopropílico* para enjuagar, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Transferir 15 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Solución reguladora*.

Blanco del reactivo - Transferir 15 ml de 1,2-dimetoxietano a un matraz de 500 ml de fondo plano y provisto de una junta de vidrio esmerilado y proceder según se indica en *Solución muestra*, comenzando donde dice: "agregar 15 ml de solución de bifenilo sódico...".

Solución madre del estándar - Transferir 2,211 g de fluoruro de sodio, exactamente pesados y previamente, secados a 150 °C durante 4 horas, a un matraz aforado de 1 litro y disolver en aproximadamente 200 ml de agua. Agregar 1 ml de solución de hidróxido de sodio 1 en 25, completar a volumen con agua y mezclar. Cada ml de esta solución equivale a 1 mg de fluoruro.

Electrodo de referencia de calomel modificado - Mezclar 70 ml de una solución saturada de cloruro de potasio, recientemente preparada, con 30 ml de

alcohol isopropílico, llenar el electrodo con el líquido sobrenadante transparente y dejar el electrodo sumergido en el resto de la solución durante por lo menos 2 horas antes de usar. Mantener el electrodo sumergido en la solución de alcohol isopropílico-cloruro de potasio cuando no se emplee.

Curva estándar - Diluir 10,0 ml de *Solución madre del estándar* con agua a 100 ml. Transferir 0,8; 1,0; 1,2 y 1,6 ml de la solución anterior a sendos matraces aforados de 100 ml, respectivamente. Agregar a cada matraz 15 ml de *Blanco del reactivo*, completar a volumen con *Solución reguladora* y mezclar. Construir la curva estándar, empleando estas diluciones con concentraciones de 0,8; 1,0; 1,2 y 1,6 µg por ml, respectivamente. Determinar los potenciales de cada solución según se indica en *Procedimiento*. Graficar la concentración de flúor, en mg por 100 ml, en función del potencial para cada solución en papel semilogarítmico y calcular la ecuación de la recta que mejor ajuste.

Procedimiento - [NOTA: para realizar las mediciones, sumergir los electrodos en la solución, contenida en un vaso de precipitado de 150 ml y agitar durante 2 minutos antes de la lectura.] Medir el potencial de la *Solución muestra*, en mV, con un medidor de pH que tenga una reproducibilidad mínima de ± 0,2 mV, empleando un electrodo específico para ion fluoruro y el *Electrodo de referencia de calomel modificado*. Determinar la cantidad de flúor en mg por 100 ml de la *Solución muestra* a partir de la ecuación obtenida en *Curva estándar*. Multiplicar la cantidad por 138,9 para expresar el resultado como porcentaje. No debe contener menos de 13,9 % y no más de 15,0 % de flúor, calculado sobre la sustancia seca.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío sobre pentóxido de fósforo a 80 °C durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm × 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua. Filtrar y desgasificar.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Fluorouracilo SR-FA en agua y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera

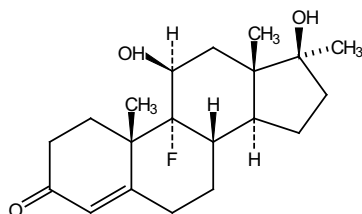
necesario, con agua para obtener una solución de aproximadamente 10 µg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Fluorouracilo, transferir a un matraz aforado de 200 ml, disolver y completar a volumen con agua y mezclar. Diluir cuantitativamente un volumen exactamente medido de esta solución con agua para obtener una solución de aproximadamente 10 µg por ml.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 2.500 platos teóricos y la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente de 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₄H₃FN₂O₂ en la porción de Fluorouracilo en ensayo.

FLUOXIMESTERONA



$C_{20}H_{29}FO_3$ PM: 336,5 76-43-7

Definición - Fluoximesterona es (11 β ,17 β)-9-Fluoro-11,17-dihidroxi-17-metilandrosta-4-en-3-ona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{20}H_{29}FO_3$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Funde a aproximadamente 240 °C, con descomposición. Moderadamente soluble en alcohol; poco soluble en cloroformo; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Fluoximesterona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. En *fase sólida*. [NOTA: en caso de aparecer diferencias, disolver porciones de la muestra y la *Sustancia de referencia* en alcohol absoluto, evaporar hasta sequedad y repetir el ensayo sobre los residuos.]

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: alcohol.

Concentración: 10 μ g por ml.

Las absorbancias a 242 nm no deben diferir en más de 2,5 %.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre + 104° y + 112°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en alcohol.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. Mantener la columna a aproximadamente 40 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución A - Metanol y agua (55:45). Filtrar y desgasificar.

Solución B - Metanol. Filtrar y desgasificar.

Fase móvil - Emplear mezclas variables de *Solución A* y *Solución B*. Programar el cromatógrafo del siguiente modo:

Tiempo (min)	Solución A (%)	Solución B (%)	Etapas
0-20	100→60	0→40	Gradiente lineal
20-40	60→0	40→100	Gradiente lineal
40-45	0	100	Isocrático
45-45,1	0→100	100→0	Gradiente lineal
45,1-60	100	0	Isocrático

Solución blanco - Emplear la *Solución B*.

Solución muestra - Preparar una solución de Fluoximesterona en *Solución B* de aproximadamente de 0,5 mg por ml.

Solución de aptitud del sistema - Diluir cuantitativamente un volumen de *Solución muestra* con metanol para obtener una solución de aproximadamente 5 μ g por ml.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución muestra* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna determinada a partir del pico de fluoximesterona no debe ser menor de 15.000 platos teóricos. Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la relación señal-ruido para el pico de fluoximesterona no debe ser menor de 100.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 5 μ l) de la *Solución blanco* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos que no aparezcan en la *Solución blanco* que tengan una respuesta igual o mayor a 0,1 % del pico de fluoximesterona. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Fluoximesterona en ensayo, en relación a la suma de las respuestas de todos los picos. No debe contener más de 1,0 % de cualquier impureza individual y no más de 2,0 % de impurezas totales.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm × 4 mm con fase estacionaria constituida por partículas porosas de sílice de 5 a 10 µm de diámetro.

Fase móvil - Cloruro de *n*-butilo, agua-cloruro de *n*-butilo saturado, tetrahidrofurano, metanol y ácido acético glacial (475:475:70:35:30). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución del estándar interno - Disolver una cantidad de *Metilprednisolona* en una mezcla de cloroformo y metanol (95:5) para obtener una solución de aproximadamente 200 µg por ml.

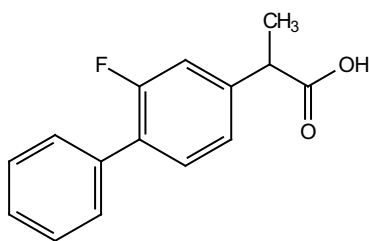
Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Fluoximesterona SR-FA en *Solución del estándar interno* para obtener una solución de aproximadamente 0,25 mg por ml.

Preparación muestra - Disolver una cantidad exactamente pesada de Fluoximesterona en *Solución del estándar interno* para obtener una solución de aproximadamente 0,25 mg por ml.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de fluoximesterona y del estándar interno no debe ser menor de 3,0; la desviación estándar relativa de la relación entre los picos del analito y del estándar interno para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₂₀H₂₉FO₃ en la porción de Fluoximesterona en ensayo.

FLURBIPROFENO



$C_{15}H_{13}FO_2$ PM: 244,3 5104-49-4

Definición - Flurbiprofeno es Ácido (\pm) 2-fluoro- α -metil[1,1'-bifenil]-4-acético. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_{15}H_{13}FO_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino. Fácilmente soluble en acetona, alcohol absoluto, éter y metanol; soluble en acetonitrilo; prácticamente insoluble en agua.

Sustancias de referencia - Flurbiprofeno SR-FA. Impureza A de Flurbiprofeno SR-FA: ácido 2-(4-bifenilil)propiónico.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: hidróxido de sodio 0,1 N.

Concentración: 10 μ g por ml.

El máximo de absorbancia a 247 nm debe ser aproximadamente 0,8.

C - Calentar 0,5 ml de una solución saturada de trióxido de cromo en ácido sulfúrico dentro de un baño de agua durante 5 minutos: la solución humedece las paredes del tubo fácilmente y no hay residuos grasos. Agregar 2 ó 3 mg de Flurbiprofeno y calentar en un baño de agua durante 5 minutos: la solución no humedece fácilmente las paredes del tubo ni se vierte con facilidad.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 114 y 117 °C.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 60 °C hasta peso constante: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 15 cm \times 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 4 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, acetonitrilo y ácido acético glacial (12:7:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Agua y acetonitrilo (11:9).

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Impureza A de Flurbiprofeno SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,050 mg por ml.

Solución estándar - Diluir 2,0 ml de la *Solución madre del estándar* a 10,0 ml con *Diluyente* y mezclar.

Solución muestra - Preparar una solución de Flurbiprofeno en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 2,0 mg por ml.

Solución de resolución - A 2,0 ml de la *Solución madre del estándar* agregar 20,0 mg de Flurbiprofeno, diluir a 10,0 ml con *Diluyente* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1 %.

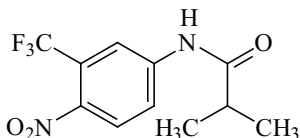
Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,9 para impureza A de flurbiprofeno y 1,0 para flurbiprofeno. Calcular el porcentaje de impureza A de flurbiprofeno en la porción de Flurbiprofeno, en ensayo. No debe contener más de 0,5 % de impureza A de flurbiprofeno. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Flurbiprofeno en ensayo, relacionando la respuesta del pico para cada impureza y la suma de las respuestas de todos los picos obtenidos a partir de la *Solución muestra*: no debe contener más de 1,0 % de impurezas totales.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 0,5 g de Flurbiprofeno, disolver en 100 ml de alcohol, previamente

neutralizado con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) frente a la fenolftaleína, agregar fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) hasta la primera aparición de un color rosado claro que persiste no menos de 30 segundos. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetria*). Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 24,43 mg de $C_{15}H_{13}FO_2$.

FLUTAMIDA



C₁₁H₁₁F₃N₂O₃ PM:276,2 13311-84-7

Definición - Flutamida es 2-Metil-N-[4-nitro-3-(trifluorometil)fenil]propanamida. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de C₁₁H₁₁F₃N₂O₃, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino amarillo pálido. Fácilmente soluble en acetato de etilo, acetona y metanol; soluble en cloroformo y éter; prácticamente insoluble en agua, éter de petróleo y aceites minerales.

Sustancias de referencia - Flutamida SR-FA. *o*-Flutamida SR-FA: 2-Metil-N-[6-nitro-3-(trifluorometil)fenil]propanamida.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 110 y 114 °C; con un intervalo de fusión no mayor de 2 °C.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico y Fase móvil - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución de sensibilidad - Disolver cuantitativamente y en etapas una cantidad exactamente pesada de Flutamida en una mezcla de agua: acetonitrilo (4:1) para obtener una solución de 0,1 µg por ml.

Solución muestra - Proceder según se indica en *Preparación muestra* en *Valoración*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 1,4 para *o*-flutamida y 1,0 para flutamida; la resolución *R* entre los picos de *o*-flutamida y flutamida no debe ser menor de 6,0. Cromatografiar la *Solución de sensibilidad* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 10,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas durante al menos 2 veces el tiempo de retención del pico principal y medir las respuestas de todos los picos. Identificar los picos que pudieran aparecer en el cromatograma de la *Solución muestra* y calcular los porcentajes presentes en la porción de Flutamida en ensayo de acuerdo a lo indicado en la siguiente tabla:

<i>Sustancias relacionadas</i>	<i>Tiempo de retención relativo</i>	<i>Factor de corrección</i>	<i>Límite (%)</i>
4-Nitro-3-trifluoro-metilacetanilida	0,42	1,06	0,20
4-Nitro-3-trifluoro-metilanilina	0,45	1,10	0,15
3-Trifluorometilanilina	0,63	1,10	0,20
4-Nitro-3-trifluoro-metilpropioanilida	0,66	1,02	0,30
3-Trifluorometiliso-butiranilida	0,80	1,95	0,20
Flutamida	1,00		
<i>o</i> -Flutamida	1,40	1,78	0,20
Individual desconocida			0,05
Totales desconocidas			0,10
Totales			0,40

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 240 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. Mantener la columna a 25 ± 5 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua y acetonitrilo (1:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Flutamida, previamente secados, y transferir a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 20 ml de acetonitrilo y sonicar hasta disolución. Agregar 60 ml de agua, mezclar y dejar reposar hasta que se encuentre a temperatura ambiente. Completar a volumen con agua y mezclar.

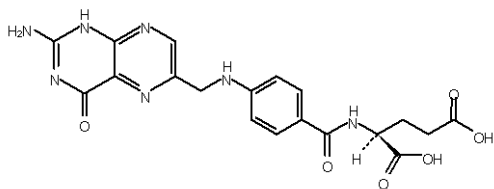
Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Flutamida SR-FA en 50 ml de acetonitrilo y diluir cuantitativamente con agua y en etapas, si fuera necesario, para obtener una solución de aproximadamente 0,2 mg por ml.

Solución de aptitud del sistema - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de *o*-Flutamida SR-FA, transferir a un matraz aforado de 25 ml y disolver en 5 ml de acetonitrilo. Completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, agregar 5,0 ml de la *Preparación estándar*, completar a volumen con una mezcla de agua y acetonitrilo (4:1) y mezclar.

Aptitud del sistema (ver *100. Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 1,4 para *o*-flutamida y 1,0 para flutamida; la resolución *R* entre los picos de *o*-flutamida y flutamida no debe ser menor de 6,0. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,5 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{11}H_{11}F_3N_2O_3$ en la porción de Flutamida en ensayo.

FÓLICO, ÁCIDO



C₁₉H₁₉N₇O₆

PM: 441,4

59-30-3

Definición - Ácido Fólico es Ácido N-[4-[[[2-amino-1,4-dihidro-6-pteridinil]metil]amino]benzoil]-L-glutámico. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de C₁₉H₁₉N₇O₆, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino amarillo, amarillo pardo o amarillo anaranjado, inodoro. Soluble en ácido clorhídrico 3 N caliente, en ácido sulfúrico 2 N caliente y en ácido clorhídrico de soluciones de color amarillo pálido. Fácilmente soluble en soluciones diluidas de hidróxidos y carbonatos alcalinos; muy poco soluble en agua; insoluble en acetona, alcohol, cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Ácido Fólico SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: solución de hidróxido de sodio 1 en 250.

Concentración: 10 µg por ml.

Relación de absorbancias: A₂₅₆ / A₃₆₅ entre 2,80 y 3,00.

B - Disolver 250 mg de Ácido Fólico en hidróxido de sodio 0,1 N y diluir a 25 ml con el mismo solvente. La rotación específica (ver 170. *Determinación de la rotación óptica*) debe ser aproximadamente + 20°, calculada con respecto a la sustancia anhidra.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Agitar el metanol antes, durante el agregado de la muestra y en la determinación. No más de 8,5 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,3 %.

Pureza cromatográfica

[NOTA: emplear materiales de vidrio inactivo].

Sistema cromatográfico, Solución de ácido fosfórico 3 N, Solución de hidróxido de amonio 6 N, Fase móvil, Solución del estándar interno, Solución madre del estándar, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Emplear la *Solución madre de la muestra* preparada según se indica en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 10 µl de la *Solución muestra*. Desarrollar los cromatogramas durante al menos dos veces el tiempo de retención del ácido fólico. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. La suma de las respuestas de todos los picos, excepto el correspondiente al ácido fólico, no debe ser mayor de 2,0 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

[NOTA: emplear materiales de vidrio inactivo].

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 25 cm × 4,0 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,2 ml por minuto.

Solución de ácido fosfórico 3 N - Disolver 9,8 g de ácido fosfórico en 100 ml de agua.

Solución de hidróxido de amonio 6 N - Diluir 40 ml de hidróxido de amonio a 100 ml con agua.

Fase móvil - Transferir 2,0 g de fosfato monobásico de potasio a un matraz aforado de 1 litro y disolver en aproximadamente 650 ml de agua. Agregar 15,0 ml de solución de hidróxido de tetrabutilamonio 0,5 M en metanol, 7,0 ml de *Solución de ácido fosfórico 3 N* y 270 ml de metanol. Enfriar a temperatura ambiente y ajustar a pH 5,0 con *Solución de ácido fosfórico 3 N* o *Solución de hidróxido de amonio 6 N*. Completar a volumen con agua, mezclar y filtrar. [NOTA: controlar el pH antes de usar.]

Solución del estándar interno - Disolver aproximadamente 50 mg de metilparabeno en 1,0 ml de metanol, diluir a 25,0 ml con *Fase móvil* y mezclar.

Solución madre del estándar - Preparar una solución de Ácido Fólico SR-FA en *Fase móvil* de aproximadamente 1 mg por ml. [NOTA: para disolver el Ácido Fólico emplear 1 ml de hidróxido de amonio al 10 % por cada 100 ml de la *Solución madre del estándar*.]

Preparación estándar - Transferir 4,0 ml de la *Solución madre del estándar* a un matraz aforado de 50 ml, agregar 4,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

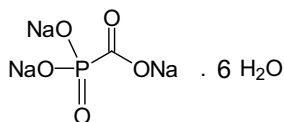
Solución madre de la muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Ácido Fólico, transferir a un matraz aforado de 100 ml y agregar aproximadamente 40 ml de *Fase móvil* y 1 ml de hidróxido de amonio al 10 %. Completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Preparación muestra - Transferir 4,0 ml de la *Solución madre de la muestra* a un matraz aforado de 50 ml, agregar 4,0 ml de la *Solución del estándar interno*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar los cromatogramas según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de metilparabeno y ácido fólico no debe ser menor de 3,6; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{19}H_{19}N_7O_6$ en la porción de Ácido Fólico en ensayo.

FOSCARNET SÓDICO HEXAHIDRATO



$\text{CNa}_3\text{O}_5\text{P} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ PM: 300,0

$\text{CNa}_3\text{O}_5\text{P}$ PM: 192,0 63585-09-1

Definición - Foscarnet Sódico Hexahidrato es Fosfonatoformiato trisódico hexahidrato. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $\text{CNa}_3\text{O}_5\text{P}$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Soluble en agua; prácticamente insoluble en alcohol.

Sustancias de referencia - Foscarnet Sódico Hexahidrato SR-FA. Impureza B de Foscarnet SR-FA: (Etoxicarbonil)fosfonato sódico de etilo.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En Fase sólida.*

B - Debe responder a los ensayos para Sodio <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 9,0 y 11,0; determinado sobre una solución de aproximadamente 20 mg por ml.

Límite de Impureza D

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama, un inyector de flujo dividido 1:20 y una columna de 25 m \times 0,31 mm recubierta con una película de 0,5 μm de una fase estacionaria constituida por poli(dimetil)(difenil)(divinil)siloxano. Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 200 y 250 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente. Aumentar la temperatura de la columna de 100 a 180 $^{\circ}\text{C}$, a razón de 10 $^{\circ}\text{C}$ por minuto. Se debe emplear helio como gas transportador.

Solución muestra - Disolver 250 mg de Foscarnet Sódico Hexahidrato en 9,0 ml de ácido acético 0,1 M. Agregar 1,0 ml de alcohol absoluto y mezclar.

Solución estándar - Disolver 25 mg de fosfonoformiato de trietilo en alcohol absoluto y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Diluir 1,0 ml de esta solución a 10 ml con alcohol absoluto.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 3 μl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos: en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta del pico correspondiente a Impureza D de Foscarnet metil(dietoxifosforil)formiato no debe ser mayor a la respuesta del pico obtenido con la *Solución estándar* (0,1 %).

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 230 nm y una columna de 10 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución A - Transferir 3,22 g de fosfato de sodio a un matraz aforado de 1 litro y disolver en agua. Agregar 3 ml de ácido acético glacial y 6 ml de una solución de pirofosfato de sodio de aproximadamente 44,61 g por litro. Completar a volumen con agua y mezclar.

Solución B - Transferir 3,22 g de fosfato de sodio a un matraz aforado de 1 litro y disolver en agua. Agregar 6,8 g de acetato de sodio y 6 ml de una solución de pirofosfato de sodio de aproximadamente 44,61 g por litro. Completar a volumen con agua y mezclar.

Fase móvil - Mezclar 700 ml de *Solución A* y 300 ml de *Solución B* [NOTA: esta solución tiene un pH de aproximadamente 4,4]. A 1 litro de esta solución, agregar 0,25 g de sulfato ácido de tetrahexilamonio y 100 ml de metanol. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Disolver 25 mg de Foscarnet Sódico Hexahidrato en *Fase móvil* y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar A - Diluir 1,0 ml de *Solución muestra* a 50 ml con *Fase móvil*. Diluir 1,0 ml de esta solución a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 5 mg de Impureza B de Foscarnet SR-FA en *Fase móvil*, agregar 2,0 ml de *Solución muestra* y diluir a 50 ml con el mismo solvente.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar B* durante aproximadamente 2,5 veces el tiempo de retención de foscarnet y registrar las respuestas de los picos

según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de foscarnet e impureza B de foscarnet no debe ser menor de 7,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar A*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos: a excepción del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta de ningún pico debe ser mayor que la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (0,2 %); y la suma de las respuestas de todos los picos, a excepción del pico principal, no debe ser mayor que dos veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (0,4 %). Ignorar cualquier pico con un tiempo de retención relativo menor a 0,6 y cualquier pico con una respuesta menor a 0,2 veces la respuesta del pico principal en la *Solución estándar A*.

Fosfato y fosfito

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 290 nm (detección indirecta) y una columna de 5 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por una resina de intercambio aniónico. El caudal debe ser aproximadamente 1,4 ml por minuto.

Fase móvil - Transferir 102 mg de ftalato ácido de potasio a un matraz aforado de 1 litro, disolver en agua, agregar 2,5 ml de ácido nítrico 1 M y completar a volumen con agua. Filtrar y desgaseificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Solución muestra - Disolver 60,0 mg de Foscarnet Sódico Hexahidrato en agua y diluir a 25 ml con el mismo solvente.

Solución estándar A - Disolver 28 mg de fosfato monobásico de sodio en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 43 mg de fosfito sódico en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente.

Solución estándar C - Diluir 1,0 ml de *Solución estándar A* y 1,0 ml de *Solución estándar B* a 25 ml con agua.

Solución estándar D - Diluir 3,0 ml de *Solución estándar A* y 3,0 ml de *Solución estándar B* a 25 ml con agua.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar D* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de fosfato (primer pico) y fosfito no debe ser menor de 2,0;

la relación señal-ruido para el pico principal no debe ser menor de 10.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar C*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos: en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, las respuestas de los picos correspondientes al fosfato y al fosfito no deben ser mayores que las obtenidas con la *Solución estándar C*, respectivamente (0,3 %, en ambos casos).

Metales pesados

Solución madre de la muestra - Disolver 1,25 g de Foscarnet Sódico Hexahidrato en 12,5 ml de ácido clorhídrico 1 N. Calentar en un baño de agua durante 3 minutos y enfriar a temperatura ambiente. Transferir esta solución a un vaso de precipitados y ajustar a pH 3,5 con amoníaco diluido. Diluir a 25 ml con agua y mezclar.

Solución muestra - A 12 ml de *Solución madre de la muestra* agregar 2,0 ml de solución reguladora de acetato pH 3,5 (ver 590. *Límite de metales pesados*).

Solución estándar - A 5,0 ml de *Solución estándar de plomo (1 ppm)* (ver 590. *Límite de metales pesados*), agregar 5,0 ml de agua, 2,0 ml de solución reguladora de acetato pH 3,5 (ver 590. *Límite de metales pesados*) y 2,0 ml de *Solución madre de la muestra*.

Procedimiento - Inmediatamente luego de preparada la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, transferirlas a sendos tubos de Nessler que contengan 1 gota de sulfuro de sodio (SR1): la *Solución muestra* no debe ser más intensamente coloreada que la *Solución estándar* (10 ppm).

Pérdida por secado <680>

Secar a 150 °C: debe perder entre 35,0 y 37,0 % de su peso.

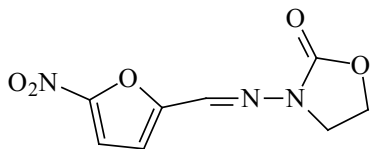
Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando Foscarnet Sódico Hexahidrato esté destinado a la administración parenteral, no debe contener más de 83,3 Unidades de Endotoxina por mg.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 180 mg de Foscarnet Sódico Hexahidrato y disolver en 50 ml de agua. Titular con ácido sulfúrico 0,05 M (SV), determinando el punto final potenciométricamente hasta el primer punto de inflexión (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido sulfúrico 0,05 M equivale a 19,20 mg de CN₃O₅P.

FURAZOLIDONA



$C_8H_7N_3O_5$ PM: 225,2 67-45-8

Definición - Furazolidona es 3-[[5-Nitro-2-furanyl]metileno]amino]-2-oxazolidinona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_8H_7N_3O_5$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino amarillo. Prácticamente insoluble en agua, alcohol y tetracloruro de carbono.

Sustancia de referencia - Furazolidona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto, evitando la exposición directa a la luz solar.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. [NOTA: secar previamente la muestra].

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: agua

Concentración: 10 µg por ml

C - Agregar aproximadamente 50 mg de Furazolidona a una mezcla recientemente preparada de dimetilformamida e hidróxido de potasio alcohólico (SR) (9:1): la solución debe tornarse púrpura, cambiar inmediatamente a un color azul profundo y, luego de 10 minutos, tornarse púrpura nuevamente.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,25 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 100 °C durante 1 hora: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

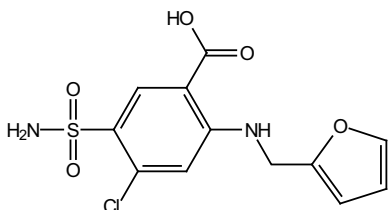
VALORACIÓN

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Furazolidona, transferir a un matraz aforado de 250 ml, disolver y completar a volumen con dimetilformamida y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 250 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Furazolidona SR-FA en dimetilformamida para obtener una solución de aproximadamente 400 µg por ml. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 250 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* bajo luz ultravioleta (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, 367 nm, empleando una solución de dimetilformamida 1 en 50 como blanco. Calcular la cantidad en mg de $C_8H_7N_3O_5$ en la porción de Furazolidona en ensayo.

FUROSEMIDA



$C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$ PM: 330,7 54-31-9

Definición - Furosemida es Ácido 5-(aminosulfonil)-4-cloro-2-[(2-furanilmetil)amino]benzoico. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Funde aproximadamente a 210 °C, con descomposición. Se disuelve en soluciones diluidas de hidróxidos alcalinos. Soluble en acetona; moderadamente soluble en alcohol; prácticamente insoluble en agua y cloruro de metileno.

Presenta polimorfismo.

Sustancias de referencia - Furosemida SR-FA. Impureza A de Furosemida SR-FA: Ácido 2-cloro-4-[(2-furilmetil)amino]-5-sulfamoilbenzoico.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Disolver 50 mg de Furosemida en hidróxido de sodio al 0,4 % p/v y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Diluir 1 ml de esta solución a 100 ml con hidróxido de sodio al 0,4 % p/v y examinar entre 220 y 350 nm (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*): la solución debe presentar tres máximos de absorción a 228, 270 y 333 nm y la relación entre el máximo de absorbancia a 270 nm y el máximo de absorbancia a 228 nm debe estar comprendida entre 0,52 y 0,57.

C - Disolver 25 mg de Furosemida en 10 ml de alcohol. A 5 ml de esta solución agregar 10 ml de agua. A 0,2 ml de esta solución agregar 10 ml de ácido clorhídrico al 7,3 % p/v y calentar a reflujo empleando un refrigerante durante 15 minutos. Enfriar y agregar 18 ml de hidróxido de sodio 1 N y una solución de nitrito de sodio al 0,5 % p/v. Dejar en reposo durante 3 minutos y agregar 2 ml de solución de ácido sulfámico al 2,5 % p/v y mezclar.

Agregar 1 ml de una solución de clorhidrato de *N*-(1-Naftil)etilendiamina al 0,5 % p/v: se debe producir un color rojo-violeta.

Sustancias relacionadas

[NOTA: preparar las soluciones inmediatamente antes de su uso y protegerlas de la luz].

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 238 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 200 mg de fosfato monobásico de potasio y 250 mg de cetrimida en 70 ml de agua. Ajustar a pH 7,0 con amoníaco y agregar 30 ml de alcohol propílico.

Solución muestra - Disolver 50 mg de Furosemida en *Fase móvil* y diluir a 50 ml con la misma fase.

Solución estándar A - Disolver 20 mg de Impureza A de Furosemida SR-FA en *Fase móvil* y diluir a 20 ml con la misma fase.

Solución estándar B - Diluir una mezcla de 1,0 ml de *Solución muestra* y 1,0 ml de *Solución estándar A* a 20 ml con *Fase móvil*. Diluir 1,0 ml de esta solución a 20 ml con *Fase móvil*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar B* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de impureza A de furosemida (primer pico) y furosemida (segundo pico) no debe ser menor de 4.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución estándar B* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas durante tres veces el tiempo de retención del pico principal y medir la respuesta de todos los picos. A excepción del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta de ningún pico debe ser mayor que la respuesta del primer pico obtenido con la *Solución estándar B* (0,25 %) y la suma de las respuestas de todos los picos, a excepción del pico principal, no debe ser mayor que dos veces la respuesta del primer pico en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar B* (0,5 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor a 0,1 vez la respuesta del primer pico en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar B*.

Pérdida por secado <680>

Secar entre 100 y 105 °C: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Método VI. Preparar la *Solución muestra* a partir de 1,0 g de Furosemida y la *Solución estándar* empleando 2 ml de *Solución estándar de plomo (10 ppm)*. El límite es 0,002 %.

Límite de cloruro

Solución muestra - Agregar 0,5 g de Furosemida a una mezcla de 0,2 ml de ácido nítrico y 30 ml de agua y agitar durante 5 minutos. Dejar en reposo durante 15 minutos y filtrar.

Procedimiento - A 15 ml de *Solución muestra* agregar 1 ml de ácido nítrico al 12,5 %. Transferir esta mezcla a un tubo de Nessler que contenga 1 ml de nitrato de plata (SR) y proteger de la luz. Proceder del mismo modo con control preparado a partir de 5 ml de agua y 10 ml de solución de cloruro (5 ppm) (SL) y examinar los tubos lateralmente sobre fondo negro. Luego de 5 minutos, si la *Solución muestra* presenta opalescencia, esta no debe ser más intensa que la del control (200 ppm).

Límite de sulfato

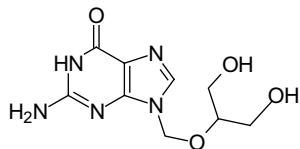
Solución muestra - - Agregar 1,0 g de Furosemida una mezcla de 0,2 ml de ácido acético y 30 ml de agua y agitar durante 5 minutos. Dejar en reposo durante 15 minutos y filtrar.

Procedimiento - A 1,5 ml de solución de sulfato (10 ppm) (SL1) agregar 1 ml de cloruro de bario al 25 %, agitar y dejar reposar durante 1 minuto. Agregar 15 ml de *Solución muestra* y 0,5 ml de ácido acético. Proceder del mismo modo con un control preparado a partir de 15 ml de solución de sulfato (10 ppm) (SL). Luego de 5 minutos, si la *Solución muestra* presenta opalescencia, esta no debe ser más intensa que la del control (300 ppm).

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Furosemida y disolver en 20 ml de dimetilformamida. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), empleando 0,2 ml de azul de bromotimol (SR1) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 33,07 mg de $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$.

GANCICLOVIR



$C_9H_{13}N_5O_4$ PM: 255,2 82410-32-0

Definición - Ganciclovir es 2-Amino-1,9-[[2-hidroxi-1-(hidroximetil)etoxi]metil]-6H-purin-6-ona. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más 102,0 por ciento de $C_9H_{13}N_5O_4$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Higroscópico.

Sustancias de referencia - Ganciclovir SR-FA. Impureza A de Ganciclovir SR-FA: (RS)-2-Amino-9-(2,3-dihidroxi-propoximetil)-1,9-dihidropurin-6-ona.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados a una temperatura de 25 °C.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: Metanol.

Concentración: 10 µg por ml.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 6,0 %. [NOTA: Ganciclovir es sumamente higroscópico.]

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 20 ppm.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 11 mg de Ganciclovir, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en *Fase móvil*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 20 µl de la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular la cantidad en porcen-

taje de cada impureza individual en la porción de Ganciclovir en ensayo, en relación a las respuestas de todos los picos. No debe contener más de 0,5 % de la impureza A de Ganciclovir y no más de 1,5 % de impurezas totales.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por gel de sílice irregular, de 10 µm de diámetro totalmente poroso unido químicamente a un revestimiento de intercambio catiónico fuertemente ácido. Mantener la temperatura de columna a 40 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Solución de ácido trifluoroacético - Transferir aproximadamente 0,5 ml de ácido trifluoroacético a un matraz de 1 litro, completar a volumen con agua y mezclar.

Fase móvil - Acetonitrilo y *Solución de ácido trifluoroacético* (1:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Solución de aptitud del sistema - Disolver una cantidad exactamente pesada de Ganciclovir SR-FA e Impureza A de Ganciclovir SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml de cada uno.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Ganciclovir SR-FA, previamente secada al vacío a 80 °C durante 3 horas, en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, para obtener una solución de aproximadamente 0,22 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 11 mg de Ganciclovir, previamente secado al vacío a 80 °C durante 3 horas, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en *Fase móvil*, completar a volumen con el mismo disolvente y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,9 para la impureza A de ganciclovir y 1,0 para ganciclovir; la resolución *R* entre los picos del ganciclovir y la impureza A de ganciclovir no debe ser menor de 1,4; la eficiencia de la columna no debe ser menor de 5.000 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 1,4; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_9H_{13}N_5O_4$ en la porción de Ganciclovir en ensayo.

GELATINA

Sinonimia - Poligelina.

Definición - Gelatina es el producto obtenido de la hidrólisis parcial del colágeno de la piel, tejido conectivo y huesos de animales. Gelatina obtenida a partir de un tejido precursor por tratamiento ácido es conocida como Tipo A y la obtenida por tratamiento con álcali es conocida como Tipo B. Al ser usada en cápsulas y cubiertas puede ser coloreada por colorantes certificados, puede contener no más de 0,15 por ciento de dióxido de azufre y puede contener una concentración apropiada de lauril sulfato de sodio y agentes antimicrobianos. Gelatina debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Láminas, escamas o fragmentos, o polvo grueso a fino, ligeramente amarillo o ámbar y su intensidad de color varía según el tamaño de partícula. Estable al aire cuando está seca, y puede tener descomposición microbiana al estar humedecida y en solución. Gelatina Tipo A presenta un punto isoeléctrico entre pH 7 y 9; y Gelatina Tipo B presenta un punto isoeléctrico entre pH 4,7 y 5,2. Se hincha y se ablanda al sumergirla en agua y absorbe gradualmente de 5 a 10 veces su propio peso en agua. Soluble en ácido acético 6 N, agua caliente y en una mezcla caliente de glicerina y agua; insoluble en aceites volátiles, alcohol, cloroformo y éter.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados, en un lugar seco.

ENSAYOS

Identificación

A - Disolver 1 g de Gelatina en 100 ml de agua caliente, agregar 20 ml de una mezcla de dicromato de potasio 0,2 M y ácido clorhídrico 3 N (4:1): se debe formar un precipitado amarillo.

B - Preparar una solución en agua caliente de 0,2 mg de Gelatina por ml y agregar ácido tánico (SR): se debe producir turbidez.

Determinación del residuo de ignición <270>

Someter a ignición 5,0 g de Gelatina sin usar ácido sulfúrico, agregando 1,5 a 2,0 g de parafina para evitar la formación de globos y pérdida de material, completar la ignición en una mufla a 550 °C durante 15 a 20 horas: el peso del residuo no debe ser mayor de 2,0 %.

Olores y sustancias insolubles en agua

Preparar una solución de Gelatina 1 en 40 en agua caliente: no debe presentar olor desagradable. Observar a través de una capa de dicha solución, de 2 cm de espesor: debe presentar una ligera opalescencia.

Dióxido de azufre

Transferir 20,0 g de Gelatina a un balón de cuello largo, disolver con 150 ml de agua caliente, agregar 5 ml de ácido fosfórico, 1 g de bicarbonato de sodio y unas pocas gotas de agente antiespuma, si fuera necesario. Conectar a un refrigerante dispuesto de modo que la extremidad inferior del mismo, cortada a bisel, se apoye en el fondo de un recipiente que contenga 50 ml de una solución de iodo 0,1 N y destilar 50 ml. Acidificar el destilado con unas pocas gotas de ácido clorhídrico, agregar 2 ml de cloruro de bario (SR) y calentar en un baño de vapor hasta que el líquido obtenido sea incoloro. Si se observa la presencia de un precipitado, filtrar y lavar el mismo, someter a ignición y pesar. El peso del residuo no debe ser mayor a 3 mg, correspondientes a no más de 0,004 % de dióxido de azufre [NOTA: realizar la corrección del sulfato presente en los 50 ml de iodo 0,1 N]. Gelatina usada en la obtención de cápsulas o cubiertas no debe contener más de 109,3 mg de sulfato de bario, correspondientes a no más de 0,15 % de dióxido de azufre.

Límite de metales pesados <590>

Método I. Al residuo obtenido en 270. *Determinación del residuo de ignición*, agregar 2 ml de ácido clorhídrico y 0,5 ml de ácido nítrico, y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Agregar 1 ml de ácido clorhídrico 1 N y 15 ml de agua y calentar durante algunos minutos. Filtrar y lavar con agua hasta obtener 100 ml del filtrado. Diluir 8 ml de esta solución hasta obtener 25 ml con agua: el límite es 50 ppm.

Límite de arsénico <540>

Solución de pepsina - Transferir 0,5 g de pepsina a un matraz aforado de 100 ml, disolver en 80 ml de ácido clorhídrico 0,1 N, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Solución estándar - Transferir 3,0 ml de *Solución estándar de arsénico* a un generador de arsina y diluir a 52 ml con *Solución de pepsina*. Agregar 3 ml de ácido clorhídrico y 4 ml de alcohol isopropílico y mezclar.

Solución muestra - Mezclar 3,75 g de gelatina con 40 ml de *Solución de pepsina* en un generador de arsina, calentar cuidadosamente a una temperatura comprendida entre 65 y 70 °C durante 10 minutos y sonicar esta solución durante 2 minutos. Repetir dos veces más el calentamiento y sonicado. Enfriar, lavar los costados del generador de arsina con *Solución de pepsina* y diluir a 52 ml con la misma solución. Agregar 3 ml de ácido clorhídrico, 4 ml de alcohol isopropílico y mezclar.

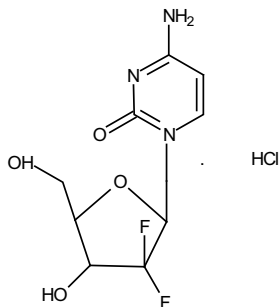
Procedimiento - Proceder según se indica en *Método I* omitiendo el agregado de 20 ml de ácido sulfúrico 7 N y de 1 ml de alcohol isopropílico a la

Solución estándar y a la *Solución muestra*. El límite es 0,8 ppm.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

El recuento de aerobios viables totales no debe ser mayor de 10^3 por gramo y debe cumplir con los requisitos del *Ensayo para Salmonella ssp.* y *Escherichia coli*.

GEMCITABINA, CLORHIDRATO DE



$C_9H_{11}F_2N_3O_4 \cdot HCl$ PM: 299,7 122111-03-9

Definición - Clorhidrato de Gemcitabina es Monoclorhidrato de 2'-Deoxi-2',2'-difluorocitidina (isómero β). Debe contener no menos de 97,5 por ciento y no más de 101,5 por ciento de $C_9H_{11}F_2N_3O_4 \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Precaución - Clorhidrato de Gemcitabina es un potente agente citotóxico. Evitar la inhalación de partículas y la exposición a la piel.

Caracteres generales - Sólido blanco o casi blanco. Soluble en agua; ligeramente soluble en metanol; prácticamente insoluble en alcohol y solventes orgánicos polares.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Gemcitabina SR-FA. Citosina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre hermético.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. En fase sólida.

B - Debe cumplir con los requisitos para el ensayo de Cloruros <410>.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre + 43° y + 50°, calculado a 20 °C.

Solución muestra - 10 mg por ml.

Determinación del pH <250>

Entre 2,0 y 3,0, determinado sobre una solución de 10 mg por ml.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Método I. No más de 0,001 %.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Proceder según se indica en *Valoración*.

El cromatógrafo se debe programar del siguiente modo:

Tiempo (minutos)	Solución A (%)	Solución B (%)	Elución
0 - 8	97	3	Isocrática
8 - 13	97 → 50	3 → 50	Gradiente lineal
13 - 20	50	50	Isocrática
20 - 25	50 → 97	50 → 3	Re-equilibración

Solución A - Proceder según se indica para *Fase móvil* en *Valoración*.

Solución B - Metanol. Filtrar y desgasificar.

Fase móvil - Emplear mezclas variables de *Solución A* y *Solución B* según se indica en *Sistema cromatográfico*. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Gemcitabina SR-FA y Citosina SR-FA en agua, diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, para obtener una solución de aproximadamente 2 µg por ml de cada una.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Clorhidrato de Gemcitabina, transferir a un matraz aforado de 25 ml, disolver, completar a volumen con agua y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,5 para el anónimo α de gemcitabina y 1,0 para la gemcitabina; la resolución R entre el pico del anónimo α de gemcitabina y la gemcitabina no debe ser menor de 8,0; y el factor de asimetría de gemcitabina no debe ser mayor de 1,5. Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,1 para la citosina y 1,0 para gemcitabina; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de citosina en la porción de Gemcitabina en ensayo: no debe contener más de 0,1 % de citosina. Calcular el

porcentaje de cada impureza diferente de citosina en la porción de Gemcitabina en ensayo: no debe contener más de 0,1 % del anónimo α de gemcitabina o de cualquier otra impureza individual; y la suma de todas las impurezas no debe ser mayor de 0,2 %. Ignorar cualquier pico que se encuentre por debajo del límite de cuantificación (0,02 %).

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que Clorhidrato de Gemcitabina es estéril o esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas inyectables, no debe contener más de 0,05 Unidades de endotoxina por mg de Clorhidrato de Gemcitabina.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que Clorhidrato de Gemcitabina es estéril o esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas inyectables, debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 275 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,2 ml por minuto.

Fase móvil - Pesar exactamente alrededor de 13,8 g de fosfato monobásico de sodio, transferir a un vaso de precipitados, agregar 2,5 ml de ácido fosfórico y diluir a 1 litro con agua. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*). [NOTA: el pH de esta solución debe estar comprendido entre 2,4 y 2,6].

Diluyente - Preparar una solución de ácido fosfórico 1 %.

Solución de aptitud del sistema - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Clorhidrato de Gemcitabina, transferir a un recipiente adecuado de 5 ml, agregar 4 ml de una solución que contenga 168 mg de hidróxido de potasio por ml de metanol, tapar, precintar y sonicar. Calentar a 55 °C durante 6 a 16 horas, enfriar y transferir a un matraz aforado de 100 ml, enjuagar el recipiente con sucesivas porciones de *Diluyente* y transferir los lavados al matraz aforado. Completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. [NOTA: esta solución debe contener aproximadamente 0,02 mg por ml del anónimo α de gemcitabina].

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Gemcitabina SR-FA en agua y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con agua para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Clorhidrato de Gemcitabina, transferir a un matraz aforado de 200 ml, disolver, completar a volumen con agua y mezclar.

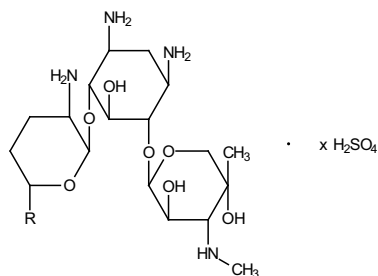
Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre el pico del anónimo α de gemcitabina y la gemcitabina no debe ser menor de 8,0; el factor de asimetría para gemcitabina no debe ser mayor de 1,5. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad en mg de $C_9H_{11}F_2N_3O_4 \cdot HCl$ en la porción de Clorhidrato de Gemcitabina en ensayo.

ROTULADO

Cuando el Clorhidrato de Gemcitabina esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas inyectables, indicar en el rótulo que es estéril.

GENTAMICINA, SULFATO DE



Gentamicina	R
C1A	—CH ₂ NH ₂
C2	—CH(CH ₃)NH ₂
C1	—CH(CH ₃)NHCH ₃

1405-41-0

Definición - Sulfato de Gentamicina es una mezcla de sulfatos de sustancias antibióticas producidas por el crecimiento de *Micromonospora purpurea*. Debe tener una potencia equivalente a no menos de 590 µg de gentamicina por mg, calculada sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en agua; insoluble en alcohol, acetona, cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Sulfato de Gentamicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Debe responder a los ensayos para *Sulfato* <410>.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +107° y +121°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en agua.

Determinación del pH <250>

Entre 3,5 y 5,5; determinado sobre una solución 1 en 25.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 1,0 %.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a una presión que no exceda los 5 mm Hg, a 110 °C durante 3 horas: no debe perder más de 18,0 % de su peso.

Límite de metanol

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de 1,5 m × 4 mm con un soporte constituido por un copolímero de etilvinilbenceno y divinilbenceno con un área superficial nominal de 500 a 600 m² por gramo y un diámetro de poro promedio de 0,0075 µm. Mantener la columna a temperatura constante entre 120 y 140 °C y el inyector y el detector a temperatura constante, al menos 50 °C por encima de la temperatura de la columna. Se debe emplear nitrógeno como gas transportador con un caudal entre 30 y 40 ml por minuto.

Solución del estándar interno - Transferir 2,5 ml de alcohol *n*-propílico a un matraz aforado de 500 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución estándar - Transferir 1,25 ml de metanol y 1,25 ml de alcohol *n*-propílico a un matraz aforado de 500 ml, completar a volumen con agua y mezclar para obtener una solución que contenga 0,25 % de metanol y 0,25 % de alcohol *n*-propílico.

Solución control - Disolver 500 mg de Sulfato de Gentamicina en 2,0 ml de agua.

Solución muestra - Disolver 500 mg de Sulfato de Gentamicina en 1,0 ml de *Solución del estándar interno*, agregar 1,0 ml de agua y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de alcohol *n*-propílico y metanol no debe ser menor de 1,0. Cromatografiar la *Solución control* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: si se observa algún pico a un tiempo de retención similar al de alcohol *n*-propílico, emplear la respuesta de ese pico para corregir la respuesta de los picos de alcohol *n*-propílico en el cromatograma obtenido con la *Solución muestra*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 2 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos de alcohol *n*-propílico y de metanol. Calcular el porcentaje de metanol en la porción de Sulfato de Gentamicina en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$1,58(P/M)(R_M/R_E)$$

en la cual P es el porcentaje (v/v) de metanol en la *Solución estándar*, M es la cantidad en g de Sulfato de Gentamicina empleado para preparar la *Solución muestra*, R_M es el cociente entre la respuesta del pico de metanol y la respuesta del pico de alcohol *n*-propílico (corregido, si fuera necesario, restando la respuesta de cualquier pico observado en el cromatograma de la *Solución control* que aparezca al tiempo de retención del pico de alcohol *n*-propílico) en el cromatograma obtenido con la *Solución muestra* y R_E es el cociente entre la respuesta del pico de metanol y la respuesta del pico de alcohol *n*-propílico en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar*. No debe contener más de 1,0 % de metanol.

Contenido de gentamicinas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 330 nm y una columna de 10 cm × 5 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Solución de *o*-ftalaldehído - Disolver 1,0 g de *o*-ftalaldehído en 5 ml de metanol y agregar 95 ml de ácido bórico 0,4 M, ajustado a pH 10,4 con hidróxido de potasio 8 N, y 2 ml de ácido tioglicólico. Ajustar a pH 10,4 con hidróxido de potasio 8 N.

Fase móvil - Mezclar 700 ml de metanol, 250 ml de agua y 50 ml de ácido acético glacial. Disolver 5 g de 1-heptanosulfonato de sodio en esta solución. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Preparar una solución de Sulfato de Gentamicina SR-FA en agua de aproximadamente 0,65 mg por ml. Transferir 10 ml de esta solución a un tubo de ensayo, agregar 5 ml de alcohol isopropílico y 4 ml de *Solución de o-ftalaldehído*, mezclar y agregar alcohol isopropílico para obtener 25 ml. Calentar a 60 °C en un baño de agua durante 15 minutos y enfriar.

Solución muestra - Proceder según se indica para *Solución estándar*, empleando Sulfato de Gentamicina.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de capacidad determinado para el pico de Gentamicina C_1 debe estar comprendido entre 2 y 7; la eficiencia de la columna determinada para el pico de Gentamicina C_2 no debe ser menor de 1.200 platos teóricos; la resolución R entre los picos de Gentamicina C_1 y Gentamicina C_2 no debe ser menor de 1,25; la desviación estándar relativa

para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. El orden de elución es: Gentamicina C_1 , Gentamicina C_{1a} , Gentamicina C_{2a} y Gentamicina C_2 . Calcular los porcentajes de Gentamicina C_1 , Gentamicina C_{1a} , Gentamicina C_{2a} y Gentamicina C_2 , en la porción de Sulfato de Gentamicina en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$100r_f/r_E$$

en la cual r_f es la respuesta de cada uno de los picos correspondientes a las diferentes gentamicinas y r_E es la suma de las respuestas de los cuatro picos: el contenido de Gentamicina C_1 debe estar comprendido entre 25 y 50 %, el contenido de Gentamicina C_{1a} entre 10 y 35 % y la suma del contenido de Gentamicina C_{2a} y C_2 entre 25 y 55 %.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que el Sulfato de Gentamicina es estéril, no debe contener más de 0,71 Unidades de Endotoxina por mg de Gentamicina.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que el Sulfato de Gentamicina es estéril debe cumplir con los requisitos.

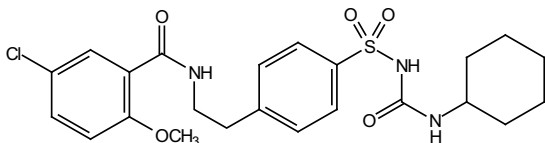
VALORACIÓN

Proceder según se indica en <770>. *Valoración microbiológica de antibióticos*.

ROTULADO

Cuando el Sulfato de Gentamicina esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas inyectables, en el rótulo se debe indicar que es estéril.

GLIBENCLAMIDA



$C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$ PM: 494,0 10238-21-8

Sinonimia - Gliburida.

Definición - Glibenclamida es 5-Cloro-*N*-[2-[4-[[[(ciclohexilamino)carbonyl]amino]sulfonyl]fenil]etil]-2-metoxibenzamida. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Se disuelve en soluciones diluidas de hidróxidos alcalinos. Moderadamente soluble en cloruro de metileno; poco soluble en alcohol y metanol; prácticamente insoluble en agua y éter.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Glibenclamida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención, relativo al estándar interno, del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,5 %.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano unido químicamente a partículas totalmente porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 2,6 g de fosfato monobásico de amonio en 450 ml de agua y agregar

550 ml de acetonitrilo. Filtrar y desgasificar. Ajustar a pH $5,25 \pm 0,30$ con ácido fosfórico o hidróxido de sodio. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 35 mg de Glibenclamida, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver con agitación en una mezcla de acetonitrilo y agua (10:4) y completar a volumen con el mismo solvente.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución muestra* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 3.500 platos teóricos.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 20 μl de la *Solución muestra*, registrar el cromatograma y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Glibenclamida en ensayo, en relación a la suma de las respuestas de todos los picos. No debe contener más de 1,5 % de cualquier impureza que eluya antes que glibenclamida, no debe contener más de 0,5 % de cualquier otra impureza individual y no debe contener más de 2,0 % de impurezas totales.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 6 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 400 mg de Glibenclamida y disolver en 100 ml de alcohol, calentando suavemente para favorecer la disolución. Agregar 1 ml de fenoltaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) hasta punto final rosado. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volúmetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 49,40 mg de $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$.

GLICERILO, MONOESTEARATO DE

31566-31-1

Sinonimia - Monoestearina.

Definición - Monoestearato de Glicerilo debe contener no menos de 90,0 por ciento de monoglicéridos de ácidos grasos saturados, principalmente monoestearato de glicerilo ($C_{21}H_{42}O_4$) y monopalmitato de glicerilo ($C_{19}H_{38}O_4$), y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Sólido blanco o amarillento similar a la cera, que se presenta como gránulos, escamas o polvo. Fotosensible. Soluble en solventes orgánicos como acetona, alcohol, benceno y aceites fijos o minerales. Insoluble en agua, puede dispersarse en agua caliente con la ayuda de una pequeña cantidad de jabón u otro agente tensioactivo adecuado.

[NOTA: Monoestearato de Glicerilo puede contener un antioxidante apropiado].

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Punto de fusión <260>. *Método II*. No debe fundir a menos de 55 °C.

Determinación del índice de acidez <480>

No más de 6.

Determinación del índice de hidroxilo <480>

Debe estar comprendido entre 290 y 330.

Determinación del índice de iodo <480>

No más de 3.

Determinación del índice de saponificación <480>

Debe estar comprendido entre 150 y 165.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,5 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 10 ppm.

Límite de glicerina libre

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio borosilicato de 2,4 m × 4 mm recubierta con una fase estacionaria constituida por un com-

puesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido al 2 % sobre un soporte formado por tierra silicea para cromatografía de gases que ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C, lavando con ácido y luego con agua hasta neutralidad. Mantener la temperatura de la columna entre 190 y 200 °C, y la temperatura del inyector y del detector a 300 y 310 °C, respectivamente. Se debe emplear helio como gas transportador y el caudal debe ser aproximadamente 70 ml por minuto.

Solución propionizante - Mezclar 10 ml de piridina con 20 ml de anhídrido propiónico.

Solución de estándar interno - Disolver en cloroformo una cantidad exactamente pesada de tributirina para obtener una solución de aproximadamente 0,2 mg por ml.

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 15 mg de *Glicerina* y 50 mg de tributirina, transferir a un erlenmeyer de 25 ml con tapón de vidrio, agregar 3 ml de *Solución propionizante* y calentar a 75 °C durante 30 minutos. Evaporar con la ayuda de una corriente de nitrógeno a temperatura ambiente, agregar aproximadamente 12 ml de cloroformo y mezclar. Transferir 1 ml de esta mezcla a un recipiente apropiado, diluir con cloroformo hasta aproximadamente 20 ml y mezclar.

Solución muestra - Pesar exactamente 50 g de Monoestearato de Glicerilo, transferir a un erlenmeyer de 25 ml con tapón de vidrio, agregar 5 ml de *Solución de estándar interno* y mezclar. Sumergir el erlenmeyer en un baño de agua a una temperatura comprendida entre 45 y 50 °C, y evaporar el cloroformo con la ayuda de una corriente de nitrógeno. Agregar 3 ml de *Solución propionizante* y calentar a 75 °C durante 30 minutos. Evaporar con la ayuda de una corriente de nitrógeno a temperatura ambiente, agregar 5 ml de cloroformo y mezclar hasta disolver.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de glicerina derivatizada y tributirina no debe ser menor de 4,0 y la desviación estándar relativa para el cociente entre las respectivas áreas de los picos para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2 %.

Procedimiento - Inyectar una porción apropiada de *Solución estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el factor de respuesta *F* por la fórmula siguiente:

$$(r_A/r_B)(P_G/P_T)$$

en la cual r_A y r_B son las repuestas de los picos de tributirina y tripropionina, respectivamente, y P_G y P_T son los pesos en mg de glicerina y tributirina, respectivamente. Inyectar una porción apropiada de *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las repuestas de todos los picos. Calcular la cantidad en porcentaje de glicerina por la fórmula siguiente:

$$100F(r_C/r_D)(P_I/P_M)$$

en la cual r_C y r_D son las repuestas de los picos de tripropionina y tributirina, respectivamente, y P_I y P_M son los pesos en mg de tributirina en 5 ml de *Solución de estándar interno* y de Monoestearato de Glicerilo en la *Solución muestra*. El límite es 1,2 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Monoglicéridos

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector de índice de refracción y una columna de 60 cm \times 7,5 mm con fase estacionaria constituida por copolímero rígido, esférico de estireno y divinilbenceno, de 5 μ m de diámetro. Mantener la temperatura de la columna y el detector a 40 °C. [NOTA: pueden utilizarse dos o tres columnas de 30 cm \times 7,5 mm con la misma fase estacionaria, en lugar de una columna de 60 cm, si se cumplen los requisitos de *Aptitud del sistema*. La temperatura de la columna puede disminuirse a temperatura ambiente, aunque trabajar a 40 °C ofrece mejores condiciones de separación]. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Tetrahydrofurano.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 40 mg de Monoestearato de Glicerilo, transferir a un matraz aforado de 5 ml, completar a volumen con tetrahydrofurano y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación muestra* y registrar las repuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,77 para triglicéridos; 0,81 para diglicéridos; 0,86 para monoglicéridos y 1,0 para glicerina; y la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas determinada a partir del pico de monoglicéridos no debe ser mayor de 2,0 %.

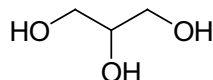
Procedimiento - Inyectar un volumen (aproximadamente 40 μ l) de *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las res-

puestas de los picos principales. Calcular la cantidad en porcentaje de monoglicéridos en la porción de Monoestearato de Glicerilo en ensayo por la fórmula siguiente:

$$100(r_M/r_S)$$

en la cual r_M es la respuesta del pico de monoglicéridos y r_S es la suma de las repuestas de todos los picos de glicéridos.

GLICERINA



$C_3H_8O_3$ PM: 92,1 56-81-5

Sinonimia - Glicerol.

Definición - Glicerina es 1,2,3-Propanotriol. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_3H_8O_3$, calculado sobre la sustancia anhidra, y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido transparente, incoloro, con consistencia de jarabe. Higroscópico. Sus soluciones son neutras al tornasol. Miscible con agua y alcohol. Insoluble en aceites fijos y volátiles, cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Glicerina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*.

B - Diluir una porción de la *Solución muestra* y la *Solución de aptitud del sistema* empleadas en el ensayo *Límite de dietilenglicol y sustancias relacionadas*, con agua y cuantitativamente para obtener sendas soluciones de concentración 0,1 mg por ml y proceder según se indica en *Procedimiento*: el tiempo de retención del pico de Glicerina obtenido a partir de la *Solución muestra diluida* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución de aptitud del sistema diluida*.

Color

Transferir una porción de Glicerina a un tubo de comparación de 50 ml y observar el color contra una superficie blanca: no debe ser más oscuro que la de un control preparado diluyendo 0,40 ml de cloruro férrico (SC) a 50 ml con agua.

Determinación de la densidad relativa <160>

No debe ser menor de 1,249.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 5,0 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

Calentar 50 g de Glicerina en un crisol de por-

celana hasta ignición y dejar calcinar protegido de la corriente de aire. Enfriar, humedecer el residuo obtenido con 0,5 ml de ácido sulfúrico y someter a ignición hasta peso constante: el peso del residuo obtenido no debe ser mayor de 5 mg (0,01 %).

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Una porción de 7,0 g de Glicerina no debe contener más cloruro que el correspondiente a 0,10 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,001 %).

Sulfato - Una porción de 10 g de Glicerina no debe contener más sulfato que el correspondiente a 0,20 ml de ácido sulfúrico 0,020 N (aproximadamente 0,002 %).

Límite de metales pesados <590>

Mezclar 4,0 g de Glicerina con 2 ml de ácido clorhídrico 0,1 N y diluir con agua a 25 ml. El límite es 5 ppm.

Límite de compuestos clorados

Pesar exactamente 5 g de Glicerina, transferir a un balón de 100 ml, agregar 15 ml de morfolina y calentar a reflujo durante 3 horas. Enjuagar el condensador con 10 ml de agua recolectando el lavado dentro del balón y acidificar con ácido nítrico. Transferir la solución obtenida a un tubo de comparación, agregar 0,5 ml de nitrato de plata (SR), diluir con agua a 50 ml y mezclar. No se debe observar mayor turbidez que la de un control preparado con 0,20 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,003 % de Cl) [NOTA: en la preparación del control se debe omitir calentar a reflujo].

Ésteres y ácidos grasos

Mezclar 50 g de Glicerina con 50 ml de agua recientemente hervida y 5 ml de hidróxido de sodio 0,5 N (SV) y calentar a ebullición durante 5 minutos. Enfriar, agregar fenolftaleína (SR) y titular el exceso de hidróxido de sodio con ácido clorhídrico 0,5 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver *Titulaciones residuales* en 780. *Volumetría*). No se debe consumir más de 1 ml de hidróxido de sodio 0,5 N.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

Límite de dietilenglicol y sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 30 m × 0,53 mm recubierta con una fase estacionaria constituida por una mezcla de 6% de cianopropilfecil polisiloxano y 94 % de dimetil-

propilsiloxano de 3 μm de diámetro con un recubrimiento en el inyector de forma de copa invertida o espiral. Programar la temperatura equilibrando inicialmente la columna a 100 °C hasta el tiempo de inyección, donde se debe incrementar 7,5 ° por minuto hasta 220 ° y mantener durante 4 minutos. La temperatura de inyección y la del detector deben mantenerse a 220 y 250 °C, respectivamente. Se debe emplear helio como gas transportador y la velocidad de flujo debe ser de 38 cm por segundo.

Solución de aptitud del sistema - Preparar una solución de dietilenglicol y Glicerina SR-FA en agua para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg de dietilenglicol y 0,5 mg de Glicerina SR-FA por ml.

Solución estándar - Preparar una solución de dietilenglicol en agua para obtener una solución de aproximadamente 0,05 mg por ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 5 g de Glicerina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. Cromatografía) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución R entre los picos de dietilenglicol y Glicerina no debe ser menor de 7,0. Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 15 %.

Procedimiento - Inyectar por separado volúmenes iguales (aproximadamente 0,5 μl) de Solución estándar y Solución muestra, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de dietilenglicol en la porción de Glicerina en ensayo por la fórmula siguiente:

$$100(C_E/C_M)(r_E/r_M)$$

en la cual C_E es la concentración en mg por ml de dietilenglicol en la *Solución estándar*, C_M es la concentración en mg por ml de Glicerina en la *Solución muestra* y r_E y r_M son las respuestas de los picos de dietilenglicol obtenidos en la *Solución estándar* y *Solución muestra*, respectivamente. No debe contener más de 0,1 % de dietilenglicol.

Calcular el porcentaje de cualquier otra impureza, a excepción del pico del solvente, en la porción de Glicerina en ensayo por la fórmula siguiente:

$$100(r_I/r_T)$$

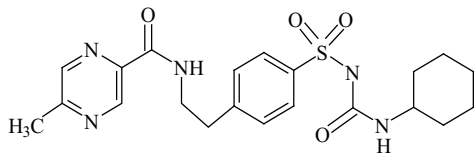
en la cual r_I es la respuesta de cualquier pico individual obtenido a partir de la *Solución muestra* y r_T es la suma de las respuestas de todos los picos obtenidos a partir de la *Solución muestra*. No debe contener más de 0,1 % de cualquier impureza individual a excepción del pico de dietilenglicol y no más de 1,0 % de impurezas totales.

VALORACIÓN

Solución de periodato de sodio - Disolver 60 g de metaperiodato de sodio en suficiente cantidad de agua que contenga 120 ml de ácido sulfúrico y diluir a 1 litro. [NOTA: si la solución obtenida no es límpida, filtrar a través de un filtro de vidrio sinterizado y conservar en envases inactivos con tapón de vidrio.] Evaluar la aptitud de la solución según se indica a continuación. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz aforado de 250 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 50 ml de la solución obtenida a una solución de aproximadamente 550 mg de Glicerina en 50 ml de agua. Dejar reposar durante 30 minutos, agregar 5 ml de ácido clorhídrico, 10 ml de ioduro de potasio (SR) y mezclar. Dejar reposar durante 5 minutos, agregar 100 ml de agua y titular con tiosulfato de sodio 0,1 N con agitación constante y agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Proceder del mismo modo con un blanco preparado del mismo modo pero empleando agua en vez de la solución de Glicerina. La relación del volumen de tiosulfato de sodio 0,1 N consumido para la mezcla Glicerina periodato y el consumido por el blanco debe estar comprendido entre 0,750 y 0,765.

Procedimiento - Pesar exactamente alrededor de 400 mg de Glicerina, transferir a un erlenmeyer, agregar 50 ml de agua y azul de bromotimol (SR), y acidificar con ácido sulfúrico 0,2 N hasta color verde o verde amarillento. Neutralizar con hidróxido de sodio 0,05 N hasta punto final azul, libre de coloración verdosa. Preparar un blanco con 50 ml de agua y neutralizar de la misma manera. Transferir 50 ml de *Solución de periodato de sodio* a sendas soluciones, mezclar, tapar con vidrio de reloj y dejar reposar durante 30 minutos a temperatura ambiente protegidas de la luz. Agregar 10 ml de una mezcla de agua y etilenglicol (50:50) a sendas soluciones, dejar reposar durante 20 minutos y diluir con agua a 300 ml. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) hasta pH $8,1 \pm 0,1$ para la sustancia en ensayo y hasta pH $6,5 \pm 0,1$ para el blanco. Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N, corregido por el blanco, equivale a 9,21 mg de $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$.

GLIPIZIDA



$C_{21}H_{27}N_5O_4S$ PM: 445,5 29094-61-9

Definición - Glipizida es *N*-[2-[4-[[[(ciclohexilamino)carbonil]amino]sulfonyl]fenil]etil]-5-metilpirazincarboxamida. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{21}H_{27}N_5O_4S$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo casi blanco. Inodoro. Fácilmente soluble en dimetilformamida; soluble en hidróxido de sodio 0,1 N; insoluble en agua y alcoholes.

Sustancia de referencia - Glizipida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: metanol.

Concentración: 20 µg por ml.

C - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 100 °C durante 3 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,4 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,005 %.

Impurezas comunes <510>

Solución muestra: Emplear una mezcla de metanol y cloruro de metileno (1:1) como solvente.

Solución estándar A: 0,02 mg por ml de Glipizida SR-FA, empleando una mezcla de metanol y cloruro de metileno (1:1) como solvente.

Solución estándar B: 0,05 mg por ml de Glipizida SR-FA, empleando una mezcla de metanol y cloruro de metileno (1:1) como solvente.

Fase móvil: Tolueno, acetato de etilo y ácido fórmico al 96 % (5:3:2).

Revelador: 1.

Límites: no se deben observar más de tres impurezas en el cromatograma de la *Solución muestra* y ninguna debe ser mayor de 0,5 %.

VALORACIÓN

[NOTA: emplear material de vidrio inactivo].

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 225 nm y una columna de 15 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano unido químicamente a partículas totalmente porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución reguladora de fosfato - Disolver 13,8 g de fosfato monobásico de sodio en agua y diluir a 1 litro con agua. Ajustar a pH de $6,00 \pm 0,05$ con hidróxido de sodio 2,0 N.

Fase móvil - Solución reguladora de fosfato y metanol (55:45). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Glipizida SR-FA en metanol y diluir cuantitativamente con metanol para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml. Transferir 25,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Solución reguladora de fosfato* y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 0,05 mg por ml.

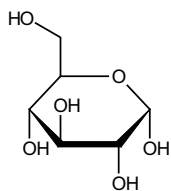
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Glipizida, transferir a un matraz aforado de 200 ml, disolver y completar a volumen con metanol. Transferir 25,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Solución reguladora de fosfato* y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 0,05 mg por ml.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la

cantidad en mg de $C_{21}H_{27}N_5O_4S$ en la porción de
Glipizida en ensayo.

GLUCOSA



$C_6H_{12}O_6$ PM: 180,2 50-99-7
 $C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$ PM: 198,2 5996-10-1

Sinonimia - Dextrosa.

Definición - Glucosa es D-(+) glucopiranososa. Es anhidra o puede contener una molécula de agua de hidratación. Debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco, de sabor dulce. Fácilmente soluble en agua; moderadamente soluble en alcohol.

Sustancia de referencia - Glucosa SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Diluyente - Metanol y agua (3:2).

Fase Móvil - 1,2-dicloroetano, ácido acético glacial, metanol y agua (50:25:15:10). [NOTA: medir exactamente los volúmenes, ya que un ligero exceso de agua puede producir turbidez.]

Solución estándar A - Transferir 10 mg de Glucosa SR-FA a un matraz de 20 ml, disolver y completar a volumen con *Diluyente*.

Solución estándar B - Transferir 10 mg de *Fructosa*, 10 mg de Glucosa SR-FA, 10 mg de *Lactosa* y 10 mg de *Sacarosa* a un matraz aforado de 20 ml, disolver y completar a volumen con *Diluyente*.

Solución muestra - Transferir 10 mg de Glucosa a un matraz aforado de 20 ml, disolver y completar a volumen con *Diluyente*.

Revelador - Emplear una solución de 0,5 g de timol en una mezcla de 5 ml de ácido sulfúrico y 95 ml de alcohol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 2 μ l de la *Solución estándar A* y *B*, y 2 μ l de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente

del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Secar la placa bajo una corriente de aire caliente, desarrollar nuevamente los cromatogramas con *Fase móvil* renovada y secar la placa bajo una corriente de aire caliente. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar a 130 °C durante 10 minutos: en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la mancha principal debe ser similar en color, tamaño y valor de R_f a la obtenida con la *Solución estándar A*. El ensayo sólo es válido si el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar B* presenta cuatro manchas claramente separadas.

B - Disolver 100 mg de Glucosa en 10 ml de agua, agregar 3 ml de tartrato cúprico alcalino (SR) y calentar: se debe observar un precipitado rojo.

Acidez y alcalinidad

Disolver 6 g de Glucosa en 25 ml de agua libre de dióxido de carbono y agregar 0,3 ml de fenolftaleína (SR1): la solución debe ser incolora y no debe consumir más de 0,15 ml de hidróxido de sodio 0,1 N (SV) para virar el indicador a rosa.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: entre + 52,5° y + 53,3°, determinada sobre la sustancia en base anhidra.

Solución muestra: pesar exactamente alrededor de 10 g de Glucosa, disolver en 80 ml de agua, agregar 0,2 ml de amoníaco diluido, dejar reposar durante 30 minutos y diluir con agua a 100 ml.

Azúcares extraños, almidón soluble y dextrinas

Disolver 1 g de Glucosa en 30 ml de alcohol al 90 % v/v a ebullición: el aspecto de la solución no debe cambiar al enfriar.

Límite de sulfitos

Solución estándar - Disolver 76 mg de metabisulfito de sodio en agua y diluir a 50 ml con agua. Transferir 5 ml a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua. Transferir 3 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, agregar 4 ml de hidróxido de sodio 0,1 N y completar a volumen con agua. A 10 ml de esta solución agregar 1 ml de ácido clorhídrico al 31 %, 2 ml de fucsina decolorada y 2 ml de solución de formaldehído al 0,5 % v/v y dejar reposar durante 30 minutos.

Solución muestra - Disolver 5,0 g de Glucosa en 40 ml de agua, agregar 2 ml de hidróxido de sodio 0,1 N y diluir a 50 ml con agua. A 10 ml de esta solución, agregar 1 ml de solución de ácido clorhídrico al 31 %, 2 ml de fucsina decolorada y 2 ml de solución de formaldehído al 0,5 % v/v y dejar reposar durante 30 minutos.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y la *Solución estándar* (ver

470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) con un espectrofotómetro ajustado a 583 nm, empleando una solución tratada del mismo modo que la *Solución muestra* pero a partir de 10 ml de agua, como blanco. La absorbancia de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la de la *Solución estándar* (15 ppm de SO₂).

Límite de cloruro

Solución muestra - Disolver 10 g de Glucosa en agua y diluir con agua a 100 ml. Diluir 4 ml de la solución anterior a 15 ml con agua.

Procedimiento - A 15 ml de *Solución muestra* agregar 1 ml de ácido nítrico al 12,5 %. Transferir esta mezcla a un tubo de Nessler que contenga 1 ml de nitrato de plata (SR) y proteger de la luz. Proceder del mismo modo con 15 ml de una solución control preparada agregando 5 ml de agua a 10 ml de solución de cloruro (5 ppm) (SL). Luego de 5 minutos, si la *Solución muestra* presenta opalescencia, esta no debe ser más intensa que la del control (125 ppm).

Límite de sulfato

Solución muestra - Disolver 10 g de Glucosa en agua y diluir a 100 ml con agua. Diluir 7,5 ml a 15 ml con agua.

Procedimiento - A 1,5 ml de solución de sulfato (10 ppm) (SL1) agregar 1 ml de cloruro de bario al 25 %, agitar y dejar reposar durante 1 minuto. Agregar 15 ml de *Solución muestra* y 0,5 ml de ácido acético. Proceder del mismo modo con 15 ml de solución de sulfato (10 ppm) (SL) para obtener una solución control. Luego de 5 minutos, si la *Solución muestra* presenta opalescencia, esta no debe ser más intensa que la del control (200 ppm).

Límite de arsénico <540>

Método I. No más de 1 ppm.

Límite de bario

Disolver 10 g de Glucosa en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente. A una porción de 10 ml de esta solución, agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido (*Solución muestra*) y a otra porción igual agregar 1 ml de agua (*Solución blanco*). Luego de 1 hora la *Solución muestra* no debe presentar mayor opalescencia que la *Solución blanco*.

Límite de calcio

Solución muestra - Disolver 10 g de Glucosa en agua y diluir a 100 ml con agua. Diluir 5 ml de la solución anterior a 15 ml con agua.

Procedimiento - A 0,2 ml de solución de calcio (100 ppm) (SL1), agregar 1 ml de oxalato de amonio al 4 %, dejar reposar 1 minuto y agregar una mezcla de 1 ml de ácido acético diluido y 15 ml de *Solución muestra*. Proceder del mismo modo con un control preparado con 10 ml de una solución

de calcio (10 ppm) (SL), 1 ml de ácido acético diluido y 5 ml de agua. Luego de 15 minutos, si la *Solución muestra* presenta opalescencia, esta no debe ser más intensa que la del control (200 ppm).

Límite de metales pesados <590>

Método I. Disolver 4,0 g de Glucosa en agua hasta 25 ml. El límite es 5 ppm.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Cuando en el rótulo se indique que Glucosa es anhidra no debe contener más de 1,0 %, determinado sobre 0,5 g. Cuando en el rótulo se indique que Glucosa es monohidrato debe contener entre 7,0 y 9,5 %, determinado sobre 0,5 g.

Determinación del residuo de ignición <270>

Disolver 5 g de Glucosa en 5 ml de agua, agregar 2 ml de ácido sulfúrico, evaporar a sequedad en un baño de agua y someter a ignición hasta peso constante. De ser necesario, calentar nuevamente con ácido sulfúrico. No debe contener más de 0,1 %.

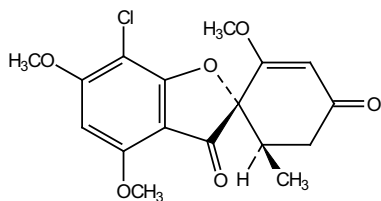
Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando la Glucosa esté destinada a la preparación de formas farmacéuticas inyectables debe cumplir con los requisitos del ensayo. No debe contener más de 5,0 Unidades de Endotoxinas por g.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si la Glucosa es anhidra o monohidrato. Indicar en el rótulo cuando la Glucosa esté destinada a la preparación de formas farmacéuticas inyectables.

GRISEOFULVINA



$C_{17}H_{17}ClO_6$ PM: 352,8 126-07-8

Definición - Griseofulvina es (1'S-*trans*)-7-Cloro-2',4,6-trimetoxi-6'-metilespiro[benzofuran-2(3H),1'[2]ciclohexeno]-3,4'-diona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{17}H_{17}ClO_6$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o blanco-amarillento, cuyas partículas tienen generalmente un tamaño de 5 μm de diámetro como máximo, aunque en algunos casos pueden sobrepasar los 30 μm . Fácilmente soluble en dimetilformamida y cloruro de etileno; poco soluble en alcohol y metanol; prácticamente insoluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Griseofulvina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*.

Cristalinidad

Colocar partículas de Griseofulvina en aceite mineral sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas deben presentar birrefringencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 217 y 224 °C.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +348° y +364°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en dimetilformamida.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 100 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por 1 % p/p de poli[(cianopropil)metil][fenilmetil]siloxano sobre un soporte formado por tierra silíceo para cromatografía de gases que ha sido calcinada a 900 °C mezclando diatomea con Na_2CO_3 [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido y luego con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases]. Mantener la columna, el inyector y el detector a 250, 270 y 300 °C, respectivamente. Emplear nitrógeno como gas transportador con un caudal entre 50 y 60 ml por minuto.

Solución del estándar interno - Disolver 200 mg de difenilantraceno en acetona y diluir a 100 ml con el mismo solvente.

Solución estándar - Disolver 5,0 mg de Griseofulvina SR-FA en acetona, agregar 1,0 ml de *Solución del estándar interno* y diluir a 10 ml con acetona.

Solución muestra A - Disolver 100 mg de Griseofulvina en acetona y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución muestra B - Disolver 100 mg de Griseofulvina en acetona, agregar 1,0 ml de *Solución del estándar interno* y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales de la *Solución estándar* y las *Soluciones muestra A* y *B*, registrar los cromatogramas durante tres veces el tiempo de retención del pico de griseofulvina (aproximadamente 11 minutos) y medir las respuestas de todos los picos. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar* determinar la relación entre las respuestas de los picos correspondientes a griseofulvina y al estándar interno. Determinar en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra B* la relación entre las respuestas de los picos correspondientes a declorogriseofulvina (cuyo tiempo de retención relativo al pico de griseofulvina es aproximadamente 0,6) y al estándar interno. Determinar la relación entre las respuestas de los picos correspondientes a deshidrogriseofulvina (cuyo tiempo de retención relativo al pico de griseofulvina es aproximadamente 1,4) y al estándar interno. Las relaciones calculadas a partir de la *Solución muestra B* divididas cada una por la relación calculada a partir de la *Solución estándar* deben ser menores de 0,6 para declorogriseofulvina y 0,15 para deshidrogriseofulvina.

Sustancias solubles en éter de petróleo

Agitar 1,0 g de Griseofulvina con 20 ml de éter de petróleo. Calentar a ebullición bajo un conden-

sador a reflujo durante 10 minutos, enfriar, filtrar y lavar con tres porciones de 15 ml de éter de petróleo. Combinar los lavados y el filtrado, evaporar hasta sequedad en un baño de agua y secar entre 100 y 105 °C durante 1 hora: el peso del residuo no debe ser mayor de 2 mg (0,2 %).

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,0025 %.

Pérdida por secado <680>

Secar 1,0 g de Griseofulvina entre 100 y 105 °C: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

Ensayo de toxicidad anormal

Seleccionar cinco ratones sanos, con un peso comprendido entre 17 y 22 g. Administrar a cada uno de ellos, por vía oral, una suspensión que contenga 100 mg de Griseofulvina en un volumen entre 0,5 y 1 ml de agua: no debe morir ningún ratón dentro de las 48 horas de administrada la suspensión.

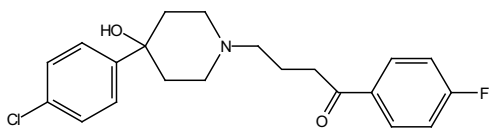
VALORACIÓN

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 80,0 mg de Griseofulvina y disolver en 200 ml de alcohol absoluto. Transferir 2 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con alcohol absoluto.

Preparación estándar - Proceder según se indica para *Preparación muestra* empleando Griseofulvina SR-FA

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 291 nm, con un espectrofotómetro, empleando alcohol absoluto como blanco. Calcular el contenido de $C_{17}H_{17}ClO_6$ en la porción de Griseofulvina en ensayo.

HALOPERIDOL



$C_{21}H_{23}ClFNO_2$ PM: 375,9 52-86-8

Definición - Haloperidol es 4-[4-(*p*-Clorofenil)-4-hidroxipiperidino]-4'-fluorobutirofenona. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{21}H_{23}ClFNO_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo microcristalino o amorfo, blanco a débilmente amarillento. Sus soluciones saturadas son neutras al tornasol. Soluble en cloroformo; moderadamente soluble en alcohol; poco soluble en éter; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Haloperidol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción Infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción Ultravioleta <470>

Solvente: ácido clorhídrico 0,1 N y alcohol isopropílico (1 en 9).

Concentración: 20 µg por ml.

Las absorptividades a 245 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 149 y 155 °C, determinado luego de secar al vacío a 60 °C durante 3 horas.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de 4,4'-bis[4-(*p*-clorofenil)-4-hidroxipiperidino]-butirofenona

Transferir 50,0 mg de Haloperidol a un matraz aforado de 50 ml, disolver en una mezcla de ácido clorhídrico 0,1 N y alcohol isopropílico (1 en 9) y completar a volumen con la misma mezcla de solventes. Determinar la absorbancia de esta solución (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 335 nm, con un espectrofotómetro, empleando una mezcla de ácido clorhídrico 0,1 N y alcohol isopropílico (1 en 9) como blanco.

La absorbancia de la solución no debe ser mayor de 0,30.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

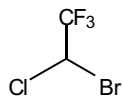
Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 125 mg de Haloperidol, disolver en 25 ml de ácido acético glacial, agregar 3 gotas de *p*-naftolbenceína (SR) y titular con ácido perclórico 0,05 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,05 N equivale a 18,79 mg de $C_{21}H_{23}ClFNO_2$.

HALOTANO



$C_2HBrClF_3$ PM: 197,4 151-67--7

Definición - Halotano es 2-Bromo-2-cloro-1,1,1-trifluoroetano. Debe contener no menos de 0,008 por ciento y no más de 0,012 por ciento de timol, en peso, como estabilizante.

Caracteres generales - Líquido denso, incoloro, no inflamable. Miscible con aceites fijos, alcohol, cloroformo y éter; poco soluble en agua.

Sustancia de referencia - Halotano SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto, preferentemente de vidrio. Evitar la exposición al calor excesivo y dispensarlo únicamente en el envase original.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. *En solución.*

Solvente: disulfuro de carbono.

Concentración: 1 en 25.

Determinación de la densidad relativa <160>

Entre 1,872 y 1,877, a 20 °C.

Determinación del intervalo de destilación <240>

Método II. No menos de 95 % destila en un intervalo de 1 °C, entre 49 y 51 °C y no menos de 100 % destila entre 49 y 51 °C, aplicar un factor de corrección de 0,040 °C por mm Hg según sea necesario.

Determinación del índice de refracción <230>

Entre 1,369 y 1,371, a 20° C.

Acidez o alcalinidad

Agitar 20 ml de Halotano con 20 ml de agua libre de dióxido de carbono, durante 3 minutos y dejar que las fases se separen: la fase acuosa no debe requerir más de 0,1 ml de hidróxido de sodio 0,010 N o no más de 0,6 ml de ácido clorhídrico 0,010 N para la neutralización, emplear púrpura de bromocresol (SR) como indicador.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,03 %.

Límite de residuo no volátil

Evaporar a sequedad 50 ml de Halotano en una cápsula previamente pesada sobre un baño de vapor y secar el residuo a 105 °C durante 2 horas: el peso del residuo no debe ser mayor de 1 mg.

Cloruro y bromuro

Agitar 25 ml de Halotano con 25 ml de agua durante 5 minutos y dejar que las fases se separen completamente. A 10 ml de la fase acuosa, agregar 1 gota de ácido nítrico y 5 gotas de nitrato de plata (SR): no se debe producir opalescencia.

Contenido de timol

Solución estándar de timol - Preparar una solución en hidróxido de sodio 0,25 N de aproximadamente 0,1 mg de timol por ml.

Solución reguladora - Emplear solución reguladora alcalina de borato de pH 8,0 (ver *Soluciones reguladoras* en *Soluciones*).

Solución de clorimida - Disolver 100 mg de 2,6-dibromoquinona-clorimida en 25 ml de alcohol absoluto. [NOTA: preparar esta solución en el momento de su uso.]

Curva estándar de timol - Transferir a tres matraces aforados de 100 ml, 1,0; 3,0 y 5,0 ml, respectivamente, de *Solución estándar de timol* y agregar hidróxido de sodio 0,25 N para obtener un volumen final de 5,0 ml. Transferir 5,0 ml de hidróxido de sodio 0,25 N a un cuarto matraz para preparar el blanco. A cada matraz, agregar 10 ml de *Solución reguladora*, mezclar agitando por rotación suavemente y agregar 1 ml de *Solución de clorimida*. Dejar en reposo durante 15 minutos exactamente medidos, agregar 3 ml de hidróxido de sodio 0,25 N a cada matraz y completar a volumen con agua. Con un espectrofotómetro, medir las absorbancias de las soluciones que contienen timol contra el blanco a 590 nm. Graficar y calcular la ecuación de la recta que mejor ajuste.

Procedimiento - Pesar exactamente alrededor de 2 ml de Halotano, transferir a un matraz aforado de 100 ml que contenga 5 ml de hidróxido de sodio 0,25 N y mezclar por rotación suave. Evaporar el Halotano con ayuda de una corriente de nitrógeno y agregar 10 ml de *Solución reguladora* y 1 ml de la *Solución de clorimida*. Agitar por rotación suavemente, dejar en reposo durante 15 minutos exactamente medidos, agregar 3 ml de hidróxido de sodio 0,25 N y completar a volumen con agua. Medir la absorbancia de la solución resultante y a partir de la ecuación obtenida en *Curva estándar de timol*, calcular el porcentaje de timol en la porción de Halotano en ensayo.

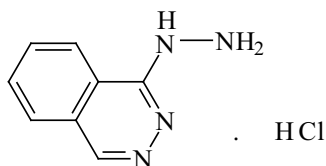
Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de $3\text{ m} \times 2\text{ mm}$ con 20 % de fase constituida por ftalato de diisodécilo sobre un soporte constituido por tierra silíceas para cromatografía de gases que ha sido calcinada a $900\text{ }^{\circ}\text{C}$ mezclando diatomeas con Na_2CO_3 [NOTA: la tierra silíceas se lava con ácido y luego se lava con base. La tierra silíceas puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanos superficiales]. Emplear nitrógeno como gas transportador con un caudal de aproximadamente 15 ml por minuto. Mantener la columna a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, el inyector y el detector aproximadamente a $200\text{ }^{\circ}\text{C}$. Los tiempos de retención deben ser aproximadamente, 5 minutos para 1,1,2-tricloro-1,2,2-trifluoroetano y 13 minutos para halotano.

Preparación estándar - Transferir $1,0\text{ }\mu\text{l}$ de 1,1,2-tricloro-1,2,2-trifluoroetano a $20,0\text{ ml}$ de la muestra.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente $2\text{ }\mu\text{l}$) de la *Preparación estándar* y de Halotano, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos. A excepción del pico de halotano, la respuesta total de todos los picos obtenidos a partir de la muestra no debe ser mayor a la respuesta debida al 1,1,2-tricloro-1,2,2-trifluoroetano agregado a la *Preparación estándar* (0,005 %).

HIDRALAZINA, CLORHIDRATO DE



$C_8H_8N_4 \cdot HCl$ PM: 196,64 304-20-1

Definición - Clorhidrato de Hidralazina es Clorhidrato de 1(2*H*)-ftalazinona hidrazona. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_8H_8N_4 \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Funde aproximadamente a 275 °C, con descomposición. Soluble en agua; poco soluble en alcohol; muy poco soluble en éter.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Hidralazina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción Infrarroja <460>. *En suspensión.*

B - Absorción Ultravioleta <470>

Solvente: agua.

Concentración: 1 en 100.000.

Las absorvidades a 260 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

C - Una solución de Clorhidrato de Hidralazina 1 en 4000 debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 3,5 y 4,2; determinado sobre una solución 1 en 50.

Pérdida por secado <680>

Secar a 110 °C durante 15 horas; no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Sustancias insolubles en agua

Transferir 2,0 g de Clorhidrato de Hidralazina a un erlenmeyer de 250 ml, agregar 100 ml de agua y agitar durante aproximadamente 30 minutos. Filtrar a través de un crisol de vidrio sinterizado previamente pesado, transfiriendo cuantitativamente el contenido del erlenmeyer. Lavar el residuo con tres porciones de 10 ml de agua, secar a 105 °C durante

3 horas, enfriar y pesar: el peso del residuo no debe ser mayor de 10 mg (0,5 %).

Límites de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Límite de hidracina

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Alcohol y tolueno (10:90).

Solución de Salicilaldehído en metanol - Preparar una solución de salicilaldehído en metanol que contenga 150 mg por ml.

Solución de metabisulfito de sodio - Preparar una solución de metabisulfito de sodio que contenga 200 mg por ml.

Solución muestra - Disolver 0,12 g de Clorhidrato de Hidralazina en 4 ml de agua, agregar 4 ml de *Solución de Salicilaldehído en metanol* y 0,2 ml de ácido clorhídrico y mezclar. Dejar en reposo durante 2 a 4 horas a una temperatura inferior a 25 °C, hasta que el precipitado formado sedimente. Agregar 4 ml de tolueno, mezclar y centrifugar. Transferir la fase superior a una ampolla de decantación, extraer con dos porciones de 20 ml de *Solución de metabisulfito de sodio* y con dos porciones de 50 ml de agua. La fase superior constituye la *Solución muestra*.

Solución estándar A - Disolver 12 mg de Sulfato de hidracina en una solución de ácido clorhídrico 20 % P/V y diluir a 100 ml con el mismo ácido. Transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con ácido clorhídrico 20 % P/V.

Solución estándar B - Preparar en el mismo momento y de la misma manera que la *Solución muestra* a partir de 1 ml de la *Solución estándar A* y 3 ml de agua.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 20 µl de la *Solución muestra* y 20 µl de la *Solución estándar B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente la mitad de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar bajo luz ultravioleta a 365 nm: ninguna mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser mayor en tamaño e intensidad a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar B* (10 ppm).

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 230 nm y una columna de

25 cm × 4,0 mm con fase estacionaria constituida por grupos nitrilo químicamente unido a partículas de sílice porosa de 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 1,44 g de dodecilsulfato de sodio y 0,75 g de bromuro de tetrabutilamonio en 770 ml de agua, y agregar 230 ml de acetonitrilo. Ajustar a pH 3,0 con Ácido sulfúrico 0,1 N si fuera necesario (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Clorhidrato de Hidralazina, transferir a un matraz aforado de 50 ml. Disolver y completar a volumen con *Fase móvil*.

Solución estándar A - Transferir 1 ml de *Solución muestra* a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a volumen con *Fase móvil*.

Solución estándar B - Transferir 10 ml de *Solución estándar A* a un matraz aforado de 50 ml, disolver y completar a volumen con *Fase móvil*.

Solución estándar C - Disolver 25 mg de ftalazina en *Fase móvil* y diluir a 50 ml con el mismo solvente. Transferir 4 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Solución de resolución - Transferir 4 ml de *Solución muestra* y 10 ml de *Solución estándar C* a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Pro-*

cedimiento: la resolución *R* entre los picos de hidralazina y ftalazina no debe ser menor de 2,5. Cromatografiar la *Solución estándar B* y registrar la respuesta de los picos según se indica en *Procedimiento*: la relación señal-ruido para el pico principal no debe ser menor de 3.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar B*, registrar los cromatogramas durante al menos tres veces el tiempo de retención de clorhidrato de hidralazina y medir la respuesta de todos los picos. A excepción del pico principal, en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* la respuesta de ningún pico debe ser mayor que el pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar B* (0,2 %).

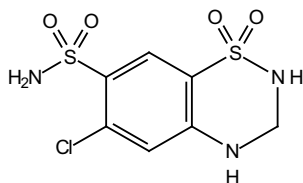
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I. Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 80 mg de Clorhidrato de Hidralazina y disolver en 25 ml de agua. Agregar 35 ml de ácido clorhídrico y titular con iodato de potasio 0,05 M, determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de iodato de potasio 0,05 M equivale a 9,832 mg de $C_8H_8N_4 \cdot HCl$.

HIDROCLOROTIAZIDA



C₇H₈ClN₃O₄S₂ PM: 297,7 58-93-5

Definición - Hidroclorotiazida es 6-Cloro-3,4-dihidro-2H-1,2,4-benzotiazina-7-sulfonamida-1,1-dióxido. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de C₇H₈ClN₃O₄S₂, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco, inodoro. Fácilmente soluble en solución de hidróxido de sodio, *n*-butilamina y dimetilformamida; moderadamente soluble en metanol; poco soluble en agua; insoluble en éter, cloroformo y en ácidos minerales diluidos.

Sustancia de referencia - Hidroclorotiazida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.* La mezcla de bromuro de potasio e Hidroclorotiazida se debe calentar previamente a 105 °C durante 2 horas.

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: metanol.

Concentración: 10 µg por ml.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Agitar 0,50 g de Hidroclorotiazida con 40 ml de agua durante 5 minutos y filtrar: el filtrado no debe presentar más cloruro que el que corresponde a 0,25 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,035 %).

Límite de Selenio <610>

No más de 0,003 %, empleando 200 mg.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos equipado con un

detector ultravioleta ajustado a 224 nm y una columna de 10 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 0,8 ml por minuto.

Solución reguladora de fosfato de sodio - Disolver una porción de fosfato monobásico de sodio en agua para obtener una solución de aproximadamente 38,5 g por litro. Ajustar a pH 3,2 ± 0,1 con ácido fosfórico diluido. Transferir 100 ml de esta solución a un matraz aforado de 2 litros, completar a volumen con agua y filtrar.

Solución A - *Solución reguladora de fosfato de sodio*, metanol y tetrahidrofurano (94:6:1). Desgasificar.

Solución B - *Solución reguladora de fosfato de sodio*, metanol y tetrahidrofurano (50:50:5). Desgasificar.

Fase móvil - Emplear mezclas variables de *Solución A* y *Solución B*, según se indica a continuación. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Tiempo (minutos)	Solución A (%)	Solución B (%)	Etapas
0-17	100→55	0→45	Gradiente lineal
17-30	55	45	isocrático
30-35	55→100	45→0	Gradiente lineal
35-50	100	0	isocrático

Diluyente 1 - Acetonitrilo y metanol (50:50).

Diluyente 2 - Transferir 50 ml de *Diluyente 1* a un matraz aforado de 200 ml y completar a volumen con *Solución reguladora de fosfato de sodio*.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 15 mg de Hidroclorotiazida, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver en 2,5 ml de *Diluyente 1*, sonicando si fuera necesario, y completar a volumen con *Solución reguladora de fosfato de sodio*.

Solución estándar A - Transferir 15 mg de Hidroclorotiazida SR-FA y 15 mg de *Clorotiazida* a un matraz aforado de 100 ml, disolver en 25 ml de *Diluyente 1*, sonicando si fuera necesario, y completar a volumen con *Solución reguladora de fosfato de sodio*. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Diluyente 2*.

Solución estándar B - Transferir 1,0 ml de *Solución muestra* a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con *Diluyente*. Diluir 5,0 ml de esta solución a 20 ml con *Diluyente 2*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar A* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de hidroc lorotiazida y de clorotiazida no debe ser menor de 2,5.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Solución muestra* y las *Soluciones estándar B*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos; los tiempos de retención deben ser aproximadamente 7 minutos para clorotiazida y 8 minutos para hidroc lorotiazida. Calcular el porcentaje de cada impureza individual en la porción de la Hidroc lorotiazida en ensayo, relacionando las respuestas de los picos de cada impureza obtenido con la *Solución muestra* y la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar B*. No debe contener más de 0,5 % y no más de 1,0 % de impurezas totales. Ignorar cualquier pico con una respuesta menor a 0,1 veces la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar B* (0,05 %).

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 1 hora: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

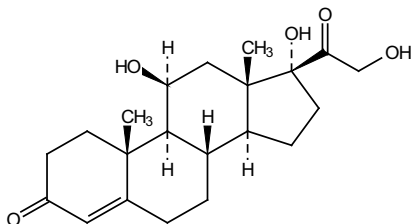
Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 120 mg de Hidroc lorotiazida y disolver en 50 ml de dimetilsulfóxido, calentando si fuera necesario. Titular con hidróxido de tetrabutilamonio 0,1 N en 2-propanol (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar la corrección con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Ver 780. *Volumetría*. Cada ml de hidróxido de tetrabutilamonio 0,1 N en 2-propanol equivale a 14,88 mg de $C_7H_8ClN_3O_4S_2$.

HIDROCORTISONA



$C_{21}H_{30}O_5$ PM: 362,5 50-23-7

Definición - Hidrocortisona es (11 β)11, 17, 21-Trihidroxi-pregn-4-eno-3,20-diona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{21}H_{30}O_5$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco, inodoro. Funde aproximadamente a 215 °C, con descomposición. Moderadamente soluble en acetona y alcohol; poco soluble en cloroformo; muy poco soluble en agua y éter.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Hidrocortisona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: metanol.

Concentración: 10 μ g por ml.

Las absorptividades a 242 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 2,5 %.

Determinación de rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre + 150° y + 156°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en dioxano.

Determinación del residuo de ignición <270>

Inapreciable, determinado sobre 100 mg.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico y Fase móvil - Procede según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Hidrocortisona, transferir a un matraz aforado de 10 ml y disolver en 2 ml de tetrahidrofurano. Completar a volumen con agua para obtener

una solución de aproximadamente 2,5 mg por ml y homogeneizar.

Solución estándar - Diluir 1 ml de *Solución muestra* a 100 ml con *Fase móvil*.

Solución de resolución - Disolver cantidades exactamente pesadas de Hidrocortisona SR-FA y *Prednisolona* en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 20 μ g de cada una por ml.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 1,0 para prednisolona y 1,5 para hidrocortisona; la resolución *R* entre los picos de hidrocortisona y del estándar interno no debe ser menor de 2,2.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución estándar*, la *Solución muestra*, la *Solución de resolución* y *Fase móvil* como blanco, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Cromatografiar la *Solución muestra* durante aproximadamente cuatro veces el tiempo de retención del pico principal. A excepción del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta de ningún pico debe ser mayor que la mitad del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (0,5 %) y la suma de las respuestas de todos los picos, a excepción del pico principal, no debe ser mayor que 1,5 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (1,5 %). Ignorar la respuesta de cualquier pico en el cromatograma obtenido a partir del blanco y cualquier pico con una respuesta menor de 0,05 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar*.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por partículas de octadecilsilano totalmente ligada, de 5 μ m de diámetro. Mantener la columna aproximadamente a 45 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Transferir 220 ml de tetrahidrofurano a un matraz de 1 litro, agregar 700 ml de agua, mezclar y dejar equilibrar. Completar a volumen

con agua y mezclar nuevamente. Filtrar y desgasi-
ficar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del
sistema en 100. Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad
exactamente pesada de Hidrocortisona SR-FA en
metanol para obtener una solución de aproximada-
mente 0,1 mg por ml.

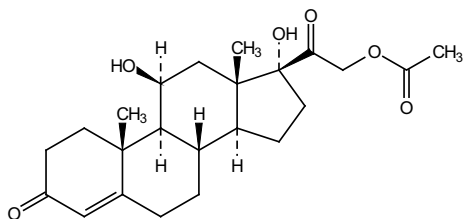
Preparación muestra - Disolver una cantidad
exactamente pesada de Hidrocortisona en metanol
para obtener una solución de aproximadamente
0,1 mg por ml.

Solución de resolución - Disolver cantidades
exactamente pesadas de Hidrocortisona SR-FA y
Prednisolona en metanol para obtener una solución
de aproximadamente 20 µg de cada una por ml.

Aptitud del sistema (ver *100. Cromatografía*) -
Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar
las respuestas de los picos según se indica en *Pro-
cedimiento*: la resolución *R* entre los picos de hidro-
cortisona y prednisolona no debe ser menor de 2,2;
la desviación estándar relativa para inyecciones
repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el
cromatógrafo volúmenes iguales de la *Preparación
estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los
cromatogramas y medir las respuestas de los picos
principales. Calcular la cantidad en mg de
 $C_{21}H_{30}O_5$ en la porción de Hidrocortisona en ensa-
yo.

HIDROCORTISONA, ACETATO DE



$C_{23}H_{32}O_6$

PM: 404,5

50-03-3

Definición - Acetato de Hidrocortisona es (11 β)-21-(Acetiloxi)-11,17-dihidroxi-pregn-4-eno-3,20-diona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{23}H_{32}O_6$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Inodoro. Funde aproximadamente a 220 °C, con descomposición. Poco soluble en alcohol y cloroformo; insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Acetato de Hidrocortisona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*.

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: metanol.

Concentración: 10 μ g por ml.

Las absorptividades a 242 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 2,5 %.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +158° y +165°.

Solución muestra: 5 mg por ml, en dioxano.

Determinación del residuo de ignición <270>

Inapreciable, determinado sobre 100 mg.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 15 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1 ml por minuto. El

cromatógrafo se debe programar del siguiente modo:

Tiempo (minutos)	Solución A (%)	Solución B (%)	Etapas
0-5	90	10	Isocrático
5-25	90 \rightarrow 10	10 \rightarrow 90	Gradiente lineal
25-30	10	90	Isocrático
30-35	10 \rightarrow 90	90 \rightarrow 10	Gradiente lineal
35-40	90	10	Reequilibración

Solución A - Agua y acetonitrilo (80:20). Filtrar y desgasificar.

Solución B - Acetonitrilo y agua (70:30). Filtrar y desgasificar.

Fase móvil - Emplear mezclas de *Solución A* y *Solución B* según se indica en *Sistema cromatográfico*. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Diluyente - Acetonitrilo, agua y ácido acético glacial (700:300:1).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Acetato de Hidrocortisona SR-FA en *Diluyente* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 5 μ g por ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Acetato de Hidrocortisona, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver en *Diluyente*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 5,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Acetato de Hidrocortisona en ensayo, en relación al pico principal obtenido con la *Solución estándar*. No debe contener más de 1,0 % de cualquier impureza individual y la suma de todas las impurezas no debe ser mayor de 2,0 %.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm × 4 mm con fase estacionaria constituida por partículas porosas de sílice de 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Cloruro de *n*-butilo, cloruro de *n*-butilo saturado con agua, tetrahidrofurano, metanol y ácido acético glacial (475:475:70:35:30). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

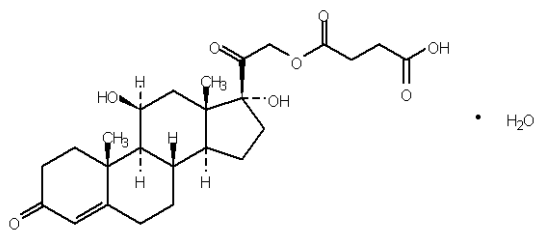
Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Acetato de Hidrocortisona SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Acetato de Hidrocortisona, transferir a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría para el pico de acetato de hidrocortisona no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₂₃H₃₂O₆ en la porción de Acetato de Hidrocortisona en ensayo.

HIDROCORTISONA, HEMISUCCINATO DE



C₂₅H₃₄O₈ · H₂O PM: 480,6 83784-20-7

Anhidro PM: 462,5 2203-97-6

Definición - Hemisuccinato de Hidrocortisona es (11β)-11,17-Dihidroxi-21-(3-carboxi-1-oxopropoxi)pregn-4-eno-3,20-diona, monohidrato. Es anhidra o contiene una molécula de agua de hidratación. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de C₂₅H₃₄O₈, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Higroscópico. Fácilmente soluble en acetona y etanol; prácticamente insoluble en agua. Se disuelve en soluciones diluidas de carbonatos alcalinos e hidróxidos alcalinos.

Presenta polimorfismo.

Sustancias de referencia - Hemisuccinato de Hidrocortisona SR-FA. Fluorometolona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*.

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: alcohol.

Concentración: 20 µg por ml.

Las absorbividades a 242 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +124° y +134°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en acetona.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: la forma anhidra no debe perder más de 1,0 % de su peso y el monohidrato no debe perder más de 4,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 15 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 0,8 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, acetonitrilo y metanol (700:285:15). Filtrar y desgasificar. Agregar 3 ml de ácido acético glacial por litro de esta solución y mezclar completamente. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Agua, acetonitrilo, tetrahidrofurano y ácido acético glacial (500:250:250:1). Mezclar completamente.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Hemisuccinato de Hidrocortisona SR-FA en *Diluyente* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 6,6 µg por ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 33 mg de Hemisuccinato de Hidrocortisona, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver con *Diluyente*, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. [NOTA: se deben mantener las muestras a 5 °C o una temperatura menor durante el ensayo.]

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 5.000 platos teóricos; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 5,0 %.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 20 µl de la *Solución muestra*, registrar el cromatograma y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Hemisuccinato de Hidrocortisona en ensayo, en relación a la suma de las respuestas de todos los picos. No debe contener más de 1,0 % de cualquier impureza y no debe contener más de 2,0 % de impurezas totales. Ignorar cualquier pico con una respuesta menor de 0,05 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de

30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por partículas porosas de sílice de 5 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Cloruro de butilo, cloruro de butilo saturado con agua, tetrahidrofurano, metanol y ácido acético glacial (95:95:14:7:6). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución del estándar interno - Preparar una solución de Fluorometolona SR-FA en tetrahidrofurano de aproximadamente 3 mg por ml.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 30 mg de Hemisuccinato de Hidrocortisona SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml y agregar 5,0 ml de *Solución del estándar interno*. Completar a volumen con cloroformo que contenga 3 % de ácido acético glacial y mezclar hasta disolver.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 30 mg de Hemisuccinato de Hidrocortisona y proceder según se indica en *Preparación estándar*.

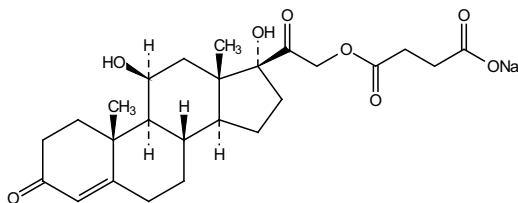
Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de hemisuccinato de hidrocortisona y del estándar interno no debe ser menor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₂₅H₃₄O₈ en la porción de Hemisuccinato de Hidrocortisona en ensayo.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si el Hemisuccinato de Hidrocortisona es anhidro o monohidrato.

HIDROCORTISONA, SUCCINATO SÓDICO DE



$C_{25}H_{33}NaO_8$

PM: 484,5

125-04-2

Definición - Succinato Sódico de Hidrocortisona es la Sal monosódica de (11 β)-11,17-dihidroxi-21-(3-carboxi-1-oxopropoxi)pregn-4-eno-3,20-diona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de esteroides totales, calculados como $C_{25}H_{33}NaO_8$, sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Sólido amorfo blanco o casi blanco. Inodoro e higroscópico. Muy soluble en agua y alcohol; muy poco soluble en acetona; insoluble en cloroformo.

Sustancia de referencia - Hemisuccinato de Hidrocortisona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión.* Disolver 100 mg de Succinato Sódico de Hidrocortisona en aproximadamente 10 ml de agua. Inmediatamente después, agregar 1 ml de ácido clorhídrico 3 N. Agitar brevemente; decantar de inmediato la fase acuosa y lavar el precipitado con dos porciones adicionales de 10 ml de agua, retirando cada vez el agua por decantación. Retirar tanta agua como sea posible, esparcir el precipitado en un recipiente apropiado y secar al vacío aproximadamente a 60 °C durante 3 horas; el espectro de absorción infrarroja de una dispersión del precipitado obtenido en aceite mineral debe exhibir máximos sólo a las mismas longitudes de onda que el de una preparación similar de Hemisuccinato de Hidrocortisona SR-FA.

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: metanol.

Concentración: 20 μ g por ml.

Las absorptividades a 242 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

C - Debe responder al ensayo de la llama para Sodio <410>.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +140° y +150°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en alcohol.

Contenido de sodio

Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Succinato Sódico de Hidrocortisona, disolver calentando suavemente, en 75 ml de ácido acético glacial. Agregar 20 ml de dioxano, luego agregar cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 2,299 mg de sodio. Debe contener entre 4,60 y 4,84 % de sodio, calculado sobre la sustancia seca.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 2,0 % de su peso.

VALORACIÓN

Preparación estándar - Proceder según se indica en *Preparación estándar* en 750. *Valoración de esteroides* empleando Hemisuccinato de Hidrocortisona SR-FA, pero diluir la solución con alcohol para obtener una concentración de 12,5 μ g por ml.

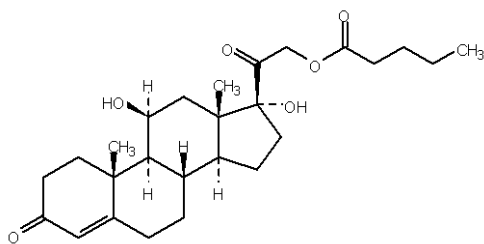
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Succinato Sódico de Hidrocortisona, disolver con cantidad suficiente de alcohol para obtener un volumen de 200,0 ml y mezclar. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con alcohol y mezclar. Transferir 20 ml de la solución resultante a un erlenmeyer de 50 ml provisto de un tapón de vidrio.

Procedimiento - A cada uno de los erlenmeyers que contienen la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, respectivamente y a otro erlenmeyer similar que contenga 20,0 ml de alcohol para preparar el blanco, agregar 2,0 ml de una solución preparada disolviendo 50 mg de azul de tetrazolio en 10 ml de alcohol y mezclar. Luego agregar a cada erlenmeyer 4,0 ml de una solución 1 en 10 de hidróxido de tetrametilamonio (SR) en alcohol, mezclar, dejar en reposo en la oscuridad durante 90 minutos, agregar 1,0 ml de ácido acético glacial, mezclar y proceder según se indica en *Procedimiento* en 750. *Valoración de esteroides*, comenzando donde dice: “*Determinar las absorbancias...*”. Calcular la cantidad en mg de $C_{25}H_{33}NaO_8$ en la porción de Succinato Sódico de Hidrocortisona en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$8,38C(A_M/A_E)$$

en la cual C es la concentración de Hemisuccinato de Hidrocortisona SR-FA en la *Preparación estándar* y A_M y A_E son las absorbancias de las soluciones obtenidas a partir de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, respectivamente.

HIDROCORTISONA, VALERATO DE



$C_{26}H_{38}O_6$

PM: 446,6

57524-89-7

Definición - Valerato de Hidrocortisona es (11 β)-11,21-Dihidroxi-17-[(1-oxopentil)oxi]pregn-4-eno-3,20-diona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{26}H_{38}O_6$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Valerato de Hidrocortisona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre + 37° y + 43°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en dioxano.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm \times 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua y acetonitrilo (55:45). Filtrar y degasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución del estándar interno - Preparar una solución de benzoato de etilo en metanol de aproximadamente 2,0 mg por ml.

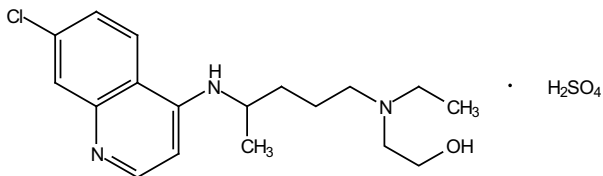
Preparación estándar - [NOTA: preparar inmediatamente antes de su uso]. Disolver una cantidad exactamente pesada de Valerato de Hidrocortisona SR-FA en metanol para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg por ml. Transferir 10 ml de esta solución y 10 ml de *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 50 ml. Completar a volumen con metanol y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 100 μ g de valerato de hidrocortisona por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Valerato de Hidrocortisona y transferir a un matraz aforado de 100 ml. Disolver y completar a volumen con metanol y mezclar. Transferir 5 ml de esta solución y 10 ml de *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 50 ml. Completar a volumen con metanol y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,8 para benzoato de etilo y 1,0 para valerato de hidrocortisona; la resolución *R* entre los picos de valerato de hidrocortisona y benzoato de etilo no debe ser menor de 3,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{26}H_{38}O_6$ en la porción de Valerato de Hidrocortisona en ensayo, relacionando las respuestas de los picos de valerato de hidrocortisona y del estándar interno en la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*.

HIDROXICLOROQUINA, SULFATO DE



$\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{ClN}_3\text{O} \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$ PM: 434,0 747-36-4

Definición - Sulfato de Hidroxicloroquina es Sulfato de (\pm)-2-[[4-[(7-cloro-4-quinolinil)amino]pentil]etilamino]etanol (1:1). Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{ClN}_3\text{O} \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o prácticamente blanco. Sus soluciones poseen un pH de aproximadamente 4,5. Fácilmente soluble en agua; prácticamente insoluble en alcohol, cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Sulfato de Hidroxicloroquina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción ultravioleta <470>.

Solvente: ácido clorhídrico diluido 1 en 100.

Concentración: 10 μg por ml.

B - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

C - Una solución de Sulfato de Hidroxicloroquina 1 en 100 debe responder a los ensayos para *Sulfato* <410>.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 2,0 % de su peso.

Impurezas comunes <510>

Solución muestra y Solución estándar: emplear una solución al 10 % de agua en metanol como solvente.

Fase móvil: alcohol, agua e hidróxido de amonio (80:16:4).

Revelador: 1.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Sulfato de Hidroxicloroquina, disolver en 5 ml de agua y diluir cuantitativamente y en etapas con ácido clorhídrico diluido 1 en 100 para obtener una solución de aproximadamente 10 μg por ml.

Preparación estándar - Proceder según se indica en *Preparación muestra* empleando Sulfato de Hidroxicloroquina SR-FA.

Procedimiento - Determinar concomitantemente las absorbancias de ambas soluciones en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorción, 343 nm, (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) empleando ácido clorhídrico diluido 1 en 100 como blanco. Calcular la cantidad de $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{ClN}_3\text{O} \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$ en la porción de Sulfato de Hidroxicloroquina en ensayo.

HIDROXIPROPIL METILCELULOSA

9004-65-3

Definición - Hidroxipropilmetilcelulosa es el Éter 2-hidroxipropilmetílico de la celulosa, es una mezcla de ésteres metílicos e hidroxipropílicos de la celulosa. Debe contener grupos metoxilos (-OCH₃) e hidroxipropoxilos (-OCH₂CHOHCH₃) dentro de las especificaciones de la tabla siguiente para los diferentes tipos de Hidroxipropilmetilcelulosa, calculado sobre la sustancia seca,

Tipo de sustitución	Metoxilos (%)		Hidroxipropoxilos (%)	
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
1.828	16,5	20,0	23,0	32,0
2.208	19,0	24,0	4,0	12,0
2.906	27,0	30,0	4,0	7,5
2.910	28,0	30,0	7,0	12,0

y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo o gránulos blancos, blanco-amarillentos o blanco-grisáceos. Higroscópico después de ser secado. Prácticamente insoluble en acetona, agua caliente, alcohol, éter y tolueno. Se disuelve en agua fría dando soluciones coloidales.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Distribuir uniformemente 1,0 g de Hidroxipropilmetilcelulosa sobre la superficie de 100 ml de agua en un vaso colocando un tapón suavemente si fuera necesario para garantizar una capa uniforme sobre la superficie. Dejar reposar durante 1 ó 2 minutos: el material en polvo se debe agregar sobre la superficie.

B - Distribuir uniformemente 1,0 g de Hidroxipropilmetilcelulosa en 100 ml de agua hirviendo, mezclar empleando un agitador magnético con una barra de 25 mm de largo: se debe formar una poción gomosa y las partículas no se deben disolver. Dejar enfriar la poción gomosa a 5 °C y agitar empleando un agitador magnético: se debe formar una solución clara o ligeramente turbia con un espesor que depende de su grado de viscosidad.

C - A 0,2 ml de la solución obtenida en *Identificación B*, agregar 9 ml de ácido sulfúrico diluido

(9 en 10), agitar y calentar en un baño de agua durante exactamente 3 minutos. Inmediatamente enfriar en un baño de hielo, agregar cuidadosamente 0,6 ml de una solución preparada disolviendo 2 g de ninhidrina en 1 litro de una mezcla de butanol y ácido acético diluido (95:5). Agitar y dejar reposar a 25 °C: se debe desarrollar inmediatamente un color rojo que cambia a púrpura durante los siguientes 100 minutos.

D - Transferir entre 2 y 3 ml de la solución obtenida en *Identificación B* a un vidrio de reloj y dejar evaporar el agua: se debe formar una capa clara y continua.

E - Agregar exactamente 50 ml de la solución obtenida en *Identificación B* a 50 ml de agua, colocar un termómetro, agitar empleando un agitador magnético y comenzar a calentar a razón de 2 a 5 °C por minuto. Determinar la temperatura a la cual empieza a aumentar la turbidez: la temperatura de floculación debe ser mayor a 50 °C.

Determinación de la viscosidad <190>

Cuando en el rótulo se indica que la viscosidad es menor a 600 mPa.s.

Solución muestra - Pesar exactamente una porción de Hidroxipropilmetilcelulosa equivalente a 4,0 g de Hidroxipropilmetilcelulosa, calculada sobre la sustancia seca. Transferir a un recipiente de boca ancha, agregar agua caliente hasta obtener un peso total de 200 g. Tapar, agitar a 400 ± 50 rpm durante 10 ó 20 minutos hasta que las partículas estén completamente dispersas y humectadas. Raspar las paredes del recipiente con una espátula, si fuera necesario, para asegurar que no hay sustancia sin disolver y continuar la agitación en un baño de agua equilibrado a una temperatura por debajo de 10 °C durante 20 a 40 minutos. Ajustar el peso de la solución, si fuera necesario, a 200,0 g empleando agua fría. Centrifugar para eliminar burbujas de aire y remover con una espátula cualquier espuma presente.

Procedimiento - Determinar la viscosidad cinemática según se indica en *Determinación de la viscosidad mediante el Viscosímetro de Tubo Capilar*. Determinar la densidad (ver 180. *Determinación de la densidad relativa*). Calcular la viscosidad η por la fórmula siguiente:

$$\rho/v$$

en la cual ρ es la densidad y v es la viscosidad cinemática: la viscosidad no debe ser menor a 80 ni mayor a 120 % del valor declarado en el rótulo.

Cuando en el rótulo se indica que la viscosidad es igual o mayor a 600 mPa.s.

Solución muestra - Pesar exactamente una porción de Hidroxipropilmetilcelulosa, equivalente a

10,0 g de Hidroxipropilmetilcelulosa, calculada sobre la sustancia seca. Transferir a un recipiente de boca ancha, agregar agua caliente hasta obtener un peso total de 500 g. Tapar, agitar a 400 ± 50 rpm durante 10 ó 20 minutos hasta que las partículas estén completamente dispersas y humedecidas. Raspar las paredes del recipiente con una espátula, si fuera necesario, para asegurar que no hay sustancia sin disolver, y continuar la agitación en un baño de agua equilibrado a una temperatura por debajo de 10°C durante 20 a 40 minutos. Ajustar el peso de la solución, si fuera necesario, a 500,0 g empleando agua fría. Centrifugar para eliminar burbujas de aire y remover con una espátula cualquier espuma presente.

Procedimiento - Determinar la viscosidad de la solución empleando un viscosímetro rotatorio, Brookfield tipo IV o equivalente. Proceder según se indica en la siguiente tabla, según los valores de viscosidad declarados en el rótulo.

Viscosidad Declarada (mPa.s)	Nº de Rotor	rpm	Factor
600 – 1.399	3	60	20
1.400 – 3.499	3	12	100
3.500 – 9.499	4	60	100
9.500 – 99.499	4	6	1.000
99.500 o más	4	3	2.000

Dejar rotar el cilindro durante 2 minutos antes de realizar la medición y dejar reposar 2 minutos antes de la siguiente medición. Repetir la operación dos veces más y calcular el promedio de tres mediciones: la viscosidad no debe ser menor a 45 ni mayor a 140 % del valor declarado en el rótulo.

[NOTA: la densidad es 1,00 g por ml, por lo tanto no es necesario la determinación de la densidad durante cada medición en el caso de tenerla como dato confirmado.]

Determinación del pH <250>

Sumergir el papel indicador sobre una porción de solución empleada en el ensayo *Determinación de la viscosidad* a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ durante $5,0 \pm 0,5$ minutos: el pH debe estar comprendido entre 5,0 y 8,0.

Límite de metales pesados <590>

Proceder según se indica en *Método III*, excepto que los 2 ml de *Solución estándar de plomo (10 ppm)* se deben agregar al matraz con la mezcla de 8 ml de ácido sulfúrico y 10 ml de ácido nítrico al principio de la preparación. El límite es 0,002 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105°C durante 1 hora: no debe perder más de 5,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 1,5 % determinado a $600 \pm 50^\circ\text{C}$.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de conductividad térmica o de ionización a la llama de hidrógeno y una columna de 1,8 a 3 m \times 3 a 4 mm con una fase estacionaria constituida por tierra silícea de 125 a 150 μm de diámetro recubierta con polímero de metilsilicona entre 10 y 20 %. Mantener la columna a aproximadamente 100°C . Se debe emplear helio como gas transportador para el detector de conductividad térmica y helio o nitrógeno para el detector de ionización a la llama de hidrógeno.

Recipiente de reacción - Emplear un recipiente de 5 ml hermético, de 50 mm de altura, 20 mm de diámetro externo y 13 mm de diámetro interno en el cuello, equipado con un cierre tipo septo de goma de butilpolitetrafluoretileno, hermético, sellado por precinto de aluminio o algún otro sistema que provea adecuada hermeticidad.

Estufa - Emplear un módulo de calentamiento con una plancha de aluminio de forma cuadrada con aberturas de 20 mm de diámetro y 32 mm de profundidad como para que quepan los *Recipientes de reacción*, capaz de mezclar el contenido del recipiente empleando el agitador magnético provisto en el módulo de calentamiento o empleando un agitador recíproco a aproximadamente 100 veces por minuto.

Solución del estándar interno - *o*-xileno y *n*-octano (100:3).

Preparación estándar - Transferir entre 60 y 100 mg de ácido adípico, 2,0 ml de *Solución del estándar interno* y 2,0 ml de ácido iodhídrico al 57 %, a un *Recipiente de reacción*, tapar, sellar y pesar exactamente. Agregar entre 15 y 22 μl de ioduro de isopropilo a través del septo con una jeringa, pesar exactamente, agregar 45 μl de ioduro de metilo a través del septo con una jeringa y volver a pesar exactamente. Agitar el *Recipiente de reacción* y emplear la fase superior como *Preparación estándar*.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 65 mg de Hidroxipropilmetilcelulosa, transferir a un *Recipiente de reacción*, agregar entre 60 y 100 mg de ácido adípico, 2,0 ml de *Solución del estándar interno* y 2,0 ml de ácido iodhídrico al 57 %, tapar inmediatamente, sellar y pesar exactamente. Mezclar el contenido del *Recipiente de reacción* calentando en la *Estufa* a $130 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 60 minutos. [NOTA: si no se emplea agitación mecánica o magnética, agitar bien el *Recipiente de*

reacción a intervalos de 5 minutos durante los primeros 30 minutos del calentamiento]. Dejar enfriar y pesar nuevamente. Si la pérdida de peso es menor a 0,50 % del contenido, emplear la fase superior como *Preparación muestra*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: ajustar la velocidad de flujo del gas transportador de manera que el tiempo de retención del estándar interno sea aproximadamente 10 minutos. El ensayo solo es válido si los picos de yoduro de metilo, yoduro de isopropilo y del estándar interno se resuelven completamente y si el orden de elución de los picos es: yoduro de metilo, yoduro de isopropilo y el estándar interno.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (entre 1 y 2 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el porcentaje de grupos metoxilos en la porción de Hidroxipropilmetilcelulosa en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$21,864 \left(\frac{R_{Ma} P_{Ea}}{R_{Ea} P_M} \right)$$

en la cual es el peso en mg de la *Preparación muestra*, calculado sobre la sustancia seca, es el peso en mg de yoduro de metilo en la *Preparación estándar*; y y son las respuestas de los picos de yoduro de metilo, con respecto al estándar interno, obtenidos a partir de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, respectivamente.

Calcular el porcentaje de grupos hidroxipropoxilos en la porción de Hidroxipropilmetilcelulosa en ensayo, por la fórmula siguiente:

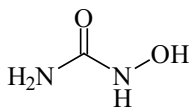
$$44,17 \left(\frac{R_{Mb} P_{Eb}}{R_{Eb} P_M} \right)$$

en la cual es el peso en mg de yoduro de isopropilo en la *Preparación estándar*, y y son las respuestas de los picos de yoduro de isopropilo, con respecto al estándar interno, obtenidos a partir de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, respectivamente.

ROTULADO

Indicar en el rótulo la viscosidad nominal en mPa.s y el tipo de sustitución.

HIDROXIUREA



CH₄N₂O₂

PM: 76,1

127-07-1

Definición - Hidroxiurea es Hidroxicarbamida. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de CH₄N₂O₂, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Es algo higroscópico, se descompone en presencia de humedad. Funde a más de 133 °C, con descomposición. Fácilmente soluble en agua y alcohol caliente.

Sustancia de referencia - Hidroxiurea SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto,. Proteger de la humedad.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,50 %.

Urea y sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Agitar volúmenes iguales de alcohol isobutílico y agua en una ampolla de decantación y dejar que las fases se separen. Emplear la fase inferior como fase estacionaria.

Fase móvil - Emplear la fase superior de la mezcla realizada en *Fase estacionaria*.

Solución reguladora de pH 6,5 - Mezclar 700 ml de fosfato dibásico de sodio 0,2 M con 300 ml de ácido cítrico 0,1 M.

Solución estándar - Preparar una solución de urea en agua de aproximadamente 0,1 mg por ml.

Solución muestra - Disolver 10 mg de Hidroxiurea en 1,0 ml de agua.

Revelador - Disolver 1,0 g de *p*-dimetilaminobenzaldehído en 50 ml de alcohol, agregar 2 ml de ácido clorhídrico y diluir a 100 ml con alcohol.

Procedimiento - Sumergir una tira de papel para cromatografía (Whatman N°1 o equivalente) en *Solución reguladora de pH 6,5*. Secar la tira de papel y aplicar sobre esta 100 µl de *Solución muestra* y 50 µl de *Solución estándar*. Colocar la tira en

una cámara cromatográfica para cromatografía descendente (ver 100. *Cromatografía*) que contenga *Fase estacionaria* en el fondo de la cámara y *Fase móvil* en la cubeta superior. Desarrollar durante 24 horas, retirar la tira de la cámara, secar al aire y desarrollar nuevamente durante 24 horas. Retirar la tira, secar al aire, pulverizar sobre esta con *Revelador* y calentar a 90 °C durante 1 a 2 minutos: a excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, no deben observarse más de dos manchas y las intensidades de dichas manchas no deben ser mayores que la de la mancha obtenida con la *Solución estándar* (0,5 %). Los valores de *R_f* relativos a la hidroxiurea, la mancha principal, deben ser 0,65 y 1,26 (urea).

Límite de metales pesados <590>

No más de 0,003 %.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 214 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 0,5 ml por minuto.

Solución A - Disolver 1,7 g de sulfato ácido de tetrabutilamonio y 1,74 g de fosfato dibásico de potasio anhidro en 1 litro de agua y ajustar a pH 5,0 con hidróxido de sodio 1 N o ácido fosfórico al 85 %.

Solución B - Metanol.

Fase móvil - *Solución A* y *Solución B* (8,5:1,5). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de resolución - Disolver cantidades exactamente pesadas de Hidroxiurea SR-FA y clorhidrato de hidroxilamina en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Fase móvil* para obtener una solución que contenga aproximadamente 0,4 mg de cada una por ml.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Hidroxiurea SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,4 mg por ml.

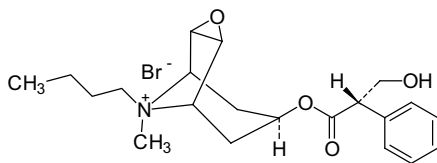
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Hidroxiurea y transferir a un

matraz aforado de 500 ml. Disolver y completar a volumen con *Fase móvil*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de hidroxilamina e hidroxiiurea no debe ser menor de 1,5; la eficiencia de la columna para el pico de hidroxiiurea no debe ser menor de 5.000 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 1,5. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}_2$ en la porción de Hidroxiiurea en ensayo.

HIOSCINA, BUTILBROMURO DE



$C_{21}H_{30}BrNO_4$ PM: 440,4 149-64-4

Sinonimia - Butilbromuro de Escopolamina.

Definición - Butilbromuro de Hioscina es el Bromuro de (1*R*,2*R*,4*S*,5*S*,7*S*,9*r*)-9-butil-7-[[*(2S)*-3-hidroxi-2-fenilpropanoil]oxi]-9-metil-3-oxa-9-azoniatriciclo[3.3.1.0^{2,4}]nonano. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{21}H_{30}BrNO_4$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en agua y en cloruro de metileno; moderadamente soluble en alcohol absoluto.

Sustancias de referencia - Butilbromuro de Hioscina SR-FA. *N*-Butilhioscina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*.

B - Una solución de Butilbromuro de Hioscina debe responder al ensayo para *Bromuro* <410>.

C - Preparar una solución de Butilbromuro de Hioscina de aproximadamente 50 mg por ml en agua libre de dióxido de carbono. A 5 ml de esta solución agregar 2 ml de solución de hidróxido de sodio al 8,5 %: no se debe formar precipitado.

D - A 1 mg de Butilbromuro de Hioscina, agregar 0,2 ml de ácido nítrico y evaporar hasta sequedad en un baño de agua. Disolver el residuo con 2 ml de acetona y agregar 0,1 ml de una solución de hidróxido de potasio de aproximadamente 3,0 % en metanol: se debe desarrollar color violeta.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: entre -18° y -20° , sobre la sustancia seca.

Solución muestra: 50 mg por ml, en agua libre de dióxido de carbono.

Determinación del pH <250>

Entre 5,5 y 6,5; determinado sobre una solución de aproximadamente 50 mg por ml en agua libre de dióxido de carbono.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %; determinado sobre 500 mg.

Pérdida por secado <680>

Secar entre 100 y 105 °C: no debe perder más de 2,5 % de su peso, determinado sobre 500 mg.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 210 nm y una columna de 12,5 cm × 4,0 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 4 μm de diámetro. Mantener la columna a 25 ± 1 °C. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Solución de fosfato pH 3,3 - Disolver 7,0 g de fosfato monobásico de potasio en 1 litro de agua y ajustar a pH 3,3 con ácido fosfórico 0,05 M.

Fase móvil - Disolver 5,8 g de laurilsulfato de sodio en una mezcla de 410 ml de acetonitrilo y 605 ml de *Solución de fosfato pH 3,3*. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Butilbromuro de Hioscina, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver con *Fase móvil* y completar a volumen con *Fase móvil*.

Solución estándar A - Diluir 1,0 ml de *Solución muestra* a 50,0 ml con *Fase móvil*. Diluir 5,0 ml de esta solución a 50,0 ml con *Fase móvil*.

Solución estándar B - Diluir 10,0 ml de *Solución estándar A* a 10,0 ml con *Fase móvil*.

Solución estándar C - Disolver 5,0 mg de *N*-Butilhioscina SR-FA en *Fase móvil*, agregar 1,0 ml de *Solución muestra* y diluir a 10,0 ml con *Fase móvil*. Diluir 5,0 ml de esta solución a 50,0 ml con *Fase móvil*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar C* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de butilhioscina y *N*-butilhioscina no debe ser menor de 1,5; el factor de asimetría para el pico de butilhioscina no debe ser mayor de 2,5.

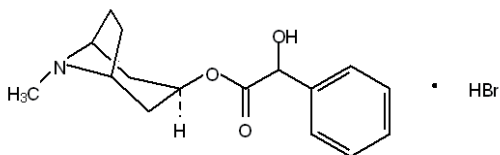
Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μl) de la *Solución muestra* y las *Soluciones estándar A, B y C*. Registrar los cromatogramas durante al menos 3,5 veces el tiempo de retención de butilhioscina y medir las respuestas de los todos los picos. El tiempo de retención del pico de butil-

hioscina debe ser aproximadamente 7,0 minutos. Los tiempo de retención relativos al pico de butilhioscina deben ser aproximadamente 0,1 para ácido *DL*-trópico, 0,36 para hioscina, 0,4 para metilhioscina, 0,7 para propilhioscina, 0,8 para *N*-butilhioscina, 0,9 para *pseudo* isómero de butilhioscina y 3,0 para *apo-N*-butilhioscina. Para el cálculo del contenido de ácido *DL*-trópico, emplear un factor de corrección *F* igual a 0,3 y para el cálculo del contenido de *apo-N*-butilhioscina, emplear un factor de corrección *F* igual a 0,6. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta del pico correspondiente a hioscina no debe ser mayor que la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar B* (0,1 %); las respuestas individuales de los picos correspondientes a ácido *DL*-trópico, metilhioscina, propilhioscina, *N*-butilhioscina, *pseudo* isómero de butilhioscina y *apo-N*-butilhioscina, no deben ser mayores, cada una de ellas, que la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (0,2 %); la respuesta de cualquier otra impureza individual no debe ser mayor que la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar B* (0,1 %); y la suma de las respuestas de todos los picos no debe ser mayor que dos veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (0,2 %). Ignorar la respuesta de cualquier pico con una respuesta menor a 0,5 veces la respuesta del pico principal obtenido con *Solución estándar B* (0,05 %). Ignorar el pico perteneciente al ion bromuro, el cual eluye cerca del frente del solvente.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 400 mg de Butilbromuro de Hioscina y disolver en agua. Titular con nitrato de plata 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de nitrato de plata 0,1 N equivale a 44,04 mg de $C_{21}H_{30}BrNO_4$.

HOMATROPINA, BROMHIDRATO DE



$C_{16}H_{21}NO_3 \cdot HBr$ PM: 356,3 51-56-9

Definición - Bromhidrato de Homatropina es Bromhidrato de 1 α H, 5 α H-tropan-3 α -ol mandelato. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_{16}H_{21}NO_3 \cdot HBr$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino o cristales blancos. Sensible a la luz. Fácilmente soluble en agua; moderadamente soluble en alcohol; poco soluble en cloroformo; insoluble en éter.

Sustancia de referencia - Bromhidrato de Homatropina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Debe responder a los ensayos para *Bromuro* <410>.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 214 y 217 °C, con descomposición.

Determinación del pH <250>

Entre 5,7 y 7,0; determinado sobre una solución 1 en 50.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 1,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

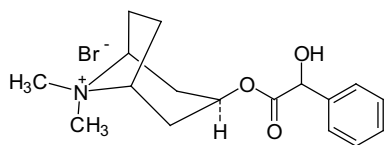
No más de 0,25 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 400 mg de Bromhidrato de Homatropina, disolver en 50,0 ml de agua y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un vaso de precipitados, agregar 5 ml de hidróxido de sodio 1 N y calentar casi a ebullición. Agregar 10 ml de ácido nítrico 1 N y luego agua

hasta obtener 50 ml. Enfriar en un baño de hielo. A una segunda porción de 10,0 ml de la solución de Bromhidrato de Homatropina, agregar 5 ml de ácido nítrico 1 N y luego agua hasta 50 ml. Enfriar en baño de hielo. Agregar 1 gota de nitrofenantrolina (SR) a cada solución, manteniendo las soluciones frías y titular con nitrato cérico amónico 0,05 N (SV) hasta la desaparición del color rosa. Cada ml de la diferencia de volúmenes de nitrato cérico amónico 0,05 N requerido equivale a 8,907 mg de $C_{16}H_{21}NO_3 \cdot HBr$.

HOMATROPINA, METILBROMURO



$C_{17}H_{24}BrNO_3$ PM: 370,3 80-49-9

Definición - Metilbromuro de Homatropina es el Bromuro de 3-(hidroxifenilacetil)oxi-8,8-dimetil-8-azoniabicyclo[3.2.1]octano. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_{17}H_{24}BrNO_3$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco. Se oscurece lentamente al exponerse a la luz.. Funde aproximadamente a 190 °C. Muy soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol; prácticamente insoluble en acetona y éter.

Sustancia de referencia - Metilbromuro de Homatropina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. [NOTA: si se observan diferencias en los espectros, disolver la muestra y la *Sustancia de referencia* en metanol, recristalizar cada solución mediante el agregado de dioxano y registrar nuevamente los espectros.]

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: alcohol.

Concentración: 1 mg por ml.

Las absorptividades a 258 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

C - El agregado de yoduro de potasio (SR) a una solución de Metilbromuro de Homatropina 1 en 50 debe producir un precipitado blanco o levemente amarillo. Soluciones de hidróxidos alcalinos o carbonatos no deben producir precipitado aun cuando la solución de Metilbromuro de Homatropina sea concentrada [NOTA: esta característica es diferencial con muchos otros alcaloides.]

D - El agregado de reineckato de amonio (SR) a una solución de Metilbromuro de Homatropina 1 en 50 debe producir un precipitado rojo.

E - Una solución de Metilbromuro de Homatropina 1 en 20 debe responder al ensayo para *Bromuro* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 6,5; determinado sobre una solución 1 en 100.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 0,25 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Homatropina, atropina y otros alcaloides solanáceos

Agregar unas gotas de hidróxido de amonio 6 N a 1,0 ml de solución de Metilbromuro de Homatropina 1 en 50, agregar 5 ml de cloroformo y agitar. Evaporar hasta sequedad la fase clorofórmica en un baño de vapor. Calentar el residuo con 1,5 ml de una solución preparada disolviendo 500 mg de cloruro mercuríco en 25 ml de una mezcla de alcohol y agua (5:3): no se debe producir coloración amarilla o roja.

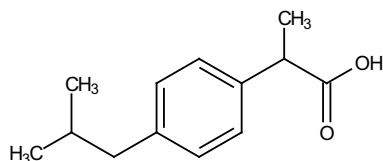
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 700 mg de Metilbromuro de Homatropina, disolver en una mezcla de 50 ml de ácido acético glacial y 10 ml de acetato mercuríco (SR). Agregar 1 gota de cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) hasta punto final verde-azul. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 37,03 mg de $C_{17}H_{24}BrNO_3$.

IBUPROFENO



$C_{13}H_{18}O_2$ PM: 206,3 15687-27-1

Definición - Ibuprofeno es Ácido (\pm) α -metil-4-(2-metilpropil)bencenoacético. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_{13}H_{18}O_2$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Muy soluble en acetona, alcohol, cloroformo y metanol; poco soluble en acetato de etilo; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Ibuprofeno SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*. [NOTA: no se debe secar la muestra ni la *Sustancia de referencia*.]

B - Absorción ultravioleta <470>

Concentración: 250 μ g por ml.

Solvente: hidróxido de sodio 0,1 N.

Las absorbividades a 264 y 273 nm, calculadas sobre la sustancia anhidra, no deben diferir en más de 3,0 %.

C - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* debe ser similar al obtenido con la *Preparación estándar*.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 1,0 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,5 %.

Límite de Metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Límite de 4-isobutilacetofenona

A partir de los cromatogramas de la *Preparación muestra* y la *Solución estándar de 4-isobutilacetofenona* obtenidos según se indica en *Valoración*, calcular el porcentaje de

4-isobutilacetofenona ($C_{12}H_{16}O$) en la porción de Ibuprofeno en ensayo, empleando las respuestas de los picos de 4-isobutilacetofenona relativas al estándar interno. No debe contener más de 0,1 %.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 214 nm y una columna de 15 cm \times 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μ m de diámetro. Mantener la columna a $30,0 \pm 0,2$ °C. El caudal debe ser aproximadamente 2 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, previamente ajustada a pH 2,5 con ácido fosfórico, y acetonitrilo (134:68). Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Preparar una solución de Ibuprofeno en acetonitrilo de aproximadamente 5 mg por ml.

Solución de resolución - Preparar una solución de Ibuprofeno y valerofenona en acetonitrilo de aproximadamente 5 mg de cada uno por ml.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,8 para valerofenona y 1,0 para ibuprofeno; la resolución *R* entre los picos de valerofenona e ibuprofeno no debe ser menor de 2,0.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 5 μ l de la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Ibuprofeno en ensayo, en relación a la suma de las respuestas de todos los picos. No debe contener más de 0,3 % de cualquier impureza individual y la suma de todas las impurezas no debe ser mayor de 1,0 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 4,0 g de ácido cloroacético en 400 ml de agua, ajustar a pH 3,0 con hidróxido de amonio y agregar 600 ml de acetonitrilo.

Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución del estándar interno - Preparar una solución de valerofenona en *Fase móvil* de aproximadamente 0,35 mg por ml.

Solución estándar de 4-isobutilacetofenona - Disolver cuantitativamente una cantidad exactamente pesada de 4-isobutilacetofenona en acetonitrilo para obtener una solución de aproximadamente 0,6 mg por ml. Transferir 2,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Solución del estándar interno* y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 0,012 mg de 4-isobutilacetofenona por ml.

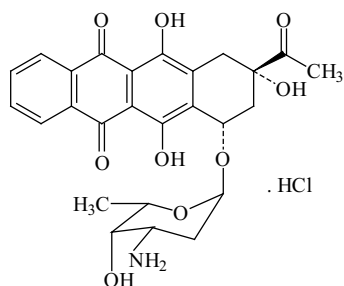
Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Ibuprofeno SR-FA en *Solución del estándar interno* para obtener una solución de aproximadamente 12 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 1.200 mg de Ibuprofeno, transferir a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Solución del estándar interno* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 1,4 para el estándar interno y 1,0 para ibuprofeno; la resolución *R* entre los picos de ibuprofeno y del estándar interno no debe ser menor de 2,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %. Cromatografiar la *Solución estándar de 4-Isobutilacetofenona* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 1,0 para valerofenona y 1,2 para 4-isobutilacetofenona; los factores de asimetría para los picos individuales no deben ser mayores de 2,5; la resolución *R* entre los picos de valerofenona y 4-isobutilacetofenona no debe ser menor de 2,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 5 µl) de la *Preparación estándar*, la *Preparación muestra* y la *Solución estándar de 4-isobutilacetofenona*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{13}H_{18}O_2$ en la porción de Ibuprofeno en ensayo.

IDARUBICINA, CLORHIDRATO DE



$C_{26}H_{27}NO_9 \cdot HCl$ PM: 534,0 57852-57-0

Definición - Clorhidrato de Idarubicina es Clorhidrato de (7*S*-*cis*)-9-acetil-7-[(3-amino-2,3,6-trideoxi- α -L-ribo-hexopiranosil)oxi]-7,8,9,10-tetrahydro-6,9,11-trihidroxi-5,12-naftacenodiona. Debe contener no menos de 960 μ g y no más de 1.030 μ g de $C_{26}H_{27}NO_9 \cdot HCl$ por mg, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo rojo anaranjado a rojo amarillado. Soluble en metanol; poco soluble en agua; insoluble en acetona y éter etílico.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Idarubicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

Precaución - Manipular el Clorhidrato de Idarubicina con sumo cuidado, evitando la inhalación de sus partículas y el contacto con la piel.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. En Fase sólida.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en Valoración. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la Preparación muestra se debe corresponder con el obtenido en la Preparación estándar.

Determinación del pH <250>

Entre 5,0 y 6,5; determinado sobre una solución de aproximadamente 5 mg por ml.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 5,0 %.

Cristalinidad

Colocar partículas de Clorhidrato de Idarubicina en aceite mineral, sobre un portaobjetos de vidrio.

Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas deben presentar birrefringencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio, excepto cuando se declara la forma amorfa, donde la mayoría de las partículas no presentan dichas propiedades.

Pureza cromatográfica

Empleando el cromatograma de la Preparación muestra obtenido en Valoración y omitiendo el pico debido al solvente, calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Clorhidrato de Idarubicina en ensayo, en relación a la suma de las respuestas de todos los picos. No debe contener más de 1,0 % de cualquier impureza individual y la suma de todas las impurezas no debe ser mayor de 3,0 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por trimetilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, acetonitrilo, metanol y ácido fosfórico (540:290:170:2). Disolver 1,0 g de laurilsulfato de sodio en 1 litro de esta mezcla y ajustar a pH 3,6 \pm 0,1 con hidróxido de sodio 2 N. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver Aptitud del sistema en 100. Cromatografía).

Diluyente - Proceder según se indica en Fase móvil, excepto que debe omitirse el agregado de laurilsulfato de sodio.

Solución de resolución - Preparar una solución acuosa que contenga 1 mg de clorhidrato de idarubicina por ml. Transferir 2,0 ml de esta solución a un tubo de ensayo y agregar 20 μ l de ácido clorhídrico. Calentar en un baño de aceite a 95 °C durante 8 minutos. Mezclar 1,0 ml de esta solución con 9 ml de Diluyente. La solución así preparada contiene una mezcla de 4-demetoxidaunorubicinona e idarubicina.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Idarubicina SR-FA en Diluyente para obtener una solución de aproximadamente 500 μ g por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Clorhidrato de Idarubicina y transferir a un matraz aforado de 100 ml. Disolver y completar a volumen con Diluyente y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. Cromatografía) - Cromatografiar la Solución de resolución y registrar las respuestas de los picos según se indica en Procedimiento: los tiempos de retención relativos de-

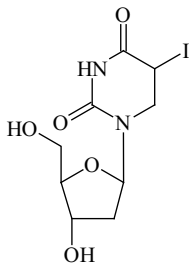
ben ser aproximadamente 0,5 para 4-demetoxidaunorubicinona y 1,0 para idarubicina; la resolución R entre los picos de 4-demetoxidaunorubicinona e idarubicina no debe ser menor de 9,5. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de capacidad k para el pico de idarubicina no debe ser menor a 10 ni mayor a 20; la eficiencia de la columna para el pico de idarubicina no debe ser menor de 3.000 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser menor de 0,85 ni mayor de 1,2; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{26}H_{27}NO_9 \cdot HCl$ en la porción de Clorhidrato de Idarubicina en ensayo.

ROTULADO

Indicar en el rótulo cuando Clorhidrato de Idarubicina es amorfo.

IDOXURIDINA



$C_9H_{11}IN_2O_5$ PM: 354,1 54-42-2

Definición - Idoxuridina es 2'-Desoxi-5-iodouridina. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_9H_{11}IN_2O_5$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco; prácticamente inodoro. Poco soluble en agua y alcohol; prácticamente insoluble en cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Idoxuridina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*.

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: solución reguladora de pH 12,0, preparada disolviendo 7,46 g de cloruro de potasio y 24 ml de hidróxido de sodio 1 N en 2 litros de agua.

Concentración: 35 μ g por ml.

Las absorbividades a 279 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 2,0 %.

Pérdida por secado <680>

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Idoxuridina y secar al vacío a 60 °C durante 2 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Alcohol isopropílico, cloroformo y amoníaco concentrado (SR) (50:40:10).

Diluyente - Amoníaco concentrado (SR) y metanol (1:5).

Solución muestra - Disolver 200 mg de Idoxuridina en *Diluyente* y diluir a 5 ml con el mismo solvente.

Solución estándar A - Disolver 20 mg de 5-iodouracilo, 20 mg de 2'-desoxiuridina y 20 mg de 5-bromo-2'-desoxiuridina en *Diluyente* y diluir a 100 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 200 mg de Idoxuridina SR-FA en 5 ml de *Solución estándar A*.

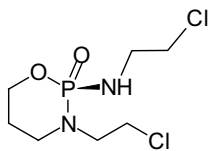
Solución estándar C - Diluir 1 ml de la *Solución muestra* a 10 ml con *Diluyente* y mezclar. Diluir 1 ml de esta solución a 20 ml con *Diluyente*.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 μ l de la *Solución muestra*, 5 μ l de la *Solución estándar A*, 5 μ l de la *Solución estándar B* y 5 μ l de la *Solución estándar C*. Desarrollar los cromatogramas dos veces consecutivas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Secar la placa con una corriente de aire frío luego de cada desarrollo y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm: ninguna mancha correspondiente a 5-iodouracilo, 2'-desoxiuridina o 5-bromo-2'-desoxiuridina en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, debe ser más intensa que las manchas correspondientes obtenidas con la *Solución estándar A* (0,5 %); a excepción de la mancha principal o las correspondientes a 5-iodouracilo, 2'-desoxiuridina y 5-bromo-2'-desoxiuridina, ninguna mancha debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar C* (0,5 %). El ensayo sólo es válido si el cromatograma obtenido con la *Solución estándar B* presenta cuatro manchas claramente diferenciadas.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Idoxuridina y disolver en 20 ml de dimetilformamida previamente neutralizada con metóxido de sodio 0,1 N en tolueno (SV), empleando una solución de 300 mg de azul de timol en 100 ml de metanol como indicador. Titular con metóxido de sodio 0,1 N en tolueno (SV) hasta punto final azul, evitando la absorción de dióxido de carbono de la atmósfera. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de metóxido de sodio 0,1 N equivale a 35,41 mg de $C_9H_{11}IN_2O_5$.

IFOSFAMIDA



y enantiómero

$C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$ PM: 261,1 3778-73-2

Definición - Ifosfamida es 2-Óxido de 3-(2-cloroetil)-[(2-cloroetil)amino]tetrahidro-2H-1,3,2-oxazafosforina. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco. Higroscópico. Funde aproximadamente a 40 °C. Muy soluble en acetato de etilo, alcohol, cloruro de metileno, isopropanol y metanol; fácilmente soluble en agua; muy poco soluble en hexano.

Sustancia de referencia - Ifosfamida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto. Almacenar a temperatura menor a 25 °C.

Precaución - Manipular Ifosfamida con sumo cuidado, dado que es un potente citotóxico, con sospechada acción cancerígena.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. En fase sólida.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en Valoración. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la Preparación muestra se debe corresponder con el obtenido en la Preparación estándar.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre $-0,10^\circ$ y $+0,10^\circ$.

Determinación del pH <250>

Entre 4,0 y 7,0; determinado sobre una solución 1 en 10.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,3 %.

Límite de cloruro

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 118,7 mg de cloruro de sodio, transferir a un matraz aforado de 200 ml, disolver con agua, com-

pletar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Esta solución contiene 360 ppm de cloruro.

Procedimiento - Transferir 10,0 ml de Solución estándar a un vaso de precipitados y agregar 90 ml de agua y 10 ml de ácido acético. Titular con nitrato de plata 0,01 N [NOTA: preparar la solución de nitrato de plata en el día de su uso], determinando el punto final potenciométricamente empleando un sistema de electrodos de plata-cloruro de plata. Registrar el volumen V_1 de nitrato de plata 0,01 N consumido. Pesar exactamente alrededor de 2,0 g de Ifosfamida, transferir a un vaso de precipitados y agregar 90 ml de agua y 10 ml de ácido acético. Agregar 10,0 ml de Solución estándar y, si fuera necesario, agitar por rotación hasta disolución completa. Titular con nitrato de plata 0,01 N del mismo modo que se indicó anteriormente y registrar el volumen V_2 de nitrato de plata 0,01 N consumido. Calcular la diferencia de volúmenes de nitrato de plata 0,01 N consumido entre las dos determinaciones $\Delta V = V_1 - V_2$; la diferencia de volúmenes no debe ser mayor de 1,0 ml (0,018 %).

Fósforo insoluble en cloroformo

Solución de molibdato de amonio - [NOTA: preparar esta solución en el día de su uso]. Disolver 25 g de molibdato de amonio en 300 ml de agua (Solución A). Agregar cuidadosamente 75 ml de ácido sulfúrico a 100 ml de agua, enfriar a temperatura ambiente y diluir con agua a 200 ml (Solución B). Mezclar la Solución A y la Solución B para obtener la Solución de molibdato de amonio.

Solución de hidroquinona - Disolver 0,5 g de hidroxiquinona en 100 ml de agua y agregar una gota de ácido sulfúrico concentrado [NOTA: si esta solución se oscurece, desecharla].

Solución de sulfito de sodio - [NOTA: preparar esta solución en el día de su uso]. Preparar una solución de sulfito de sodio en agua de aproximadamente 200 mg por ml.

Solución madre de fósforo - Pesar exactamente alrededor de 0,1824 g de fosfato diácido de potasio, transferir a un matraz aforado de 1 litro, disolver, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución de fósforo - [NOTA: preparar esta solución en el día de su uso]. Transferir 10,0 ml de Solución madre de fósforo a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución estándar de fósforo - Transferir 10,0 ml de Solución de fósforo a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Ifosfamida, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en 50 ml de agua, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Trans-

ferir 10 ml de esta solución a una ampolla de decantación y agregar 5 ml de agua. Agregar 15 ml de cloroformo, agitar vigorosamente durante 30 segundos, dejar separar las fases y descartar la fase inferior clorofórmica. Repetir esta operación cuatro veces más, cada vez con 15 ml de cloroformo y desechando siempre la fase clorofórmica luego de cada extracción. Transferir la fase acuosa a un erlenmeyer, lavar la ampolla de decantación con dos porciones de 5 ml de agua cada una y recolectar todos los lavados acuosos en el mismo erlenmeyer. Agregar 3 ml de ácido sulfúrico y calentar bajo campana hasta la aparición de humos blancos. Retirar el erlenmeyer del calor y agitar suavemente. Agregar 0,6 ml de peróxido de hidrógeno y calentar nuevamente hasta la aparición de humos blancos. [NOTA: si la solución no resultara incolora, repetir el agregado de peróxido de hidrógeno y el calentamiento, hasta que desaparezca todo el color]. Enfriar a temperatura ambiente, agregar 25 ml de agua y cuidadosamente agregar 10 ml de solución de hidróxido de amonio. Enfriar a temperatura ambiente, agregar 2 gotas de fenoltaleína (SR) y ácido clorhídrico, gota a gota, hasta la desaparición del color rosado. Transferir el contenido del erlenmeyer a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución blanco - Transferir 3 ml de ácido sulfúrico a un erlenmeyer, agregar 0,6 ml de peróxido de hidrógeno y proceder según se indica para *Solución muestra*, comenzando donde dice "calentar nuevamente hasta la aparición de humos blancos...".

Procedimiento - Transferir 15,0 ml de *Solución muestra*, 15,0 ml de *Solución estándar de fósforo* y 15,0 ml de *Solución blanco*, a sendos matraces aforados de 25 ml. Agregar a cada uno de ellos 2,5 ml de *Solución de molibdato de amonio*, agitar suavemente por rotación y dejar reposar durante 30 segundos aproximadamente. Agregar rápidamente a cada uno de ellos y en el siguiente orden: 2,5 ml de *Solución de hidroquinona* y 2,5 ml de *Solución de sulfato de sodio*. Completar a volumen con agua, mezclar y dejar reposar durante 30 minutos. Determinar las absorbancias de las soluciones obtenidas a partir de la *Solución muestra* y la *Solución estándar de fósforo*, en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 730 nm, empleando la *Solución blanco* como blanco. Calcular el porcentaje de fósforo insoluble en cloroformo, en la porción de Ifosfamida en ensayo. No debe contener más de 0,0415 %.

Límite de clorhidrato de 2-cloroetilamina

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de 1,8 m × 2,0 mm con fase estacionaria líquida constituida por compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular (aproximadamente 15.000) con ligando diepóxido, al 10 % que contenga 2 % de hidróxido de potasio sobre un soporte formado por tierra silícea para cromatografía de gases que ha sido calcinada a 900 °C mezclando diatomea con Na₂CO₃ [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido y luego con agua hasta neutralidad, pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanol superficiales] de malla de 80 a 100. Mantener el inyector, el horno y el detector aproximadamente a 200, 140 y 300 °C, respectivamente. Emplear nitrógeno como gas transportador con un caudal de aproximadamente 25 ml por minuto.

Solución estándar - Preparar una solución de clorhidrato de 2-cloroetilamina en *N,N*-dimetilacetamida, de aproximadamente 0,025 mg por ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Ifosfamida, transferir a un matraz aforado de 10,0 ml, disolver en *N,N*-dimetilacetamida, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar hasta disolución completa.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 1,0 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos correspondientes a clorhidrato de 2-cloroetilamina. Calcular el contenido en porcentaje de clorhidrato de 2-cloroetilamina en la porción de Ifosfamida en ensayo. No debe contener más de 0,25 %.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que Ifosfamida es estéril, debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que Ifosfamida es estéril, no debe contener más de 0,125 Unidades de Endotoxina por mg de ifosfamida.

Límite de metales pesados <590>

Método I. No más de 0,002 %.

VALORACIÓN

[NOTA: preparar concomitantemente la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* en el día de su uso].

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 195 nm y una columna de 30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unidos a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Agua y acetonitrilo (70:30). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución del estándar interno - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de *Etilparabeno*, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver con 25 ml de metanol, completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 15 mg de Ifosfamida SR-FA, transferir a un matraz aforado de 25 ml, agregar 1,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 150 mg de Ifosfamida, transferir a un matraz aforado de 250 ml, agregar 10,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con agua y mezclar.

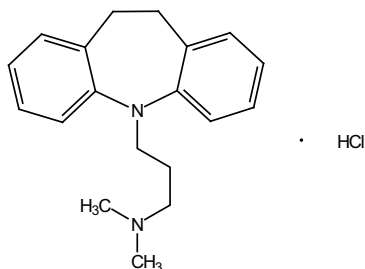
Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de Ifosfamida y etilparabeno no debe ser menor de 6,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 25 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad en mg de $C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$ en la porción de Ifosfamida ensayo.

ROTULADO

Cuando Ifosfamida esté destinada a la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral, indicar en el rótulo que es estéril y libre de endotoxinas bacterianas.

IMIPRAMINA, CLORHIDRATO DE



$C_{19}H_{24}N_2 \cdot HCl$ PM: 316,9 113-52-0

Definición - Clorhidrato de Imipramina es Monoclorhidrato de 5-3-(dimetilaminopropil)-10,11-dihidro-5H-dibenz[b,f]azepina. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{19}H_{24}N_2 \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o ligeramente amarillo. Fácilmente soluble en agua y alcohol; insoluble en éter.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Imipramina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: ácido clorhídrico 0,1 N.

Concentración: 20 μ g por ml.

Las absorvidades a 250 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 170 y 174 °C.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromato-*

grafía) recubierta con gel de sílice para cromatografía de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo, ácido acético glacial, agua y ácido clorhídrico (55:35:5:5).

Solución muestra - Disolver 250 mg de Clorhidrato de Imipramina en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente. [NOTA: preparar en el momento de su uso.]

Solución estándar A - Diluir 1,0 ml de la *Solución muestra* a 10 ml con metanol. Diluir 1,0 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 5 mg de iminodibencilo en metanol y diluir a 100 ml con el mismo solvente. [NOTA: preparar en el momento de su uso.]

Revelador - Preparar una solución de dicromato de potasio de aproximadamente 5 g por litro en una mezcla de agua y ácido sulfúrico (4:1).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de las *Soluciones estándar A* y *B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire durante 5 minutos. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y examinar de inmediato. El cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe presentar una mancha principal de color azul. La mancha correspondiente a iminodibencilo en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar B* (0,2 %); y a excepción de la mancha principal y la mancha correspondiente a iminodibencilo en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ninguna mancha debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar A* (0,2 %).

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Clorhidrato de Imipramina, disolver en 50 ml de alcohol y agregar 5 ml ácido clorhídrico 0,01 N. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Determinar el volumen de hidróxido de sodio 0,1 N agregado entre los dos puntos de inflexión. Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 31,69 mg de $C_{19}H_{24}N_2 \cdot HCl$.

IODO

I₂ PM: 253,8 7553-56-2

Definición - Iodo debe contener no menos de 99,8 por ciento y no más de 100,5 por ciento de I y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Placas o granulos de color gris-violáceo con brillo metálico. Fácilmente soluble en cloroformo, disulfuro de carbono, éter y tetracloruro de carbono; soluble en alcohol y en soluciones de ioduros; moderadamente soluble en glicerina; muy poco soluble en agua.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Las soluciones de Iodo 1 en 1.000 en cloroformo y en disulfuro de carbono deben ser de color violeta.

B - A una solución de Iodo saturada, agregar almidón-ioduro de potasio (SR): se debe producir un color azul. Cuando la mezcla se calienta a ebullición, el color debe desaparecer pero reaparece cuando se enfría, a menos que se haya sometido a ebullición prolongada.

Límite de residuo no volátil

Transferir 5,0 g de Iodo a una cápsula de porcelana previamente pesada, calentar en un baño de vapor hasta que se haya eliminado el iodo y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo debe corresponder a no más de 0,05 %.

Cloruros y bromuros

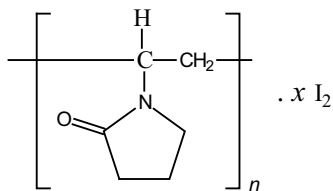
Triturar 250 mg de Iodo finamente pulverizado con 10 ml de agua y filtrar la solución. Agregar gota a gota ácido sulfuroso (libre de cloruro), previamente diluido con varios volúmenes de agua hasta que el color del iodo desaparezca. Agregar 5 ml de hidróxido de amonio 6 N, seguidos de 5 ml de nitrato de plata (SR) en pequeñas porciones. Filtrar y acidificar el filtrado con ácido nítrico: el líquido resultante no debe presentar más turbidez que el de un control realizado con las mismas cantidades de los mismos reactivos a los cuales se les ha agregado 0,10 ml de ácido clorhídrico 0,020 N, omitiéndose el ácido sulfuroso (0,028 % como cloruro).

VALORACIÓN

Transferir 500 mg de Iodo pulverizado a un erlenmeyer, previamente pesado, con tapón de vidrio. Insertar el tapón, pesar exactamente, y agregar 1 g

de ioduro de potasio disuelto en 5 ml de agua. Diluir a aproximadamente 50 ml con agua, agregar 1 ml de ácido clorhídrico 3 N y titular con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 12,69 mg de I.

iodo Povidona



$(C_6H_9NO)_n \cdot xI_2$

25655-41-8

Definición - Iodo Povidona es un homopolímero de 1-Etenil-2-pirrolidinona, compuesto con iodo. Es un complejo de Iodo con Povidona. Debe contener no menos de 9,0 por ciento y no más de 12,0 por ciento de iodo disponible (I_2), calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo amorfo de color marrón amarillento a marrón rojizo, con un débil olor característico. Sus soluciones son ácidas frente al papel de tornasol. Soluble en agua y alcohol; prácticamente insoluble en acetona, cloroformo, éter, éter de petróleo y tetracloruro de carbono.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. Proceder según se indica en *Identificación por medio de espectros de referencia*.

B - Agregar 1 gota de una solución de Iodo Povidona 1 en 10 a una mezcla de 1 ml de almidón (SR) y 9 ml de agua: se debe producir un color azul profundo.

Determinación del pH <250>

Entre 1,5 y 5,0, determinado a partir de una solución preparada disolviendo 1 g de Iodo Povidona en 10 ml de agua libre de dióxido de carbono.

Pérdida por secado <680>

Secar 500 mg de Iodo Povidona entre 100 y 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 8,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

Inapreciable, determinado sobre 2 g.

Ioduro

Determinación de la cantidad total de iodo - Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Iodo Povidona, transferir a un erlenmeyer de 250 ml y disolver con 100 ml de agua. Agregar bisulfito de sodio (SR) hasta que el color del iodo haya desapa-

recido. Agregar 25,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV) y 10 ml de ácido nítrico y mezclar. Titular el nitrato de plata en exceso con tiocianato de amonio 0,1 N (SV), empleando sulfato férrico amónico (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver *Titulaciones residuales* en 780. *Volumetría*). Cada ml de nitrato de plata 0,1 N equivale a 12,69 mg de I. Del porcentaje total de iodo, calculado sobre la sustancia seca, restar el porcentaje de iodo disponible (ver *Valoración de iodo disponible*) para obtener el porcentaje de ioduro. Debe contener no más de 6,6 %, calculado sobre la sustancia seca.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

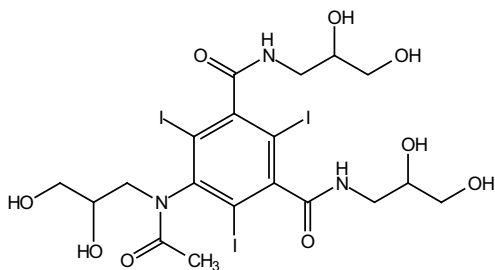
Determinación de nitrógeno <200>

Debe contener no menos de 9,5 % y no más de 11,5 % de N, calculado sobre la sustancia seca.

VALORACIÓN DE IODO DISPONIBLE

Pesar exactamente alrededor de 5 g de Iodo Povidona, transferir a un vaso de precipitados de 400 ml y agregar 200 ml de agua. Cubrir el vaso de precipitados y agitar mecánicamente a temperatura ambiente durante no más de 1 hora para disolver tan completamente como sea posible. Titular de inmediato con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregar 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada ml de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 12,69 mg de I.

IOHEXOL



$C_{19}H_{26}I_3N_3O_9$ PM: 821,1 66108-95-0

Definición - Iohexol es 5-[Acetil(2,3-dihidroxi-propil)-amino]-*N,N'*-bis(2,3-dihidroxi-propil)-2,4,6-triiodo-1,3-bencenodicarboxamida. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{19}H_{26}I_3N_3O_9$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco, higroscópico e inodoro. Muy soluble en agua y metanol; prácticamente insoluble en clorofórmico y éter.

Sustancias de referencia - Iohexol SR-FA. Impureza A de Iohexol SR-FA: 5-(acetilamino)-*N,N'*-bis(2,3-dihidroxi-propil)-2,4,6-triiodo-1,3-bencenodicarboxamida. Impureza B de Iohexol SR-FA: 5-amino-*N,N'*-bis(2,3-dihidroxi-propil)-2,4,6-triiodo-1,3-bencenodicarboxamida. Impureza C de Iohexol SR-FA: *N,N'*-bis(2,3-dihidroxi-propil)-5-nitro-1,3-bencenodicarboxamida.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: agua.

Concentración: 1 en 100.000.

C - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Alcohol *n*-butílico, agua y ácido acético glacial (50:25:11).

Solución estándar - Disolver una cantidad de Iohexol SR-FA en metanol para obtener una solución de aproximadamente 10 mg por ml.

Solución muestra - Disolver una cantidad de Iohexol en metanol para obtener una solución de aproximadamente 10 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente, dejar secar al aire y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm: en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se deben observar dos manchas (isómeros *endo* y *exo*) cada una de ellas similar en tamaño e intensidad a la mancha principal correspondiente y al mismo valor de R_f en la *Solución estándar*. La mancha con el menor valor de R_f corresponde al isómero *endo*.

D - Calentar 500 mg de Iohexol en un crisol: se deben producir vapores de color violeta.

Transparencia de la solución

Pesar exactamente alrededor de 16,18 g de Iohexol, transferir a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Filtrar a través de un filtro de 0,22 μ m: la absorbancia de la solución determinada en celdas de 1 cm, a 400, 420 y 450 nm, con un espectrofotómetro y empleando agua como blanco, no debe ser mayor de 0,180; 0,030 y 0,015, respectivamente.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -0,5° y +0,5°.

Solución muestra: 50 mg por ml, en agua.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 4,0 %.

Límite de metales pesados <590>

Método I. No más de 0,002 %.

Aminas aromáticas libres

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Iohexol, transferir a un matraz aforado de 50 ml, agregar 15 ml de agua y mezclar para disolver.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Impureza B de Iohexol SR-FA en agua para obtener una solución de aproximadamente 10 μ g por ml. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml y agregar 5 ml de agua.

Blanco - Transferir 15 ml de agua a un matraz aforado de 50 ml.

Procedimiento - Colocar los matraces que contienen la *Solución muestra*, la *Solución estándar* y el *Blanco* en un baño de hielo y enfriar durante

5 minutos. [NOTA: al realizar los pasos siguientes, mantener los matraces en el baño de hielo el mayor tiempo posible hasta que se hayan agregado todos los reactivos]. Proceder con cada matraz del siguiente modo: agregar 3,0 ml de ácido clorhídrico 5 N y agitar por rotación. Agregar 2,0 ml de solución de nitrito de sodio 1 en 50, mezclar y dejar reposar durante 4 minutos. Luego agregar 2,0 ml de solución de ácido sulfámico 1 en 25, agitar y dejar reposar durante 1 minuto. [Precaución - Se produce una presión considerable]. Retirar los matraces del baño de hielo y agregar a cada uno 2,0 ml de una solución 1 en 1.000, recientemente preparada, de diclorhidrato *N*-(1-naftil) etilendiamina en propilenglicol diluido (7 en 10) y mezclar. Completar a volumen con agua, mezclar y dejar reposar durante 5 minutos. Determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, en celdas de 5 cm a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 495 nm, con un espectrofotómetro, contra el *Blanco*. La absorbancia de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la de la *Solución estándar* (0,05 %).

Iodo libre

Pesar exactamente alrededor de 2,1 g de Iohexol, transferir a un tubo de centrifuga de 50 ml provisto de un tapón, agregar 20 ml de agua y agitar vigorosamente para disolver. [NOTA: se puede calentar suavemente la solución para ayudar a disolver pero se debe enfriar a temperatura ambiente antes de proceder]. Agregar 5 ml de tolueno y 5 ml de ácido sulfúrico 2 N, agitar y centrifugar a alta velocidad durante 15 minutos: la fase orgánica no debe presentar color rojo o rosado.

Ioduro libre

Pesar exactamente alrededor de 5,0 g de Iohexol, transferir a un recipiente apropiado, agregar 20 ml de agua y titular con nitrato de plata 0,001 N (SV), empleando un electrodo de plata combinado con un electrodo de referencia apropiado, determinando el punto final potenciométricamente (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de nitrato de plata 0,001 N equivale a 126,9 µg de iodo: no debe contener más de 0,001 %.

Compuestos iónicos

[NOTA: lavar todo el material de vidrio cinco veces con agua destilada.] Medir la resistencia específica R_{esp} a 20 °C, de una solución acuosa 1 en 50, empleando un conductímetro apropiado (ver 70. *Conductividad*). Calcular la conductividad específica κ , por la fórmula siguiente:

$$(1/R_{esp})10^6$$

La conductividad específica de la solución no debe ser mayor que la de una solución de cloruro de sodio 0,0002 % (0,01 % de compuestos iónicos).

Límite de metanol, alcohol isopropílico y metoxietanol

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de sílice fundida de 30 m × 0,53 mm recubierta con una película de 3 µm de espesor de 94 % dimetilpolisiloxano y 6 % cianopropilfenil polisiloxano. Equilibrar la columna a 40 °C durante 5 minutos, luego aumentar a razón de 10 °C por minuto hasta 100 °C y mantener a esta temperatura durante 1 minuto. Mantener el inyector y el detector a 140 y 250 °C, respectivamente. Se debe emplear helio como gas transportador; el caudal debe ser aproximadamente 14 ml por minuto.

Solución del estándar interno - Preparar una solución de alcohol butílico secundario en agua de aproximadamente 0,05 mg por ml.

Solución estándar A - Pesar exactamente alrededor de 0,6 g de metanol, transferir a un matraz aforado de 1.000 ml, agregar 100 ml de agua y mezclar. Pesar exactamente alrededor de 0,6 g de alcohol isopropílico, diluir con 100 ml de agua, agregar a la solución anterior y mezclar. Pesar exactamente alrededor de 0,6 g de metoxietanol, diluir con 100 ml de agua, agregar a la solución anterior, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución estándar B - Transferir 10 ml de la *Solución estándar A* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución estándar C - Transferir 5 ml de la *Solución estándar A* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución estándar D - Transferir 10 ml de la *Solución estándar A* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución estándar E - Transferir 10 ml de *Solución estándar D* y 10 ml de *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 6 ml de esta solución a un recipiente con tapa y sellar. Calentar el recipiente sellado a 95 °C durante 15 minutos.

Solución muestra A - Pesar exactamente alrededor de 6,25 g de Iohexol, transferir a un matraz aforado de 25 ml. Agregar 5 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución muestra B - Transferir 5 ml de la *Solución muestra A* y 1 ml de agua a un recipiente con

tapa y sellar. Calentar el recipiente sellado a 95 °C durante 15 minutos.

Solución muestra C - Transferir 5 ml de *Solución muestra A* y 1 ml de *Solución estándar B* a un recipiente con tapa y sellar. Calentar el recipiente sellado a 95 °C durante 15 minutos.

Solución muestra D - Transferir 5 ml de *Solución muestra A* y 1 ml de *Solución estándar C* a un recipiente con tapa y sellar. Calentar el recipiente sellado a 95 °C durante 15 minutos.

Solución muestra E - Transferir 5 ml de *Solución muestra A* y 1 ml de *Solución estándar D* a un recipiente con tapa y sellar. Calentar el recipiente sellado a 95 °C durante 15 minutos.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar E* y registrar las respuestas de los picos según indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,3 para metanol, 0,5 para alcohol isopropílico, 1,0 para alcohol butílico secundario y 1,3 para metoxietanol; la resolución *R* entre los picos de metanol y alcohol isopropílico no debe ser menor de 2,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 5 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo mediante un inyector de espacio libre superior, volúmenes iguales (aproximadamente 2 ml) de las *Soluciones muestra B, C, D, E* y la *Solución estándar E*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la relación entre la respuesta del pico de metanol, alcohol isopropílico y metoxietanol, según corresponda, y el estándar interno. Graficar los cocientes en función de las cantidades agregadas por g de Iohexol. Extrapolar en el gráfico hasta interceptar con el eje de concentración. La distancia entre este punto y el origen de coordenadas representa la concentración en mg por g de metanol, alcohol isopropílico o metoxietanol en la porción de Iohexol en ensayo. No debe contener más de 0,005 % de metanol y alcohol isopropílico y no más de 0,002 % de metoxietanol.

Límite de 3-cloro-1,2-propanodiol

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de sílice fundida de 25 m × 0,33 mm recubierta con una película de 1 µm de polimetilfenilsiloxano. Mantener la columna a 80 °C durante 2 minutos, luego aumentar a razón de 15 °C por minuto hasta alcanzar 170 °C y mantener a esta temperatura durante 2 minutos. Mantener el inyector y el detector a 230 y 250 °C, respectivamente. Se debe emplear helio como gas

transportador con un caudal de aproximadamente 1 ml por minuto.

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 500 mg de 3-cloro-1,2-propanodiol y disolver en 100 ml de acetato de metilo. Diluir 1 ml de esta solución a 100 ml con acetato de metilo.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Iohexol y disolver en 2 ml de agua. Extraer con cuatro porciones de 2 ml de acetato de metilo y combinar los extractos. Secar los extractos combinados con sulfato de sodio anhidro, filtrar y concentrar hasta un volumen de 2 ml.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el tiempo de retención de 3-cloro-1,2-propanodiol debe ser aproximadamente 8 minutos.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo con un inyector sin flujo dividido, volúmenes iguales (aproximadamente 2 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular la cantidad en mg de 3-cloro-1,2-propanodiol en la porción de Iohexol en ensayo: no debe contener más de 100 ppm.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1 ml por minuto. Programar el cromatógrafo con mezclas variables de *Solución A* y *Solución B* aumentando el porcentaje de *Solución A* en la *Fase móvil* de 1 a 13 % a razón de 0,2 % por minuto.

Solución A - Acetonitrilo.

Solución B - Agua.

Fase móvil - Emplear mezclas variables de *Solución A* y *Solución B* según se indica en *Sistema cromatográfico*.

Solución de aptitud del sistema - Disolver una cantidad exactamente pesada de Iohexol, Impureza A de Iohexol SR-FA y de Impureza C de Iohexol SR-FA en agua para obtener una solución de aproximadamente 1,5; 0,0075 y 0,0069 mg por ml, respectivamente.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 75 mg de Iohexol, transferir a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica

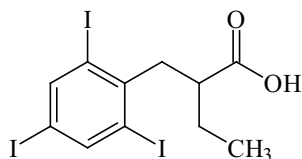
en *Procedimiento*: el tiempo de retención de la sustancia *O*-alquilada debe ser entre 1,1 y 1,4, relativo a 1,0 para el isómero *exo* de Iohexol; la resolución *R* entre los picos de Impureza A de Iohexol SR-FA y la Impureza C de Iohexol SR-FA no debe ser menor de 20,0; la respuesta del pico de Impureza C de Iohexol SR-FA debe ser $0,5 \pm 0,1$ % de la respuesta total de todos los picos del cromatograma.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 10 μ l de la *Solución muestra*, registrar el cromatograma y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de sustancias *O*-alquiladas en la porción de Iohexol en ensayo, en relación a la suma de las respuestas de todos los picos: no debe contener más de 0,1 % de cualquier impureza individual, no más de 0,6 % de sustancias *O*-alquiladas y la suma de todas las impurezas no debe ser mayor de 0,3 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Iohexol, transferir a un erlenmeyer de 125 ml con tapón de vidrio, agregar 25 ml de hidróxido de sodio 1,25 N y 500 mg de polvo de cinc. Conectar el erlenmeyer a un refrigerante y calentar a reflujo la mezcla durante 1 hora. Enfriar el erlenmeyer a temperatura ambiente, lavar el refrigerante con 20 ml de agua y filtrar. Lavar el erlenmeyer y el filtro con porciones pequeñas de agua y agregar los lavados al filtrado. Agregar 5 ml de ácido acético glacial y titular con nitrato de plata 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de nitrato de plata 0,1 N equivale a 27,37 mg de $C_{19}H_{26}I_3N_3O_9$.

IOPANOICO, ÁCIDO



$C_{11}H_{12}I_3NO_2$ PM: 570,9 96-83-3

Definición - Ácido Iopanoico es el Ácido (\pm)-3-Amino- α -etil-2,4,6-triiodohidrocínámico. Debe contener una cantidad de iodo equivalente a no menos de 97,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{11}H_{12}I_3NO_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo casi blanco o blanco amarillento. Fotosensible. Soluble en alcohol, cloroformo, éter y en soluciones de hidróxidos y carbonatos alcalinos; insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Ácido Iopanoico SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Ácido Iopanoico, transferir a un crisol, mezclar con 500 mg de carbonato de sodio y calentar hasta carbonizar. Enfriar, agregar 5 ml de agua caliente, calentar en baño de vapor durante 5 minutos y filtrar: la solución debe responder a los ensayos para *Ioduro* <410>.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Dioxano, metanol, tolueno y amoníaco concentrado (50:20:20:10).

Diluyente - Metanol y amoníaco (97:3).

Solución muestra A - Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Ácido Iopanoico, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver y completar a volumen con *Diluyente*.

Solución muestra B - Transferir 1 ml de la *Solución muestra A* a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con *Diluyente*.

Solución estándar A - Pesar exactamente alrededor de 50 mg Ácido Iopanoico SR-FA, transferir

a un matraz aforado de 5 ml, disolver y completar a volumen con *Diluyente*.

Solución estándar B - Transferir 1 ml de la *Solución muestra B* a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con *Diluyente*.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 μ l de la *Solución muestra A* y 5 μ l de la *Solución estándar B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm. A excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra A*, ninguna mancha debe ser más intensa que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar B* (0,2 %).

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 152 y 158 °C, con descomposición.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 1 hora: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Iodo libre

Agitar durante 1 minuto 200 mg de Ácido Iopanoico con 2 ml de agua y 2 ml de cloroformo: la fase clorofórmica no debe presentar color violeta.

Haluros

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Ácido Iopanoico, transferir a una probeta de 50 ml con tapón de vidrio, agregar 10 ml de ácido nítrico 2 N y 15 ml de agua, agitar durante 5 minutos y filtrar a través de papel de filtro: 10 ml del filtrado no debe presentar mayor turbidez que la producida con 0,05 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (ver 560. *Límite de cloruro y sulfato*).

Límite de metales pesados <590>

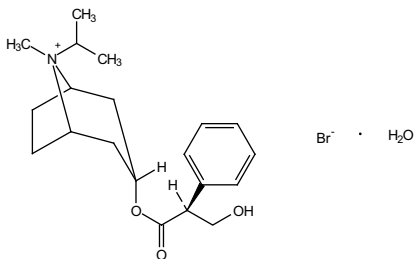
Método II. No más de 0,002 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Ácido Iopanoico, transferir a un erlenmeyer de 250 ml con tapón de vidrio. Agregar 30 ml de hidróxido de sodio 1,25 N y 500 mg de cinc en polvo y calentar la mezcla a reflujo durante 30 minutos. Enfriar a temperatura ambiente, lavar el refrigerante con 20 ml de agua y filtrar la mezcla. Lavar el erlenmeyer y el filtro con pequeñas porciones de agua, agregando los lavados al filtrado. Agregar al filtrado 5 ml de ácido acético glacial y 1 ml de tetrabromofenoltaleinato de etilo (SR) y titular con nitrato

de plata 0,05 N (SV) hasta que el color amarillo del precipitado cambie a verde. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de nitrato de plata 0,05 N equivale a 9,516 mg de $C_{11}H_{12}I_3NO_2$.

IPRATROPIO, BROMURO DE



$C_{20}H_{30}BrNO_3 \cdot H_2O$ PM: 430,4 22254-24-6

Definición - Bromuro de Ipratropio es Bromuro de (1*R*,3*r*,5*S*,8*r*)-3-[(*RS*)-3-hidroxi-2-fenilpropanoil oxi-8-metil-8-(1-metiletil)-8-azoniabicyclo[3.2.1] octan. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_{20}H_{30}BrNO_3$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Funde aproximadamente a 230 °C, con descomposición. Soluble en agua; fácilmente soluble en metanol; poco soluble en alcohol.

Sustancias de referencia - Bromuro de Ipratropio SR-FA. Bromuro de 8*s*-Ipratropio SR-FA.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*.

B - Una solución debe responder al ensayo para Bromuro <410>.

C - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloruro de metileno, alcohol, agua y ácido fórmico anhidro (45:45:7,5:2,5).

Solución estándar - Disolver 10 mg de Bromuro de Ipratropio SR-FA en 2 ml de metanol.

Solución muestra - Disolver 5 mg de Bromuro de Ipratropio en 1 ml de metanol.

Revelador - Disolver 8 g de ioduro de potasio en suficiente agua para obtener 20 ml y agregar esta solución a una mezcla de 0,85 g de subnitrate de bismuto, 40 ml de agua y 10 ml de ácido acético glacial.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 2 μ l de la *Solución muestra* y 2 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuar-

tas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y secar al aire. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*: la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar en valor de R_f , color y tamaño a la obtenida con la *Solución estándar*.

Determinación del pH <250>

Entre 5,0 y 7,5, determinado sobre una solución de aproximadamente 10 mg por ml.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre $-0,10^\circ$ y $+0,10^\circ$.

Solución muestra: 10 mg por ml, en agua.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 210 nm y una columna de 12,5 cm \times 4,0 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 1,0 g de metanosulfonato de sodio en una mezcla de 120 ml de acetonitrilo y 1 litro de ácido fosfórico 0,05 M. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución madre del estándar - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Bromuro de 8*s*-Ipratropio SR-FA, transferir a un matraz aforado de 200 ml, disolver en *Fase móvil*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Solución estándar - Transferir 1 ml de *Solución madre del estándar* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Bromuro de Ipratropio, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en *Fase móvil*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Solución de resolución - Emplear una solución preparada mezclando 1 volumen de *Solución muestra* y 2 volúmenes de *Solución madre del estándar*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de ipratropio y 8*s*-ipratropio debe ser mayor de 1,5. Cromatografiar la *Solución muestra* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría del pico principal debe ser menor de 2,2. Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la relación señal-ruido del pico principal debe ser mayor de 5,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución muestra*, la *Solución de resolución* y la *Solución estándar* y registrar los cromatogramas hasta dos veces el tiempo de retención del pico principal del cromatograma obtenido con la *Solución muestra*. La respuesta de cualquier pico correspondiente al 8s-ipratropio en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la respuesta del pico obtenido con la *Solución estándar* (0,5 %); la respuesta de cualquier pico, excepto el pico principal y cualquier pico correspondiente al 8s-ipratropio, en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la mitad de la respuesta del pico obtenido con la *Solución de estándar* (0,25 %).

Apo-ipratropio

Disolver 140 mg de Bromuro de Ipratropio en ácido clorhídrico 0,01 N y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Medir la absorbancia de esta solución a 246 y 263 nm con un espectrofotómetro. Calcular el contenido porcentual de apo-ipratropio por la fórmula siguiente:

$$10(A_{246}/A_{263} - 0,863)$$

en la cual A_{246} y A_{263} son las absorbancias de la solución a 246 y 263 nm, respectivamente. No debe contener más de 0,5 %.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 3,9 y 4,4 %, determinada sobre 500 mg de muestra.

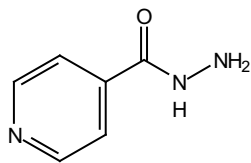
Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 350 mg de Bromuro de Ipratropio, disolver en 50 ml de agua y agregar 3 ml de ácido nítrico diluido. Titular con nitrato de plata 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de nitrato de plata 0,1 N equivale a 41,24 mg de $C_{20}H_{30}BrNO_3$.

ISONIAZIDA



$C_6H_7N_3O$ PM: 137,1 54-85-3

Definición - Isoniazida es Hidrazida del ácido 4-piridincarboxílico. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_6H_7N_3O$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales incoloros o blancos o polvo cristalino blanco. Inodoro. Se altera lentamente por exposición al aire y a la luz. Fácilmente soluble en agua; moderadamente soluble en alcohol; poco soluble en cloroformo; muy poco soluble en éter.

Sustancia de referencia - Isoniazida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>. Transferir 50 mg de Isoniazida a un matraz aforado de 500 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, agregar 2,0 ml de ácido clorhídrico 0,1 N, completar a volumen con agua y mezclar: el espectro de absorción ultravioleta de la solución así obtenida debe presentar máximos y mínimos sólo a las mismas longitudes de onda que una solución similar de Isoniazida SR-FA.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 170 y 173 °C.

Determinación del pH <250>

Entre 6,0 y 7,5, determinado sobre una solución 1 en 10.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 4,4 g de docusato sódico en 600 ml de metanol, agregar 400 ml de agua, ajustar a pH 2,5 con ácido sulfúrico 2 N y mezclar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

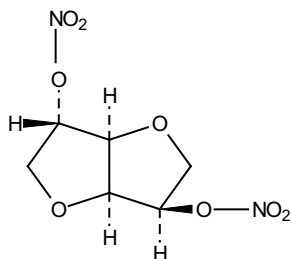
Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Isoniazida SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,32 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 16 mg de Isoniazida, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver con *Fase móvil*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna determinada a partir del pico de isoniazida no debe ser menor de 1.800 platos teóricos; el factor de asimetría para el pico de isoniazida no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_6H_7N_3O$ en la porción de Isoniazida en ensayo.

ISOSORBIDA DILUIDO, DINITRATO DE



$C_6H_8N_2O_8$ PM: 236,1 87-33-2

Sinonimia - Dinitrato Diluido de Isosorbide.

Definición - Dinitrato de Isosorbida Diluido es una mezcla de 2,5-Dinitrato de 1,4:3,6-dianhidro-*D*-glucitol ($C_6H_8N_2O_8$) con Lactosa Monohidrato o Manitol. Debe contener no menos de 95,0 por ciento peso en peso y no más de 105,0 por ciento peso en peso de $C_6H_8N_2O_8$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Dinitrato de Isosorbida SR-FA. 2-Nitrato de Isosorbida SR-FA. Mononitrato de Isosorbida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Precaución - Manipular el dinitrato de isosorbida no diluido con extremo cuidado y en cantidades muy pequeñas ya que es un potente explosivo y puede estallar si se somete a golpes o calor excesivo.

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. En fase sólida. Emplear el residuo obtenido en *Determinación del punto de fusión*.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía que contenga aproximadamente 13 % de sulfato de calcio hemihidrato, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloruro de etileno, ácido acético glacial, metanol y agua (50:25:15:10). [NOTA: medir estos volúmenes con precisión, ya que un ligero exceso de agua puede ocasionar turbidez.]

Solución estándar A - Disolver 100 mg de lactosa en agua y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 100 mg de manitol en agua y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar C - Mezclar volúmenes iguales de las *Soluciones estándar A* y *B*.

Solución muestra - Agitar una cantidad de Dinitrato de Isosorbida Diluido que corresponda a 100 mg de manitol o lactosa con 10 ml de agua y filtrar si fuera necesario.

Revelador 1 - Disolver 1 g de ácido *p*-aminobenzoico en una mezcla de 18 ml de ácido acético glacial, 20 ml de agua y 1 ml ácido fosfórico. Inmediatamente antes de usar, preparar una mezcla de esta solución y acetona (2:3).

Revelador 2 - Periodato de sodio (SR) al 0,2 %.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 1 μ l de la *Solución estándar A*, la *Solución estándar B*, la *Solución estándar C* y la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Secar bajo una corriente de aire caliente. Repetir inmediatamente el desarrollo empleando *Fase móvil* renovada. Secar la placa bajo una corriente de aire caliente. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 1*. Secar la placa bajo una corriente de aire frío hasta eliminar la acetona y calentar a 100 °C durante 15 minutos. Dejar enfriar y pulverizar sobre la placa con *Revelador 2*. Secar la placa bajo una corriente de aire frío y calentar a 100 °C durante 15 minutos. La mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar en color, tamaño y en valor de R_f a la mancha principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar A* para la lactosa o a la mancha principal del cromatograma obtenido con la *Solución estándar B* para el manitol. La identificación solo es válida si el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar C* presenta dos manchas claramente separadas.

Determinación del punto de fusión <260>

Agitar una cantidad de Dinitrato de Isosorbida Diluido correspondiente a 25 mg de dinitrato de isosorbida con 10 ml de acetona durante 5 minutos. Filtrar, evaporar a sequedad a una temperatura menor a 40 °C y secar el residuo sobre pentóxido de fósforo a una presión de 5 mm Hg durante 16 horas. El punto de fusión del residuo debe estar comprendido entre 69 y 72 °C.

Nitratos inorgánicos

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno, acetona y ácido acético glacial (60:30:15).

Solución de estándar - Disolver 10 mg de nitrato de potasio en 1 ml de agua y diluir a 100 ml con alcohol.

Solución muestra - Agitar una cantidad de Dinitrato de Isosorbida Diluido que corresponda a 100 mg de dinitrato de isosorbida con 5 ml de alcohol y filtrar.

Revelador - Disolver 750 mg de ioduro de potasio en 100 ml de agua, calentar a ebullición y agregar, mientras se agita, una solución de 500 mg de almidón soluble en 35 ml de agua. Calentar a ebullición durante 2 minutos y dejar enfriar.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de *Solución de referencia* y 10 µl de *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Secar la placa bajo corriente de aire hasta evaporación completa del ácido acético. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* recientemente preparado. Exponer la placa a la luz ultravioleta de 254 nm durante 15 minutos y examinar con luz diurna. Ninguna mancha correspondiente al ion nitrato en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser más intensa que la mancha obtenida con la *Solución de referencia* (0,5 %, calculado como nitrato de potasio).

5-Nitrato de isosorbida y 2-Nitrato de isosorbida

Preparación muestra A, Preparación estándar C, Preparación estándar D; Preparación estándar E y Fase móvil - Proceder según se indica en *Valoración*.

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado entre 210 y 215 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por aminopropilmetilsilano químicamente unida a partículas de sílice de 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1 ml por minuto.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar C* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: ajustar la sensibilidad del equipo de manera que el pico principal del cromatograma obtenido a partir de la *Preparación estándar C* no sea menor al 20 % de la escala completa del registrador. Cromatografiar la *Preparación estándar E* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención deben ser aproximadamente 5 minutos para dinitrato de

isosorbida, 8 minutos para 2-nitrato de isosorbida y 11 minutos para 5-nitrato de isosorbida. El ensayo solo es válido si en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación estándar E*, la resolución *R* entre los picos correspondientes al dinitrato de isosorbida y al 2-nitrato de isosorbida es mayor a 6,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de *Preparación muestra A, Preparación estándar C y Preparación estándar D*. En el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra A*, la respuesta del pico correspondiente al 2-nitrato de isosorbida no debe ser mayor a la del pico principal obtenido en el cromatograma de la *Preparación estándar C* (0,5 %), y la respuesta del pico correspondiente al 5-nitrato de isosorbida no debe ser mayor a la del pico principal del cromatograma obtenido a partir de la *Preparación estándar D* (0,5 %).

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 230 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por aminopropilmetilsilano químicamente unida a partículas de sílice de 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1 ml por minuto.

Fase móvil - 2,2,4-Trimetilpentano y alcohol (85:15). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar A - Transferir 25,0 mg de Dinitrato de Isosorbida SR-FA a un matraz aforado de 25 ml, suspender en 20 ml de *Fase móvil*, sonicar durante 15 minutos, y completar a volumen con *Fase móvil*. Filtrar la suspensión a través de un filtro de membrana.

Preparación estándar B - Transferir 1,0 ml de la *Preparación estándar A* a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Preparación estándar C - Disolver 10,0 mg de 2-Nitrato de Isosorbida SR-FA en *Fase móvil* y diluir a 10,0 ml con *Fase móvil*. Transferir 0,1 ml de esta solución a un matraz aforado de 20 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Preparación estándar D - Disolver 10,0 mg de Mononitrato de Isosorbida SR-FA en *Fase móvil* y diluir hasta 10,0 ml con *Fase móvil*. Transferir 0,1 ml de esta solución a un matraz aforado de 20 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Preparación estándar E - Disolver 5 mg de 2-Nitrato de Isosorbida SR-FA en *Fase móvil* y diluir hasta 10 ml con *Fase móvil*. A 1 ml de esta

solución agregar 0,5 ml de *Preparación estándar A* y diluir hasta 10 ml con *Fase móvil*.

Preparación muestra A - Transferir 25,0 mg de Dinitrato de Isosorbida a un matraz aforado de 25 ml, suspender en 20 ml de *Fase móvil*, sonicar durante 15 minutos, y completar a volumen con *Fase móvil*. Filtrar la suspensión a través de un filtro de membrana.

Preparación muestra B - Transferir 1,0 ml de la *Preparación muestra A* a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

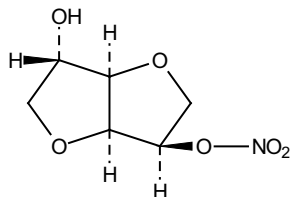
Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Inyectar 20 µl de la *Preparación estándar B*. Ajustar la sensibilidad del sistema de modo que la respuesta del pico principal a partir de la *Preparación estándar B* sea al menos el 50 % de la escala completa del registrador. Si las respuestas de los picos correspondientes a dos inyecciones sucesivas difieren en más de 1,0 %, inyectar otras cuatro veces y calcular para las seis inyecciones la desviación estándar relativa. El ensayo solo es válido si la desviación estándar relativa para seis inyecciones repetidas no es menor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación muestra B* y la *Preparación estándar B*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular la cantidad de $C_6H_8N_2O_8$ en la porción de Dinitrato de Isosorbida en ensayo.

ROTULADO

Indicar en el rótulo el contenido de Dinitrato de Isosorbida en porcentaje.

ISOSORBIDA DILUIDO, MONONITRATO DE



$C_6H_9NO_6$

PM: 191,1

16051-77-7

Sinonimia - Mononitrato de Isosorbide Diluido.

Definición - Mononitrato de Isosorbida Diluido es 5-Nitrato de 1,4:3,6-dianhidro-*D*-glucitol y es una mezcla seca de mononitrato de isosorbida y de *Lactosa Monohidrato* o *Manitol*. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_6H_9NO_6$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Mononitrato de Isosorbida SR-FA. 2-Nitrato de Isosorbida SR-FA. Dinitrato de Isosorbida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. Emplear el residuo obtenido en *Determinación del punto de fusión*.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloruro de etileno, ácido acético anhidro, metanol y agua (50:25:15:10). [NOTA: medir estos volúmenes con exactitud, ya que un ligero exceso de agua puede ocasionar turbidez.]

Solución estándar A - Disolver 100 mg de lactosa en agua y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 100 mg de manitol en agua y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar C - Mezclar volúmenes iguales de las *Soluciones estándar A* y *B*.

Solución muestra - Agitar una cantidad de Mononitrato de Isosorbida Diluido que corresponda a 100 mg de manitol o lactosa con 10 ml de agua y filtrar si fuera necesario.

Revelador 1 - Disolver 1 g de ácido *p*-aminobenzoico en una mezcla de 18 ml de ácido acético anhidro, 20 ml de agua y 1 ml ácido fosfórico.

co. Inmediatamente antes de usar, preparar una mezcla de esta solución y acetona (2:3).

Revelador 2 - Preparar una solución de periodato de sodio al 2 %.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 1 μ l de la *Solución estándar A*, la *Solución estándar B*, la *Solución estándar C* y la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Secar bajo una corriente de aire caliente. Repetir inmediatamente el desarrollo empleando *Fase móvil* renovada. Secar la placa bajo una corriente de aire caliente. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 1*. Secar la placa bajo una corriente de aire frío hasta eliminar la acetona y calentar a 100 °C durante 15 minutos. Dejar enfriar y pulverizar sobre la placa con *Revelador 2*. Secar la placa bajo una corriente de aire frío y calentar a 100 °C durante 15 minutos. La mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar, en posición, color y tamaño a la mancha principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar A* para la lactosa o a la mancha principal del cromatograma obtenido con la *Solución estándar B* para el manitol. El ensayo solo es válido si el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar C* presenta dos manchas claramente separadas.

Determinación del punto de fusión <260>

Agitar una cantidad de Mononitrato de Isosorbida Diluido correspondiente a 25 mg de mononitrato de isosorbida con 10 ml de acetona durante 5 minutos. Filtrar, evaporar a sequedad a una temperatura menor a 40 °C y secar el residuo sobre pentóxido de fósforo a una presión de 5 mm Hg durante 16 horas. El punto de fusión del residuo debe estar comprendido entre 89 y 91 °C.

Nitratos inorgánicos

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno, acetona y ácido acético glacial (60:30:15).

Solución estándar - Disolver 10 mg de nitrato de potasio en 1 ml de agua y diluir a 100 ml con alcohol.

Solución muestra - Agitar una cantidad de Mononitrato de Isosorbida Diluido que corresponda a 100 mg de mononitrato de isosorbida con 5 ml de alcohol y filtrar.

Revelador - Disolver 750 mg de yoduro de potasio en 100 ml de agua, calentar a ebullición y agre-

gar, mientras se agita, una solución de 500 mg de almidón soluble en 35 ml de agua. Calentar a ebullición durante 2 minutos y dejar enfriar. [NOTA: preparar esta solución en el momento de su uso.]

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de *Solución estándar* y 10 µl de *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Secar la placa bajo una corriente de aire hasta evaporación completa del ácido acético. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*. Exponer la placa a luz ultravioleta de 254 nm durante 15 minutos y examinar con luz diurna. Ninguna mancha correspondiente al ión nitrato en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser más intensa que la mancha obtenida con la *Solución estándar* (0,5 %, calculado como nitrato de potasio).

Dinitrato de isosorbida y 2-Nitrato de isosorbida

Preparación muestra A, Preparación estándar B, Preparación estándar C, Preparación estándar D y Fase móvil - Proceder según se indica en *Valoración*.

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado entre 210 y 215 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por aminopropilmetilsilano químicamente unido a partículas de sílice de 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1 ml por minuto.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar B* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: ajustar la sensibilidad del equipo de manera que el pico principal del cromatograma obtenido a partir de la *Preparación estándar B* no sea menor al 20 % de la escala completa del registrador. Cromatografiar la *Preparación estándar D* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención deben ser: aproximadamente 5 minutos para dinitrato de isosorbida, 8 minutos para 2-nitrato de isosorbida, 11 minutos para 5-nitrato de isosorbida. El ensayo solo es válido si en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación estándar D*, la resolución *R* entre los picos correspondientes al 2-nitrato de isosorbida y al 5-nitrato de isosorbida es mayor a 4,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de *Preparación muestra A, Preparación estándar B* y *Preparación estándar C*. En el cro-

matograma obtenido a partir de la *Preparación muestra A*, la respuesta del pico correspondiente al 2-nitrato de isosorbida no debe ser mayor a la del pico principal obtenido en el cromatograma de la *Preparación estándar B* (0,5 %), y la respuesta del pico correspondiente al dinitrato de isosorbida no debe ser mayor a la del pico principal del cromatograma obtenido a partir de la *Preparación estándar C* (0,5 %).

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 230 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por aminopropilmetilsilano químicamente unida a partículas de sílice de 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1 ml por minuto.

Fase móvil - 2,2,4-Trimetilpentano y alcohol (85:15). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar A - Transferir 25,0 mg de Mononitrato de Isosorbida SR-FA a un matraz aforado de 25 ml, suspender en 20 ml de *Fase móvil*, sonicar durante 15 minutos, y completar a volumen con *Fase móvil*. Filtrar la suspensión a través de un filtro de membrana.

Preparación estándar B - Disolver 10,0 mg de 2-Nitrato de Isosorbida SR-FA en *Fase móvil* y diluir hasta 10,0 ml con *Fase móvil*. Diluir 0,1 ml de esta solución hasta 20,0 ml con *Fase móvil*.

Preparación estándar C - Transferir 10,0 mg de Dinitrato de Isosorbida SR-FA a un matraz aforado de 20 ml, suspender en 15 ml de *Fase móvil*, sonicar durante 15 minutos, y completar a volumen con *Fase móvil*. Filtrar la suspensión a través de un filtro de membrana. Diluir 0,1 ml de esta solución a 10 ml con *Fase móvil*.

Preparación estándar D - Disolver 5 mg de Mononitrato de Isosorbida SR-FA y 5 mg de 2-Nitrato de Isosorbida SR-FA en *Fase móvil* y diluir hasta 10 ml con *Fase móvil*. Diluir 1 ml de esta solución hasta 10 ml con *Fase móvil*.

Preparación muestra A - Transferir 25,0 mg de Mononitrato de Isosorbida a un matraz aforado de 25 ml, suspender en 20 ml de *Fase móvil*, sonicar durante 15 minutos, y completar a volumen con *Fase móvil*. Filtrar la suspensión a través de un filtro de membrana.

Preparación muestra B - Transferir 1,0 ml de la *Preparación muestra A* a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Inyectar 20 µl de la *Preparación estándar A*. Ajustar la sensibilidad del sistema de manera que la

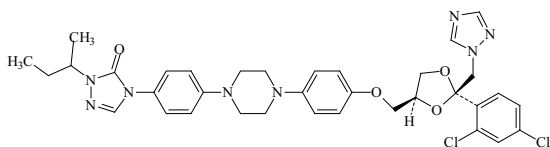
respuesta del pico principal a partir de la *Preparación estándar A* sea al menos el 50 % de la escala completa del registrador. Si las respuestas de los picos correspondientes a dos inyecciones sucesivas difieren en más de 1,0 %, inyectar otras cuatro veces la *Preparación estándar A* y calcular la desviación estándar relativa para las seis inyecciones. El ensayo sólo es válido si la desviación estándar relativa es menor de 2 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación muestra B* y la *Preparación estándar A*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos. Calcular la cantidad de $C_6H_9NO_6$ en la porción de Mononitrato de Isosorbida en ensayo.

ROTULADO

Indicar en el rótulo el contenido de Mononitrato de Isosorbida en porcentaje.

ITRACONAZOL



$C_{35}H_{38}Cl_2N_8O_4$ PM: 706,0 84625-61-6

Definición - Itraconazol es 4-[4-[4-[4-[[2-(2,4-Diclorofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-ilmetil)-1,3-dioxolan-4-il]metoxi]fenil]-1-piperazinil]fenil]-2,4-dihidro-2-(1-metilpropil)-3*H*-1,2,4-triazol-3-ona.

Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,5 por ciento de $C_{35}H_{38}Cl_2N_8O_4$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Facilmente soluble en cloruro de metileno; moderadamente soluble en tetrahidrofurano; muy poco soluble en alcohol; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Itraconazol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. En fase sólida.

B - Transferir 30 mg de Itraconazol a un crisol de porcelana. Agregar 0,3 g de carbonato de sodio anhidro y calentar directamente sobre la llama durante 10 minutos. Dejar enfriar, recolectar el residuo con 5 ml de ácido nítrico al 12,5 % p/v y filtrar. A 1 ml del filtrado agregar 1 ml de agua: esta solución debe responder a los ensayos para *Cloruros* <410>.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 166 y 170 °C.

Determinación de la rotación óptica <170>

Entre -0,10° y +0,10°; determinada sobre una solución preparada disolviendo 2,0 g de Itraconazol en 20 ml de cloruro de metileno.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 225 nm y una columna de 10 cm × 4,0 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano, desactivado para compuestos básicos, químicamente unido a partículas porosas

de sílice de 3 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto. Equilibrar la columna durante 30 minutos con *Solución B* y luego con la composición del eluyente inicial durante por lo menos 5 minutos (80 % de *Solución A* y 20 % de *Solución B*). Programar el cromatógrafo del siguiente modo:

Tiempo (minutos)	Solución A (% p/v)	Solución B (% p/v)	Etapa
0-20	80→50	20→50	Gradiente lineal
20-25	50	50	Isocrático
25-30	80	20	Retorno a la composición inicial de elución
30=0	80	20	Reiniciar gradiente

Solución A - Solución de sulfato ácido de tetrabutilamonio al 2,72 %.

Solución B - Acetonitrilo. Filtrar y desgasificar.

Fase móvil - Emplear mezclas variables de *Solución A* y *Solución B*, según se indica en *Sistema cromatográfico*. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Metanol y tetrahidrofurano (1:1).

Solución muestra - Disolver 100,0 mg de Itraconazol en *Diluyente* y diluir a 10,0 ml con la misma mezcla.

Solución estándar A - Disolver 5,0 mg de Itraconazol SR-FA y 5,0 mg de *Miconazol* en *Diluyente* y diluir a 100,0 ml con la misma mezcla.

Solución estándar B - Diluir 1,0 ml de *Solución muestra* a 100,0 ml con *Diluyente*. Diluir 5,0 ml de esta solución a 10 ml con *Diluyente*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar A* y registrar la respuesta de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de miconazol e itraconazol no debe ser menor de 2,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente de 10 µl) de la *Solución estándar B*, la *Solución muestra* y *Diluyente*, que será empleado como blanco. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos: a excepción del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta de ningún pico debe ser mayor a la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar B* (0,5 %); la suma de las respuestas de todos los picos, a excepción del pico principal, no debe ser mayor a 2,5 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar B* (1,25 %). Ignorar cualquier pico debido

al blanco y cualquier pico con una respuesta inferior a 0,1 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar B*.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

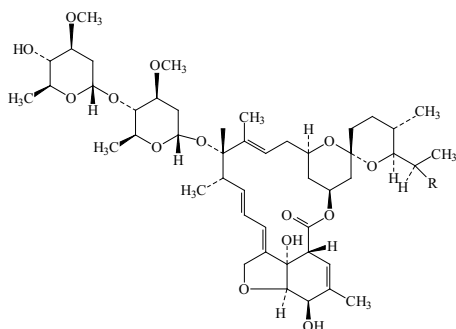
Pérdida por secado <680>

Secar entre 100 y 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 300 mg de Itraconazol, disolver en 70 ml de una mezcla de metil etil cetona y ácido acético glacial (7:1) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente titulado hasta el segundo punto de inflexión (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 35,30 mg de $C_{35}H_{38}Cl_2N_8O_4$.

IVERMECTINA



Componente	R	FM	PM
H ₂ B _{1a}	CH ₂ -CH ₃	C ₄₈ H ₇₄ O ₁₄	875
H ₂ B _{1b}	CH ₃	C ₄₇ H ₇₂ O ₁	861

70288-86-7

Definición - Ivermectina es una mezcla de (2aE,4E,5'S,6S,6'R,7S,8E,11R,13R,15S,17aR,20R,20aR,20bS)-7-[[2,6-dideoxi-4-O-(2,6-dideoxi-3-O-metil- α -L-arabino-hexopiranosil)-3-O-metil- α -L-arabino-hexopiranosil]oxi]-20,20b-dihidroxi-5',6,8,19-tetrametil-6'-[(1S)-1-metilpropil]-3',4',5',6,6',7,10,11,14,15,17a,20, 20a,20b-tetradecahidroespiro[11,15-metano-2H,13H,17H-furo[4,3,2-pq][2,6]benzodioxaci-clooctadeceno-13,2'-[2H]piran]-17-ona (componente H₂B_{1a}) y (2aE,4E,5'S,6S,6'R,7S,8E,11R,13R,15S,17aR,20R,20aR,20bS)-7-[[2,6-dideoxi-4-O-2,6-dideoxi-3-O-metil- α -L-ara-bino-hexopiranosil)-3-O-metil- α -L-arabino-hexopiranosil]oxi]-20,20b-dihidroxi-5',6,8,19-tetrametil-6'-[(1-metiletil)-3',4',5',6,6',7,10,11,14,15,17a,20,20a,20b-tetradecahidroespiro [11,15-metano-2H,13H,17H-furo[4,3,2-pq][2,6] benzo-dioxaciclooctadeceno-13,2'-[2H]piran]-17-ona (componente H₂B_{1b}). Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de la suma de ambos componentes (H₂B_{1a}+H₂B_{1b}), calculado sobre la sustancia anhidra y libre de solvente y la relación H₂B_{1a}/(H₂B_{1a}+H₂B_{1b}) de las áreas por cromatografía líquida debe ser al menos de 90,0 por ciento. Ivermectina debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o blanco-amarillento. Levemente higroscópico. Fácilmente soluble en cloruro de metileno; soluble en alcohol; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Ivermectina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases herméticos.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. Los tiempos de retención de los dos picos principales en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se deben corresponder con los de los dos picos principales en el cromatograma obtenido con la *Preparación estándar A*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -17° y -20°, sobre la sustancia anhidra y libre de solvente.

Solución muestra: 25 mg por ml, en metanol.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparaciones estándar A, B y C y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* según se indica en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución muestra* y las *Preparaciones estándar B y C*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* la respuesta del pico de la impureza con un tiempo de retención relativo entre 1,3 y 1,5 con respecto al pico principal no debe ser mayor de 2,5 veces la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Preparación estándar B* (2,5 %). A excepción de los dos picos principales las respuestas de los picos de cualquier otra impureza en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, no debe ser mayor a la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Preparación estándar B* (1,0 %) y la suma de las respuestas de todos los picos no debe ser mayor de cinco veces la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación estándar B* (5,0%). Descartar cualquier pico con una respuesta menor a la obtenida con la *Preparación estándar C* (0,05 %).

Alcohol y formamida

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 30 m \times 0,53 mm recubierta con una película de 1 μ m de una fase estacionaria constituida por polietilenglicol (peso molecular de aproximadamente 20.000). Se debe emplear helio como gas transpor-

tador, con un caudal de aproximadamente 7,5 ml por minuto. Programar el cromatógrafo del siguiente modo:

	Tiempo (minutos)	Temperatura (°C)
Columna	0 - 2	50 → 80
	2 - 8	80 → 240
Cámara de inyección		220
Detector		280

Solución del estándar interno - Diluir 5 ml de alcohol *n*-propílico a 100 ml con agua.

Solución muestra - Pesar alrededor de 120 mg de Ivermectina, transferir a un tubo de centrifuga y disolver en 2 ml de *m*-xileno, si es necesario calentar en un baño de agua entre 40 y 50 °C. Agregar 2 ml de agua, mezclar y centrifugar. Separar la capa superior, transferirla a otro tubo y extraer con 2 ml de agua. Descartar la fase superior y combinar las fases acuosas. Agregar 1 ml de *Solución del estándar interno*, centrifugar y descartar el *m*-xileno residual.

Solución estándar A - Diluir 3,0 g de *Alcohol Absoluto* a 100 ml con agua.

Solución estándar B - Diluir 1,0 g de formamida a 100 ml con agua.

Solución estándar C - Diluir 5 ml de la *Solución estándar A* y 5 ml de la *Solución estándar B* a 50 ml con agua. Transferir 2 ml de esta solución a un tubo de centrifuga, agregar 2 ml de *m*-xileno, mezclar y centrifugar. Separar la capa superior, transferir a otro tubo y extraer con 2 ml de agua. Descartar la capa superior y combinar las capas acuosas. Agregar 1 ml de la *Solución del estándar interno*, centrifugar y descartar el *m*-xileno residual.

Solución estándar D - Diluir 10 ml de la *Solución estándar A* y 10 ml de la *Solución estándar B* a 50 ml con agua. Proceder según se indica para *Solución estándar C* comenzando donde dice "Transferir 2 ml de...".

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 1 µl) de la *Solución muestra* y las *Soluciones estándar C* y *D*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos: no debe contener más de 5,0 % de alcohol y no más de 3,0 % de formamida.

Límite de metales pesados <590>

Método VI. Preparar la *Solución muestra* a partir de 1,0 g de Ivermectina y la *Solución estándar* empleando 2 ml de *Solución estándar de plomo* (10 ppm). No más de 0,002 %:

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 1,0 %, determinada sobre 0,5 g.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo, metanol y agua (51:34:15).

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 40 mg de Ivermectina, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver y completar a volumen con metanol.

Preparación estándar A - Pesar exactamente alrededor de 40 mg de Ivermectina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver y completar a volumen con metanol.

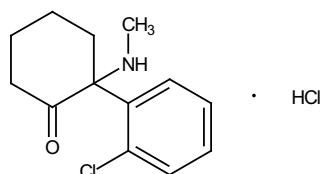
Preparación estándar B - Transferir 1,0 ml de la *Preparación estándar A* a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con metanol.

Preparación estándar C - Transferir 5,0 ml de la *Preparación estándar B* a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con metanol.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar A* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre el primer pico (componente H₂B_{1b}) y el segundo pico (componente H₂B_{1a}) no debe ser menor de 3,0; el factor de asimetría para el pico principal debe ser menor de 2,5. Cromatografiar la *Preparación estándar C* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la relación señal/ruido para el pico principal no debe ser menor a 10.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar A*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad en porcentaje de Ivermectina (H₂B_{1a} + H₂B_{1b}) y la relación H₂B_{1a}/(H₂B_{1a} + H₂B_{1b}), en la porción de Ivermectina en ensayo.

KETAMINA, CLORHIDRATO DE



$C_{13}H_{16}ClNO \cdot HCl$ PM: 274,2 1867-66-9

Definición - Clorhidrato de Ketamina es Clorhidrato de (\pm) 2-(2-clorofenil)-2-(metilamino)ciclohexanona. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{13}H_{16}ClNO \cdot HCl$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco. Funde aproximadamente a 260 °C, con descomposición. Fácilmente soluble en agua y metanol; soluble en alcohol.

Sustancia de referencia - Impureza A de Ketamina SR-FA: 1-[(2-clorofenil)(metilimino)metil]ciclopentanol.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. Proceder según se indica en *Identificación por medio de espectros de referencia*.

B - Una solución de Clorhidrato de Ketamina debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Transparencia de la solución

Disolver 5,0 g de Clorhidrato de Ketamina en 25,0 ml de agua libre de dióxido de carbono: la solución debe ser transparente e incolora.

Determinación del pH <250>

Entre 3,5 y 4,1, determinado sobre una solución 1 en 10.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre $-0,2^\circ$ y $+0,2^\circ$.

Solución muestra: 20 mg por ml, en agua.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 215 nm, una precolumna de 4 mm \times 4,0 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas

porosas de sílice de 5 μ m de diámetro y una columna de 12,5 cm \times 4,0 mm con la misma fase estacionaria. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 950 mg de hexanosulfonato de sodio en 1 litro de una mezcla de agua y acetonitrilo (75:25), agregar 4 ml de ácido acético y mezclar. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 50,0 mg de Clorhidrato de Ketamina, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en *Fase móvil*, completar a volumen con el mismo solvente y filtrar.

Solución muestra diluida - Transferir 1,0 ml de *Solución muestra* a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con *Fase móvil*. Transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 20 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Solución de aptitud del sistema - Pesar exactamente alrededor de 25,0 mg de Impureza A de Ketamina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver y completar a volumen con *Fase móvil*, sonicar si fuera necesario. Transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, agregar 0,5 ml de *Solución muestra* y completar a volumen con *Fase móvil*. [NOTA: preparar esta solución inmediatamente antes de su uso].

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de impureza A de ketamina y ketamina no debe ser menor de 1,5.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución muestra* y la *Solución muestra diluida*, registrar los cromatogramas durante diez veces el tiempo de retención de ketamina y medir las respuestas de todos los picos. El tiempo de retención debe estar comprendido entre 3 y 4,5 minutos para ketamina. A excepción del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la suma de todos los picos no debe ser mayor que el pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución muestra diluida* (0,5 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor a 0,2 veces la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución muestra diluida* (0,1 %).

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

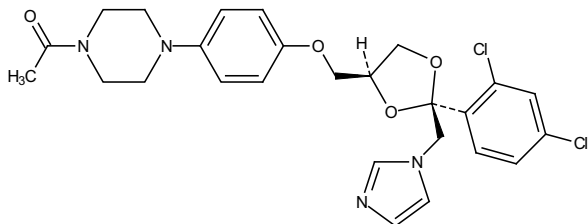
Límite de metales pesados <590>

Método I. No más de 0,002 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Clorhidrato de Ketamina, transferir a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con metanol y agregar 1 ml de ácido clorhídrico 0,1 M y titular potenciométricamente con hidróxido de sodio 0,1 M, leer el volumen agregado entre los dos puntos de inflexión. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 M equivale a 27,42 mg de $C_{13}H_{16}ClNO$. HCl.

KETOCONAZOL



$C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$ PM: 531,4 65277-42-1

Definición - Ketoconazol es *cis* 1-Acetil-4-[4-[[2-(2,4-diclorofenil)-2-(1*H*-imidazol-1-ilmetil)-1,3-dioxolan-4-il]metoxi]fenil]piperazina. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en cloruro de metileno; soluble en metanol; moderadamente soluble en alcohol; prácticamente insoluble en agua

Sustancia de referencia - Ketoconazol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Pureza cromatográfica*. La mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar en valor de R_f y tamaño a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica - Entre -1° y $+1^\circ$, medidos a 20°C .

Solución muestra: 40 mg por ml, en metanol.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - *n*-hexano, acetato de etilo, metanol, agua e hidróxido de amonio (42:40:15:2:1).

Solución estándar A - Disolver una cantidad de Ketoconazol SR-FA en cloroformo para obtener una solución de aproximadamente 10,0 mg por ml.

Solución estándar B - Diluir una porción de la *Solución estándar A* cuantitativamente con cloroformo para obtener una solución de aproximadamente 1,0 mg por ml.

Solución muestra - Disolver 30,0 mg de Ketoconazol en 3,0 ml de cloroformo.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μl de la *Solución muestra* y la *Solución estándar A* y 2 μl de la *Solución estándar B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas, en una cámara no saturada, hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm: la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar en valor de R_f y tamaño a la mancha obtenida con la *Solución estándar A* y la suma de las intensidades de las manchas secundarias obtenidas a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor a la intensidad de la mancha principal obtenida con la *Solución estándar B* (2,0 %).

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 148 y 152°C .

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 80°C durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

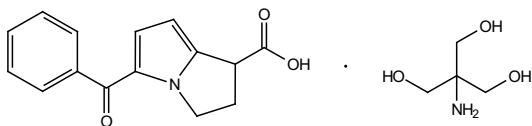
Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %, determinado sobre 2 g.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Ketoconazol y disolver en 40 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 26,57 mg de $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$.

KETOROLACO TROMETAMINA



$C_{15}H_{13}NO_3 \cdot C_4H_{11}NO_3$ PM: 376,4 74103-07-4

Definición - Ketorolaco Trometamina es Ácido (\pm)-5-benzoil-2,3-dihidro-1*H*-pirrolicina-1-carboxílico, compuesto con 2-amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol (1:1). Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,5 por ciento de $C_{15}H_{13}NO_3 \cdot C_4H_{11}NO_3$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Funde aproximadamente a 162 °C, con descomposición. Fácilmente soluble en agua y metanol; poco soluble en alcohol, alcohol absoluto y tetrahidrofurano; prácticamente insoluble en acetato de etilo, acetona, acetonitrilo, alcohol butílico, diclorometano, dioxano, hexano y tolueno.

Sustancia de referencia - Ketorolaco Trometamina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: metanol.

Concentración: 10 μ g por ml.

C - Identificación de trometamina. Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Diclorometano, acetona y ácido acético glacial (95:5:2).

Diluyente - Diclorometano y metanol (2:1).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Ketorolaco Trometamina SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 5 mg por ml.

Solución muestra - Disolver una cantidad exactamente pesada de Ketorolaco Trometamina en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 5 mg por ml.

Revelador - Emplear una solución alcohólica recientemente preparada de aproximadamente 30 mg de ninhidrina por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 40 μ l de la *Solución estándar* y 40 μ l de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar la placa a 150 °C entre 2 y 5 minutos. En la placa deben aparecer manchas amarillas con bordes de color rosado hasta púrpura en las zonas donde se aplicaron la *Solución estándar* y la *Solución muestra*.

Determinación del pH <250>

Entre 5,7 y 6,7; determinado sobre una solución 1 en 100.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Diluyente, Preparación estándar, Preparación muestra, Solución de resolución y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar la *Preparación muestra* según se indica en *Procedimiento* en *Valoración* y registrar el cromatograma durante al menos tres veces el tiempo de retención del ketorolaco. Medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza individual en la porción de Ketorolaco Trometamina en ensayo, relacionando la respuesta de los picos para cada impureza individual y la suma de las respuestas de todos los picos de impurezas y el pico principal de ketorolaco. Multiplicar la respuesta de cada pico de impureza individual por los siguientes factores de corrección: 0,52 para el análogo 1-ceto-ketorolaco; 0,67 para el análogo 1-hidroxi-ketorolaco; 2,2 para el pico de impureza con un tiempo de retención de 0,54 relativo al ketorolaco y 0,91 para el pico de impureza con un tiempo de retención relativo de 0,66. No debe contener más de 0,1 % del análogo 1-ceto-ketorolaco o del análogo 1-hidroxi-ketorolaco, no debe contener más de 0,5 % de cualquier otra impureza y la suma de todas las impurezas no debe ser mayor de 1,0 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 313 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano unido químicamente a partículas totalmente porosas de sílice de 5 µm de diámetro. Mantener la columna aproximadamente a 40 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Solución reguladora de fosfato - Disolver 5,75 g de fosfato monobásico de amonio en 1 litro de agua y ajustar a pH 3,0 con ácido fosfórico.

Fase móvil - *Solución reguladora de fosfato* y tetrahydrofurano (70:30). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios para obtener un tiempo de retención para ketorolaco de aproximadamente 8 a 12 minutos (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Agua y tetrahydrofurano (70:30).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Ketorolaco Trometamina SR-FA cuantitativamente en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,4 mg por ml. [NOTA: proteger esta solución de la luz].

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Ketorolaco Trometamina, transferir a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. [NOTA: proteger esta solución de la luz].

Solución de resolución - Mezclar 100 ml de agua, 100 ml de diclorometano, 30 mg de Ketorolaco Trometamina SR-FA y 1 ml de ácido clorhídrico 1 N en una ampolla de decantación de 250 ml. Tapar, agitar y dejar separar las fases. Transferir la fase inferior de diclorometano a un erlenmeyer de borosilicato con tapón y descartar la fase superior. Exponer la solución de diclorometano a la luz solar directa durante 10 a 15 minutos. Transferir 1,0 ml de la solución a un recipiente apropiado con tapón, evaporar hasta sequedad con una corriente de aire o en una corriente de nitrógeno, agregar 1,0 ml de *Diluyente* y agitar por rotación hasta disolver. [NOTA: esta solución puede estar almacenada bajo refrigeración y emplearse mientras el cromatograma obtenido según se indica en *Procedimiento*, sea apropiado para identificar los picos debidos al análogo 1-ceto-ketorolaco y al análogo 1-hidroxi-ketorolaco, y para medir la resolución entre los picos del análogo 1-ceto-ketorolaco y de ketorolaco].

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar

las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,63 para el análogo 1-hidroxi-ketorolaco, 0,89 para el análogo 1-ceto-ketorolaco y 1,0 para ketorolaco; la resolución *R* entre los picos del análogo 1-ceto-ketorolaco y de ketorolaco no debe ser menor de 1,5. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 5.500 platos teóricos; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,5 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad en mg de C₁₅H₁₃NO₃. C₄H₁₁NO₃ en la porción de Ketorolaco Trometamina en ensayo.

LÁCTICO, ÁCIDO

50-21-5

Definición - Ácido Láctico es una mezcla de Ácido Láctico ($C_3H_6O_3$) y Lactato del Ácido Láctico ($C_6H_{10}O_5$). Debe contener no menos de 88,0 por ciento y no más de 92,0 por ciento de $C_3H_6O_3$. Ácido Láctico es obtenido mediante fermentación láctica de azúcares o preparado sintéticamente. Ácido Láctico obtenido mediante fermentación de azúcares es levorrotatorio y el obtenido por medio de síntesis es racémico. [NOTA: en solución, Ácido Láctico obtenido por fermentación cambia a dextrorrotatorio por hidrólisis del Lactato del Ácido L-(-)-Láctico a Ácido L-(+)-Láctico]. Ácido Láctico debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido siruposo, incoloro o amarillento. Al ser concentrado por ebullición se forma Lactato del Ácido Láctico. Densidad de aproximadamente 1,20. Miscible en agua, alcohol y éter. Insoluble en cloroformo.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Debe responder a los ensayos para *Lactato* <410>.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre $-0,05^\circ$ y $+0,05^\circ$, para la forma racémica.

Sustancias fácilmente carbonizables

Agregar 5 ml de ácido sulfúrico (SR) a un tubo de ensayo, previamente enjuagado con ácido sulfúrico (SR) y escurrido durante 10 minutos, cubrir cuidadosamente con 5 ml de Ácido Láctico y mantener el tubo de ensayo a $15^\circ C$: no se debe desarrollar ningún color oscuro en la interfase de los dos ácidos durante 15 minutos.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 3 mg, determinado sobre 5 ml (0,05 %).

Azúcar

A 10 ml tartrato cúprico alcalino (SR), previamente calentada a $80^\circ C$, agregar 5 gotas de Ácido Láctico: no se debe producir precipitado rojo.

Sulfato

A 10 ml de una solución de Ácido Láctico al 1 %, agregar 2 gotas de ácido clorhídrico y 1 ml de cloruro de bario (SR): no se debe producir turbidez.

Cloruro

A 10 ml de una solución de Ácido Láctico al 1 %,

acidificada con ácido nítrico, agregar unas gotas de nitrato de plata (SR): no se debe producir opalescencia inmediata.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 10 ppm.

Límite de ácido cítrico, oxálico, fosfórico o tartárico

A 10 ml de una solución de Ácido Láctico al 0,1 %, agregar 40 ml de hidróxido de calcio (SR) y calentar a ebullición durante 2 minutos: no se debe producir turbidez.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que Ácido Láctico esté destinado a preparaciones parenterales debe contener menos de 5,0 Unidades de endotoxina por g.

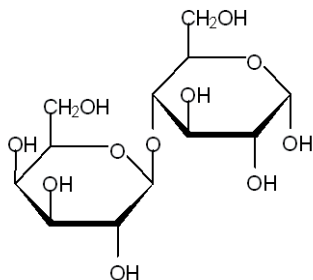
VALORACIÓN

A 2,5 ml de Ácido Láctico, exactamente pesados, agregar 50 ml de hidróxido de sodio 1 N y calentar a ebullición durante 20 minutos. Agregar fenolfaleína (SR) y titular el exceso de hidróxido de sodio con ácido sulfúrico 1 N. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 1 N SV) equivale a 90,08 mg de $C_3H_6O_3$.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si Ácido Láctico es racémico o levorrotatorio.

LACTOSA ANHIDRA



$C_{12}H_{22}O_{11}$

PM: 342,3

63-42-3

Definición - Lactosa Anhidra es *O*- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopiranososa (β -lactosa) o una mezcla de *O*- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopiranososa y *O*- β -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 4)- α -D-glucopiranososa (α -lactosa) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en agua; prácticamente insoluble en alcohol.

Sustancia de referencia - Lactosa Anhidra SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloruro de etileno, ácido acético glacial, metanol y agua (50:25:15:10).

Diluyente - Metanol y agua (3:2).

Solución estándar A - Preparar una solución de Lactosa Anhidra SR-FA en *Diluyente* de aproximadamente 0,5 mg por ml.

Solución estándar B - Preparar una solución de *Glucosa*, Lactosa Anhidra SR-FA, *Fructosa* y *Sacarosa* en *Diluyente* de aproximadamente 0,5 mg por ml de cada una de ellas.

Solución muestra - Transferir alrededor de 25 mg de Lactosa Anhidra a un matraz aforado de 50 ml, disolver en *Diluyente*, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Revelador - Disolver 0,5 g de timol en una mezcla de 95 ml de alcohol y 5 ml de ácido sulfúrico.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 2 μ l de la *Solución estándar A*, 2 μ l de la *Solución estándar B* y 2 μ l de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, secar en corriente de aire caliente y volver a desarrollar en *Fase móvil* recientemente preparada. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y secar la placa en corriente de aire caliente. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar la placa a 130 °C durante 10 minutos: en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la mancha principal debe ser similar en color, tamaño y valor de R_f a la obtenida con la *Solución estándar*. El ensayo sólo es válido si el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar B* presenta 4 manchas claramente separadas, descartando cualquier mancha en el origen.

C - Disolver 250 mg de Lactosa Anhidra en 5 ml de agua, agregar 3 ml de hidróxido de amonio y calentar en un baño de agua a una temperatura de 80 °C durante 10 minutos: se debe desarrollar color rojo.

Transparencia y color de la solución

Disolver 1 g de Lactosa Anhidra en 10 ml de agua hirviendo. La solución debe ser transparente y casi incolora. Determinar la absorbancia de esta solución a 400 nm: la absorbancia dividida la longitud de la celda en cm no debe ser mayor a 0,04.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +54,4° y +55,9°, determinada a 20 °C.

Solución muestra: Disolver 10 g de Lactosa Anhidra en 80 ml de agua calentando a una temperatura de 50 °C. Dejar enfriar, agregar 0,2 ml de hidróxido de amonio 6 N, dejar reposar durante 30 minutos y diluir con agua a 100 ml.

Acidez o alcalinidad

Disolver 6 g de Lactosa Anhidra en 25 ml de agua libre de dióxido de carbono caliente, dejar enfriar y agregar 0,3 ml de fenoltaleína (SR): la solución debe ser incolora; no se debe consumir más de 0,4 ml de hidróxido de sodio 0,1 N para desarrollar color rojo.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 % determinado a 600 \pm 50 °C.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 1,0 %, determinado sobre una preparación de Lac-

tosa Anhidra en una mezcla de metanol y formamida (2:1).

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 5 µg por g.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

No debe presentar más de 10^2 microorganismos aerobios totales por gramo, no debe presentar más de 50 hongos y levaduras por gramo. Debe cumplir con el ensayo para *Escherichia coli*.

Proteínas e impurezas que absorben luz

Preparar una solución de Lactosa Anhidra al 1 % y medir la absorción de luz en el intervalo de 210 a 300 nm (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*): la absorbancia dividida por la longitud de la celda en cm no debe ser mayor a 0,25 en el intervalo de 210 a 220 nm y no debe ser mayor a 0,07 en el intervalo de 270 a 300 nm.

Contenido de α - y β - anómeros

[NOTA: cuando en el rótulo se indica el contenido de α - y β - anómeros debe cumplir con este requisito.]

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 0,9 m \times 4 mm con una fase estacionaria constituida por 3 % de una fase líquida de 25 % de fenil silicona, 25 % de cianopropil silicona y 50 % de metilsilicona sobre un soporte formado por tierra silícea para cromatografía de gases que ha sido calcinada mezclando diatomea con carbonato de sodio y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido, luego se lava con agua hasta neutralidad, pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimeildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener la temperatura de la columna a 215 °C y el inyector y el detector a 275 °C. Se debe emplear helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 40 ml por minuto.

Reactivo de sililación - Piridina y trimetilsilimidazol (72:28).

Solución de resolución - Preparar una mezcla de α -lactosa monohidrato y β -lactosa que tenga una relación anomérica de alrededor de 1:1 basada en el contenido declarado en el rótulo.

Solución muestra - Emplear Lactosa Anhidra.

Derivatización de la solución de resolución - Transferir alrededor de 1 mg de *Solución de resolución* a un recipiente de 5 ml, agregar 0,45 ml de dimetilsulfóxido, tapar herméticamente y mezclar empleando un mezclador a vórtice hasta disolver. Agregar 1,8 ml de *Reactivo de sililación*, tapar

herméticamente y mezclar suavemente. Mantener a temperatura ambiente durante 20 minutos antes de usar.

Derivatización de la solución muestra - Proceder según se indica en *Derivatización de la solución de resolución*, pero empleando 1 mg de *Solución muestra*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución derivatizada* y registrar la respuesta de los picos principales según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,7 para el silil derivado de la α -lactosa y 1,0 para el silil derivado de la β -lactosa; la resolución *R* entre los dos picos no debe ser menor de 3,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 2,0 µl) de la *Solución de resolución derivatizada* y de la *Solución muestra derivatizada*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el contenido en porcentaje del α -anómero en la porción de Lactosa Anhidra en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$100r_a/(r_a + r_b)$$

en la cual r_a es la respuesta del pico del α -anómero silil derivatizado y r_b es la respuesta del pico del β -anómero silil derivatizado. Calcular el contenido en porcentaje del β -anómero en la porción de Lactosa Anhidra en ensayo por la fórmula siguiente:

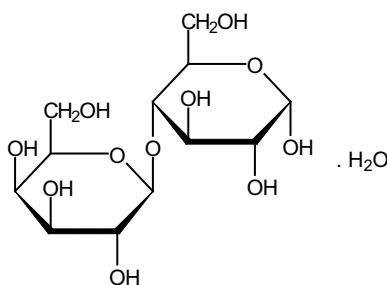
$$100r_b/(r_a + r_b)$$

en la cual r_a es la respuesta del pico del α -anómero silil derivatizado y r_b es la respuesta del pico del β -anómero silil derivatizado.

ROTULADO

Indicar en el rótulo el contenido de α - y β - Lactosa Anhidra.

LACTOSA MONOHIDRATO



$C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$ PM: 360,3 63-42-3

Definición - Lactosa Monohidrato es *O*-β-*D*-galactopiranosil-(1 → 4)-α-*D*-glucopiranososa (α-lactosa) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco. Fácil pero lentamente soluble en agua; prácticamente insoluble en alcohol.

Sustancia de referencia - Lactosa Monohidrato SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria, Fase móvil, Diluyente y Procedimiento - Proceder según se indica en *Lactosa Anhidra*.

Solución estándar A - Preparar una solución de Lactosa Monohidrato SR-FA en *Diluyente* de aproximadamente 0,5 mg por ml.

Solución estándar B - Preparar una solución de *Glucosa*, Lactosa Monohidrato SR-FA, *Fructosa* y *Sacarosa* en *Diluyente* de aproximadamente 0,5 mg por ml de cada una.

Solución muestra - Transferir alrededor de 25 mg de Lactosa Monohidrato a un matraz aforado de 50 ml, disolver en *Diluyente*, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

C - Debe cumplir con el ensayo de *Identificación C* en *Lactosa Anhidra*.

Transparencia y color de la solución

Debe cumplir con los requisitos cuando se ensaya según se indica en *Transparencia y color de la solución* en *Lactosa Anhidra*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Debe cumplir con los requisitos cuando se ensaya según se indica en 170. *Determinación de la rotación óptica* en *Lactosa Anhidra*.

Acidez o alcalinidad

Debe Cumplir con los requisitos cuando se ensaya según se indica en *Acidez o alcalinidad* en *Lactosa Anhidra*.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 % determinado a una temperatura de 600 ± 50 °C.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 4,5 y 5,5 %, determinado sobre una preparación de Lactosa Monohidrato en una mezcla de metanol y formamida (2:1).

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 5 µg por g.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

No debe presentar más de 10^2 microorganismos aerobios totales por gramo, no debe presentar más de 50 hongos y levaduras por gramo. Debe cumplir con el ensayo para *Escherichia coli*.

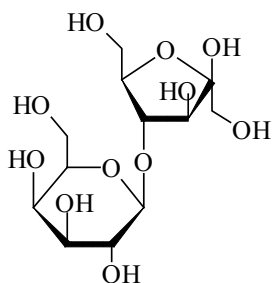
Proteínas e impurezas que absorben luz

Debe cumplir con los requisitos cuando se ensaya según se indica en *Proteínas e impurezas que absorben luz* en *Lactosa Anhidra*.

ROTULADO

Indicar en el rótulo la distribución del tamaño de partícula.

LACTULOSA



$C_{12}H_{22}O_{11}$ PM: 342,3 4618-18-2

Definición - Lactulosa es 4-*O*- β -*D*-Galactopiranosil-*D*-fructosa. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{12}H_{22}O_{11}$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Funde aproximadamente a 168 °C. Fácilmente soluble en agua; moderadamente soluble en metanol; prácticamente insoluble en tolueno.

Sustancia de referencia - Lactulosa SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Disolver 125 mg de Lactulosa en 5 ml de agua, agregar 5 ml de amoníaco y calentar a 80 °C en un baño de agua durante 10 minutos: se debe desarrollar color rojo.

C - Disolver 50 mg de Lactulosa en 10 ml de agua, agregar 3 ml de solución cupri-tartárica (SR) y calentar: se debe formar un precipitado rojo.

Determinación del pH <250>

Disolver 3,0 g de Lactulosa en agua libre de dióxido de carbono y diluir a 50 ml con el mismo solvente. A 10 ml de esta solución agregar 0,1 ml de solución saturada de cloruro de potasio. El pH de esta solución debe estar comprendido entre 3,0 y 7,0.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre $-46,0^\circ$ y $-50,0^\circ$, determinada sobre la sustancia anhidra.

Solución muestra: disolver 1,25 g de Lactulosa en agua, agregar 0,2 ml de amoníaco concentrado y diluir a 25 ml con agua.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* preparada según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - A 3 ml de la *Solución muestra* agregar 47,5 ml de acetonitrilo con calentamiento suave y diluir a 100 ml con agua.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración*. A partir del cromatograma obtenido con la *Solución muestra*, identificar las impurezas que pudieran estar presentes, por sus tiempos de retención relativos a lactulosa, según se indican a continuación:

Impureza	Tiempo de retención relativo
tagatosa	0,38
fructosa	0,42
galactosa	0,57
epilactosa	0,90
lactosa	1,17

La suma de las respuestas de cualquier pico correspondiente a galactosa, lactosa, epilactosa, tagatosa y fructosa en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la respuesta del pico correspondiente a lactulosa en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar* (3 %).

Límite de metanol

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama, un inyector de espacio libre superior y una columna de 2 m \times 2 mm con una fase estacionaria constituida por un copolímero de etilvinilbenceno-divinilbenceno de 180 μ m de espesor. Mantener la columna, el inyector y el detector aproximadamente a 140, 200 y 220 °C, respectivamente. Se debe emplear helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 30 ml por minuto.

[NOTA: mantener cada solución a 60 °C durante una hora y presurizar durante 1 minuto.]

Solución del estándar interno - A 0,5 ml de propanol agregar 100 ml de agua y mezclar. Transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar con agua. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml y completar con agua.

Solución estándar - Transferir 1 ml de *Solución del estándar interno* a un recipiente de 20 ml y agregar 5 μ l de una solución de metanol al 0,1 % v/v.

Solución muestra - Transferir 79 mg de Lactulosa a un recipiente de 20 ml, agregar 1 ml de *Solución del estándar interno* y 5 µl de una solución de metanol al 0,1 % v/v.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 1 ml) del espacio libre superior de la *Solución del estándar interno*, *Solución estándar* y *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. La relación entre las respuestas del pico de metanol y del pico del estándar interno en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor a dos veces la relación entre las correspondientes respuestas obtenidas en el cromatograma de la *Solución estándar* (50 ppm, calculado asumiendo que la densidad del metanol debe ser 0,79 g por ml a 20 °C).

Límite de boro

[NOTA: evitar usar material de vidrio].

Solución reguladora de acetato-edetato de pH 5,5 - Disolver 250 g de acetato de amonio y 15 g de edetato de sodio en 400 ml de agua y agregar 125 ml de ácido acético glacial.

Solución madre del estándar - Disolver 50 mg de ácido bórico en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua. Conservar en un recipiente bien cerrado de polietileno.

Solución estándar A - Disolver 500 mg de Lactulosa en 1 ml de la *Solución madre del estándar* y agregar 1 ml de agua.

Solución estándar B - A 1 ml de *Solución madre del estándar* agregar 1 ml de agua.

Solución muestra - Disolver 500 mg de Lactulosa en 2 ml agua.

Solución blanco - Emplear 2 ml de agua.

Procedimiento - Agregar a sendos matraces 4 ml de *Solución reguladora de acetato-edetato de pH 5,5* y mezclar. Agregar 4 ml de azometino H (SR) recientemente preparada, mezclar y dejar reposar durante 1 hora. Determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y de las *Soluciones estándar A* y *B* (ver 470. *Espectrofotometría de absorción ultravioleta y visible*), con un espectrofotómetro ajustado a 420 nm. Emplear la *Solución blanco* para llevar a cero la lectura del aparato. La absorbancia de la *Solución estándar A* debe ser menor a dos veces la absorbancia de la *Solución muestra* (9 ppm). El ensayo sólo es válido si la absorbancia de la *Solución estándar B* no es menor de 0,25.

Límite de plomo en azúcares

Diluyente - Ácido acético diluido y agua (1:1).

Solución muestra - Diluir 20 g de Lactulosa en con *Diluyente* a 100 ml. Agregar 2 ml de una solución saturada de pirrolidinaditiocarbamato de amonio al 1 % y 10 ml de metil isobutil cetona. Agitar durante 30 segundos al abrigo de la luz intensa, dejar separar las fases y emplear la fase orgánica.

Solución estándar - Proceder según se indica en *Solución muestra* para preparar tres soluciones y agregar 0,5; 1,0 y 1,5 ml respectivamente de solución de plomo (10 ppm) preparada a partir de una dilución 1 en 10 de la *Solución estándar de plomo* (100 ppm) (ver 590. *Límite de metales pesados*).

Solución blanco - Proceder según se indica en *Solución muestra* pero empleando metil isobutil cetona.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y de las *Soluciones estándar*, (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica. Método II*) con un espectrofotómetro ajustado a 283,3 nm equipado con una lámpara de cátodo hueco de plomo y una llama de aire-acetileno. Emplear la *Solución blanco* para llevar a cero la lectura del aparato. La *Solución muestra* no debe contener más de 0,5 ppm de plomo.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 2,5 % determinado sobre 0,500 g.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

El recuento de microorganismos aerobios viables no debe ser mayor que 10² microorganismos por gramo, determinado por recuento en placa. La sustancia en ensayo debe cumplir con el ensayo para *Escherichia coli*.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector de índice de refracción, una precolumna de acero inoxidable de 5 cm × 4,6 mm y una columna de acero inoxidable de 15 cm × 4,6 mm con una fase estacionaria constituida por gel de sílice aminopropilsililado, de aproximadamente 3 µm de diámetro. Mantener la columna aproximadamente a 38 ± 1 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 253 mg de fosfato de sodio dihidrogenado en 220 ml de agua y agregar 780 ml de acetonitrilo. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 1 g de Lactulosa, disolver en 10 ml de

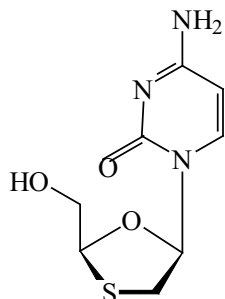
agua, agregar 12,5 ml de acetonitrilo con calentamiento suave y diluir a 25 ml con agua.

Preparación estándar - Disolver 1 g de Lactulosa SR-FA en 10 ml de agua, agregar 12,5 ml de acetonitrilo con calentamiento suave y diluir a 25 ml con agua.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el tiempo de retención para el pico de lactulosa debe ser aproximadamente 18,3 minutos. [NOTA: si fuera necesario, ajustar la concentración de acetonitrilo en la *Fase móvil* entre 75,0 y 82,0 % v/v].

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{12}H_{22}O_{11}$ en la porción de Lactulosa en ensayo.

LAMIVUDINA



$C_8H_{11}N_3O_3S$ PM: 229,26 134678-17-4

Definición - Lamivudina es (2*R*-*cis*)-4-amino-1-[2-(hidroximetil)-1,3-oxatiolan-5-il]-2(1*H*)-pirimidinona. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_8H_{11}N_3O_3S$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Sólido blanco o casi blanco. Funde a aproximadamente 176 °C. Soluble en agua.

Sustancias de referencia - Lamivudina SR-FA. Mezcla A de Resolución de Lamivudina SR-FA. Mezcla B de Resolución de Lamivudina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Límite del enantiómero de Lamivudina*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución de resolución*.

Absorción de luz

Preparar una solución que contenga 50 mg de Lamivudina por ml de agua, determinar la absorbancia a 440 nm (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*) empleando una longitud de paso óptico de 4 cm. La absorbancia no debe ser más de 0,0015.

Determinación de agua <120>

Titulación coulombimétrica. No más de 0,2 %.

Límite del enantiómero de Lamivudina

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector

ultravioleta ajustado a 270 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por β-ciclodextrina químicamente unida a partículas porosas de sílice de 5 a 10 μm de diámetro. Mantener constante la temperatura de la columna entre 15 y 30 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución de acetato de amonio 0,1 N - Disolver alrededor de 7,7 g de acetato de amonio en agua y diluir a 1 litro con el mismo solvente.

Fase móvil - Solución de acetato de amonio 0,1 N y metanol (95:5). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Solución de resolución - Disolver el contenido de un vial de Mezcla A de Resolución de Lamivudina SR-FA en 5 ml de agua, transferir cuantitativamente a un matraz aforado de 10 ml con porciones de 2 ml de agua, completar a volumen y mezclar.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Lamivudina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en agua, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. Cromatografía) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de lamivudina y el enantiómero de lamivudina no debe ser menor de 1,5. [NOTA: los tiempos de retención relativos deben ser 1,0 para lamivudina y 1,2 para el enantiómero de lamivudina].

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μl) de la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad en porcentaje del enantiómero de Lamivudina en la porción de Lamivudina en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$100[r_E/(r_E + r_M)]$$

en la cual r_E y r_M son las respuestas de los picos del enantiómero de Lamivudina y Lamivudina, respectivamente. No debe contener más de 0,3 %.

Límite de solventes residuales

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de 50 m × 0,53 mm recubierta con una película de 5 μm de una fase estacionaria constituida por aceite de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 150 y 250 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 70 °C durante 3 minutos inicialmente y se programa un aumento de 30 °C por minuto hasta

alcanzar 200 °C, y se mantiene durante 6,5 minutos. Se debe emplear hidrógeno como gas transportador a una presión de 5 psig y el caudal debe ser aproximadamente 320 ml por minuto.

Solución del estándar interno - Transferir exactamente alrededor de 1 ml de 2-pentanona a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con una mezcla de metil sulfóxido y agua (1:1) y mezclar.

Solución estándar - Transferir 10 ml de *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 100 ml. Agregar exactamente alrededor de 100 µl de alcohol absoluto, 100 µl de acetato de isopropilo, 100 µl de metanol, y 100 µl de trietilamina. Completar a volumen con una mezcla de metilsulfóxido y agua (1:1) y mezclar.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 5 g de Lamivudina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 10 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con una mezcla de metil sulfóxido y agua (1:1) y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 0,5 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular la cantidad en porcentaje de cada solvente residual en la porción de Lamivudina en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$10(C/P)(R_M/R_E)$$

en la cual *C* es la concentración en mg por ml de cada solvente en la *Solución estándar*; *P* es el peso en g de Lamivudina en ensayo; y *R_M* y *R_E* son los cocientes entre los picos de cada solvente y del estándar interno obtenidos a partir de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, respectivamente: no debe contener más de: 0,2 % de alcohol, 0,2 % de acetato de isopropilo, 0,1 % de metanol, 0,1 % de trietilamina y 0,3 % del total del solvente residual.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria, Solución de acetato de amonio 0,025 N, Fase móvil, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar y Solución muestra - Proceder según se indica para *Preparación estándar y Preparación muestra* en *Valoración*, respectivamente.

Solución de ácido salicílico - Disolver una cantidad exactamente pesada de *Ácido Salicílico* en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente, paso a paso si fuera necesario, con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,625 µg por ml.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de *Solución de ácido salicílico* y *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos.

Calcular la cantidad en porcentaje de *Ácido Salicílico* en la porción de Lamivudina en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$10C/P(r_m/r_s)$$

en la cual *C* es la concentración en µg por ml de ácido salicílico en la *Solución de ácido salicílico*; *P* es el peso en mg de Lamivudina tomada en la *Solución muestra*, *r_m* y *r_s* son las respuestas de los picos de ácido salicílico obtenidos a partir de la *Solución muestra* y la *Solución de ácido salicílico*, respectivamente.

Calcular el contenido en porcentaje de cualquier otra impureza individual en la porción de Lamivudina en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$100(r_i/r_t)$$

en la cual *r_i* es la respuesta del pico de cualquier otra impureza obtenida a partir de la *Solución muestra* y *r_t* es la suma de todas las respuestas de los picos: no debe contener más de: 0,5 % para cualquier pico con un tiempo de retención relativo de aproximadamente 0,4; 0,3 % para cualquier pico con un tiempo de retención relativo de aproximadamente 0,9; 0,2 % para ácido salicílico, 0,2 % para cualquier otra impureza individual y 1,0 % de la suma total de las impurezas.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 277 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. Mantener la temperatura de la columna a 35 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución de acetato de amonio 0,025 N - Transferir aproximadamente 1,9 g de acetato de amonio a un matraz aforado de 1 litro, disolver en 900 ml de agua, ajustar a pH 3,8 ± 0,2, completar a volumen con agua y mezclar.

Fase móvil - Solución de acetato de amonio 0,025 N y metanol (95:5). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de aptitud del sistema - Disolver el contenido de un vial de Mezcla B de Resolución de Lamivudina SR-FA en 2 ml de *Fase móvil*.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Lamivudina SR-FA y diluir

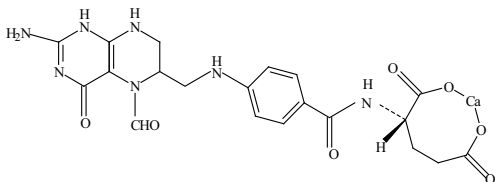
cuantitativamente, paso a paso si fuera necesario, con *Fase móvil* para obtener una solución de 0,25 mg de Lamivudina SR-FA por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Lamivudina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar la respuesta de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de lamivudina y el diastereoisómero de lamivudina no debe ser menor de 1,5. [NOTA: los tiempos de retención relativos deben ser 1,0 para lamivudina y 0,9 para el diastereoisómero de lamivudina]. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₈H₁₁N₃O₃S en la porción de Lamivudina en ensayo.

LEUCOVORINA CÁLCICA



$C_{20}H_{21}CaN_7O_7$ PM: 511,5 1492-18-8

Sinonimia - Folinato Cálculo.

Definición - Folinato Cálculo es *N*-[*p*-[[[(6*RS*)-2-Amino-5-formil-5,6,7,8-tetrahydro-4-hidroxi-6-pteridinil]-metil]amino]benzoil]-*L*-glutamato de calcio. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de $C_{20}H_{21}CaN_7O_7$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo amarillo o blanco amarillento. Muy soluble en agua; prácticamente insoluble en alcohol.

Sustancia de referencia - Folinato Cálculo SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*.
[NOTA: no secar la muestra].

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 17,0 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,005 %.

VALORACIÓN

[NOTA 1: realizar este ensayo sin interrupciones, empleando agua recientemente desionizada cada vez que se indique agua y material de vidrio inactivo para todas las soluciones que contengan Folinato Cálculo,].

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm × 4,0 mm con fase estacionaria constituida

por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente entre 1 y 2 ml por minuto.

Solución de hidróxido de tetrabutilamonio - Disolver una porción de hidróxido de tetrabutilamonio en metanol para obtener una solución de aproximadamente 0,25 g por ml.

Solución de fosfato monobásico de sodio 2 N - Disolver una porción de fosfato monobásico de sodio monohidrato en agua para obtener una solución de aproximadamente 276 mg por ml.

Fase móvil - Mezclar 15 ml de *Solución de hidróxido de tetrabutilamonio* con 835 ml de agua. Agregar 125 ml de acetonitrilo y ajustar a un pH aparente de $7,5 \pm 0,1$ con *Solución de fosfato monobásico de sodio 2 N*. Mezclar, diluir a 1 litro con agua y filtrar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Mezclar 15 ml de *Solución de hidróxido de tetrabutilamonio* con 900 ml de agua y ajustar a pH $7,5 \pm 0,1$ con *Solución de fosfato monobásico de sodio 2 N*. Diluir a 1 litro con agua y mezclar.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Folinato Cálculo SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 175 μg de Folinato Cálculo anhidro por ml.

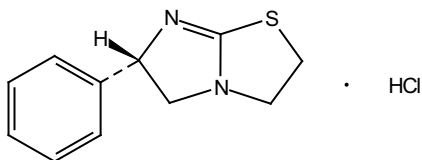
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Folinato Cálculo, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Solución de aptitud del sistema - Disolver una porción de *Ácido Fólico* en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 175 μg por ml. Mezclar 1 volumen de esta solución con 4 volúmenes de la *Preparación estándar*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de Folinato Cálculo y ácido fólico no debe ser menor de 3,6; los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 1,0 para Folinato Cálculo y 1,6 para ácido fólico; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 15 μl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{20}H_{21}CaN_7O_7$ en la porción de Folinato Cálculo en ensayo.

LEVAMISOL, CLORHIDRATO DE



$C_{11}H_{12}N_2S \cdot HCl$ PM: 240,8 16595-80-5

Definición - Clorhidrato de Levamisol es Clorhidrato de *S*-2,3,5,6-tetrahidro-6-fenilimidazo[2,1-*b*]tiazol. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{11}H_{12}N_2S \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol; poco soluble en cloruro de metileno.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Levamisol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*.

B - Debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación del pH <250>

Disolver 2,50 g de Clorhidrato de Levamisol en agua libre de dióxido de carbono y diluir a 50 ml con el mismo solvente. El pH de la solución debe estar comprendido entre 3,0 y 4,5.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre $-121,5^\circ$ y $-128,0^\circ$.

Solución muestra: 50 mg de Clorhidrato de Levamisol por ml en agua libre de dióxido de carbono, calculado sobre la sustancia seca.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 226 y 231 °C.

Límite de metales pesados <590>

Método IV. No más de 0,001 %.

Solución estándar - Preparar la solución empleando *Solución estándar de plomo* (1 ppm).

Solución muestra - Emplear 12 ml de una solución preparada disolviendo 2,5 g de Clorhidrato de Levamisol en 50 ml de agua libre de dióxido de carbono.

Pérdida por secado <680>

Secar entre 100 y 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 215 nm y una columna de 10 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano desactivado químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Solución A - Transferir 0,5 g de fosfato de amonio dihidrogenado a un matraz aforado de 100 ml, disolver con 90 ml de agua, ajustar a pH 6,5 con una solución de 40 mg de hidróxido de sodio por ml y completar a volumen con agua.

Solución B - Acetonitrilo.

Fase móvil - Emplear mezclas variables de *Solución A* y *Solución B*. Programar el cromatógrafo del siguiente modo y dejar equilibrar no menos de 4 minutos con la composición inicial.

Tiempo (minutos)	Solución A (% v/v)	Solución B (% v/v)
0-8	90 → 30	10 → 70
8-10	30	70
10-11	30 → 90	70 → 10

[NOTA: preparar las soluciones inmediatamente antes de su empleo, protegidas de la luz y mantenerlas a una temperatura no mayor a 25 °C.]

Solución muestra - Transferir 100 mg de Clorhidrato de Levamisol a un matraz aforado de 10 ml, disolver en metanol, agregar 1,0 ml de amoníaco concentrado y completar a volumen con metanol.

Solución estándar A - Transferir 50 mg de Clorhidrato de Levamisol SR-FA a un matraz aforado de 5 ml, disolver en metanol, agregar 0,5 ml de amoníaco concentrado y completar a volumen con metanol.

Solución estándar B - Transferir 1 ml de *Solución muestra* a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con metanol. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 25 ml y completar a volumen con metanol.

Aptitud del sistema - Cromatografiar la *Solución estándar A* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar al obtenido con la *Solución estándar A*, el tiempo de retención para levamisol debe

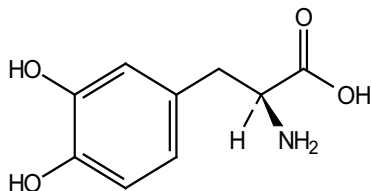
ser aproximadamente 3 minutos y los tiempos de retención relativos al levamisol deben ser aproximadamente 0,9 para impureza A (3-[(2*RS*)-2-amino-2-feniletil]tiazolidin-2-ona), 1,4 para impureza B (3-[(*E*)-2-feniletetil]tiazolidin-2-imina), 1,5 para impureza C ((4*RS*)-4-fenil-1-(2-sulfaniletil)imidazolidin-2-ona), 1,6 para la impureza D (6-fenil-2,3-dihidroimidazo[2,1-*b*]tiazol) y 2,7 para impureza E (1,1'-[(disulfano-1,2-diil)bis(etilen)bis[(4*RS*)-4-fenilimidazolin-2-ona]).

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Solución estándar A*, *Solución estándar B* y *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular la cantidad de impurezas multiplicando las respuestas de los picos por los siguientes factores de corrección: 2,0 para impureza A, 1,7 para impureza B, 2,9 para impureza C, 1,3 para impureza D y 2,7 para impureza E. La respuesta para cualquier impureza individual obtenida a partir del cromatograma de la *Solución muestra* no debe ser mayor a la respuesta del pico principal obtenida con la *Solución estándar B* (0,5 %); cualquier otra respuesta obtenida a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor a la mitad de la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar B* (0,5 %); la suma de las respuestas no debe ser mayor a 1,5 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar B* (0,3 %). Ignorar cualquier respuesta menor a 0,25 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar B*.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Clorhidrato de Levamisol, disolver en 30 ml de alcohol, agregar 5,0 ml de ácido clorhídrico 0,01 N y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando los dos puntos de inflexión potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Determinar el volumen consumido entre los dos puntos de inflexión. Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N consumido equivale a 24,08 mg de $C_{11}H_{12}N_2S \cdot HCl$.

LEVODOPA



C₉H₁₁NO₄

PM: 197,2

59-92-7

Definición - Levodopa es 3-Hidroxi-*L*-tirosina. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de C₉H₁₁NO₄, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Inodoro. En presencia de humedad se oxida rápidamente por el oxígeno atmosférico y se oscurece. Fácilmente soluble en ácido clorhídrico 3 N; poco soluble en agua; insoluble en alcohol.

Sustancias de referencia - Levodopa SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto, en un sitio seco y evitar la exposición al calor excesivo.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: ácido clorhídrico 0,1 N.

Concentración: 40 µg por ml.

Las absorptividades a 280 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 7,0; determinado sobre una solución preparada disolviendo 0,10 g de Levodopa en 10 ml de agua libre de dióxido de carbono luego de agitar durante 15 minutos.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -160° y -167°.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Levodopa, transferir a un matraz aforado de 25 ml y disolver en 10 ml de ácido clorhídrico 1 N. Agregar 5 g de hexametilentetramina, agitar por rotación para disolver, completar a volumen con ácido clorhídrico 1 N y mezclar. Dejar reposar en la oscuridad a 25 °C durante 3 horas y medir la rotación.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Sustancias relacionadas

[NOTA: proteger todas las soluciones de la luz, prepararlas inmediatamente antes de su uso y conservarlas a 10°C hasta su inyección].

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Diluyente - Preparar una solución de ácido trifluoroacético y agua (1 en 1000).

Fase móvil - *Diluyente* y tetrahidrofurano (97:3). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Levodopa SR-FA en *Diluyente* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,4 mg por ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 40 mg de Levodopa y transferir a un matraz aforado de 100 ml. Disolver, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Solución de aptitud del sistema - Disolver cantidades exactamente pesadas de Levodopa SR-FA, 3-metoxitirosina y *L*-tirosina en *Diluyente* para obtener una solución que contenga aproximadamente 10 µg de cada una por ml.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos son de aproximadamente 1,0 para levodopa; 1,3 para *L*-tirosina y 1,6 para 3-metoxitirosina; la resolución *R* entre los picos de levodopa y *L*-tirosina no debe ser menor de 3,0; el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0 para levodopa y la desviación estándar relativa determinada para levodopa, para inyecciones repetidas, no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir la respuesta de todos los picos.

Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Levodopa en ensayo. Debe cumplir con

los requisitos de la siguiente tabla.

<i>Sustancias relacionadas</i>	<i>Tiempo de retención relativo</i>	<i>Factor de respuesta relativa</i>	<i>Límite (%)</i>
Compuesto relacionado A de levodopa	aprox. 0,9	2,4	0,1
Levodopa	1,0	-	-
L-Tirosina	aprox. 1,3	2,7	0,1
3-Metoxitirosina	aprox 1,6	1,2	0,5
1-Veratrilglicina	aprox 2,7	1,3	0,1
Individual desconocida	-	1,0	0,1
Totales	-	-	1,1

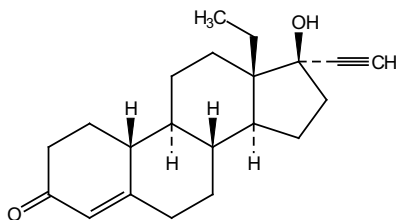
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 180 mg de Levodopa, disolver en 5 ml de ácido fórmico anhidro, calentando si fuera necesario, y agregar 25 ml de ácido acético glacial y 25 ml de dioxano. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), empleando 0,1 ml de cristal violeta (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 19,72 mg de $C_9H_{11}NO_4$.

LEVONORGESTREL



$C_{21}H_{28}O_2$ PM: 312,5 797-63-7

Definición - Levonorgestrel es (-)-(17 α)-13-Etil-17-hidroxi-18,19-dinorpregn-4-en-20-in-3-ona. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{21}H_{28}O_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco, inodoro. Soluble en cloroformo; poco soluble en alcohol; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Norgestrel SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Precaución - Manipular con cuidado el Levonorgestrel.

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. En fase sólida.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Pureza cromatográfica*. El valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución madre del estándar*.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 232 y 239 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 4 °C.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -30° y -35°.

Solución muestra: 20 mg por ml, en cloroformo.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,3 %.

Límite de grupo etinilo

Disolver 200 mg de Levonorgestrel en aproximadamente 40 ml de tetrahidrofurano. Agregar 10 ml de solución de nitrato de plata 1 en 10 y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), empleando electrodos de vidrio-calomel o plata-cloruro de plata, conteniendo solución de nitrato de potasio.

Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 2,503 mg de grupo etinilo (-C \equiv CH). No debe contener menos de 7,81 % ni más de 8,18 % de grupo etinilo.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor y activada previamente por calentamiento a 100 °C durante 15 minutos.

Fase móvil - Cloroformo y alcohol (96:4).

Solución muestra - Preparar una solución de Levonorgestrel en cloroformo de aproximadamente 10,0 mg de Levonorgestrel por ml.

Solución madre del estándar - Preparar una solución de Norgestrel SR-FA en cloroformo de aproximadamente 10 mg por ml.

Soluciones estándar - Diluir volúmenes exactamente medidos de la *Solución madre del estándar* con cloroformo para obtener cinco *Soluciones estándar* con las siguientes concentraciones:

Solución estándar	Concentración (mg por ml)	% con respecto a la muestra
A	0,20	2,0
B	0,10	1,0
C	0,05	0,5
D	0,02	0,2
E	0,01	0,1

Revelador - Agregar 10 g de ácido fosfomolibdico a 100 ml de alcohol y agitar la mezcla durante no menos de 30 minutos. Filtrar en el momento de su uso.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución madre del estándar*, 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de cada una de las cinco *Soluciones estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar evaporar. Pulverizar uniformemente sobre la placa con *Revelador* y calentar a 105 °C durante 10 a 15 minutos. El valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar al obtenido con la *Solución madre del estándar*. Si se observan manchas secundarias en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, estimar la concentración de cada una comparando con las *Soluciones estándar*. La suma de las impurezas en la *Solución*

muestra no debe ser mayor de 2,0 % y ninguna impureza debe ser mayor de 0,5 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 5 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

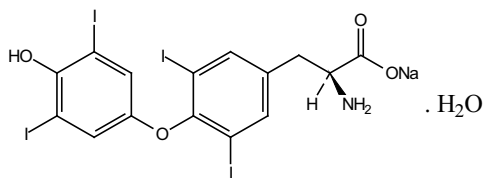
VALORACIÓN

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Norgestrel SR-FA en alcohol para obtener una solución de aproximadamente 10 µg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Levonorgestrel, disolver en alcohol y diluir cuantitativamente y en etapas con alcohol para obtener una solución de aproximadamente 10 µg por ml.

Procedimiento - Determinar concomitantemente las absorbancias de ambas soluciones en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 241 nm, con un espectrofotómetro, empleando alcohol como blanco. Calcular la cantidad de $C_{21}H_{28}O_2$ en la porción de Levonorgestrel en ensayo.

LEVOTIROXINA SÓDICA



$C_{15}H_{10}I_4NNaO_4 \cdot H_2O$

25416-65-3

Anhidra

PM: 798,9

55-03-8

Definición - Levotiroxina Sódica es la Sal monosódica de *O*-(4-hidroxi-3,5-diiodofenil)-3,5-diiodo-*L*-tirosina, hidrato. Es la sal sódica del isómero *levo* de la tirosina. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_{15}H_{10}I_4NNaO_4$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo casi blanco o amarillo pálido; inodoro e higroscópico. Estable al aire seco, puede adquirir un leve color rosado por exposición a la luz. Soluble en soluciones de hidróxidos alcalinos y en soluciones calientes de carbonatos alcalinos; poco soluble en alcohol; muy poco soluble en agua; insoluble en acetona, cloriformo y éter.

Sustancias de referencia - Levotiroxina SR-FA. Liotironina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Someter a ignición aproximadamente 50 mg de Levotiroxina Sódica en una cápsula de platino sobre llama: se debe descomponer y emitir vapores de yodo.

B - Agregar a 0,5 mg de Levotiroxina Sódica, 7,5 ml de solución ácida de cloruro de sodio (preparada mezclando 300 ml de agua, 250 ml de alcohol, 100 ml de hidróxido de sodio 1 N y 100 ml de ácido clorhídrico) y 1 ml de solución de nitrito de sodio 1 en 100. Dejar reposar en la oscuridad durante 20 minutos y agregar 1,25 ml de hidróxido de amonio: se debe producir un color rosado.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -5° y -6° .

Solución muestra: una cantidad equivalente a 30 mg de Levotiroxina Sódica anhidra por ml, en

una mezcla de alcohol e hidróxido de sodio 1 N (2:1).

Pérdida por secado <680>

Secar 500 mg de Levotiroxina Sódica sobre pentóxido de fósforo a $60^\circ C$ y a una presión que no exceda los 10 mm Hg durante 4 horas: no debe perder más de 11,0 % de su peso.

Límite de yoduro inorgánico

Solución de extracción - Preparar una solución 1 en 100 de ácido sulfúrico en agua.

Solución estándar - [NOTA: preparar esta solución en el día de su uso]. Disolver una cantidad exactamente pesada de yoduro de potasio en agua para obtener una solución que contenga 0,131 mg, equivalentes a 0,100 mg de yoduro, por ml. Transferir 0,6 ml de esta solución a un matraz aforado de 1 litro, completar a volumen con *Solución de extracción* y mezclar. Cada ml de *Solución estándar* contiene 0,06 μg de yoduro.

Solución muestra - Transferir 7,5 mg de Levotiroxina Sódica a un vaso de precipitados, agregar 100 ml de *Solución de extracción* y sonicar durante 5 minutos.

Sistema de electrodos - Emplear un electrodo indicador específico para yoduro y un electrodo de referencia de plata-cloruro de plata, conectado a un medidor de pH capaz de medir los potenciales con una reproducibilidad mínima de ± 1 mV (ver 250. *Determinación del pH*).

Procedimiento - Transferir la *Solución estándar* a un vaso de precipitados que contenga una barra de agitación magnética. Enjuagar y secar los electrodos, insertar en la solución, agitar durante 5 minutos o hasta que se estabilice la lectura y leer el potencial, en mV. Repetir este proceso empleando la *Solución muestra*. Se cumplen los requisitos del ensayo si la *Solución muestra* tiene un potencial más alto, en mV, que la *Solución estándar*: no más de 0,08 %.

Límite de liotironina sódica

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar, Preparación muestra y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración*. Calcular la cantidad de liotironina sódica ($C_{15}H_{11}I_3NNaO_4$) en la porción de Levotiroxina Sódica en ensayo, a partir de las respuestas de los picos de liotironina, obtenidos con la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*. No debe contener más de 2,0 % de liotironina.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 225 nm y una columna de

25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por gel de sílice de 10 µm de diámetro químicamente unido a un revestimiento de intercambio catiónico fuertemente ácido. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Agua y acetonitrilo (60:40) que contenga 0,5 ml de ácido fosfórico por cada 1.000 ml. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

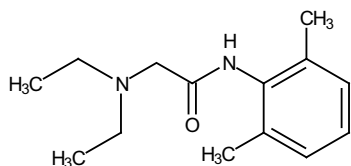
Preparación estándar - Transferir cantidades exactamente pesadas de Levotiroxina SR-FA y Liotironina SR-FA a un envase apropiado, disolver en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente y en etapas con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 10 µg de levotiroxina por ml y 0,2 µg de liotironina por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 µg de Levotiroxina Sódica y transferir a un tubo de centrífuga. Agregar 2 perlas de vidrio y 10 ml de *Fase móvil* y mezclar empleando un mezclador por vórtice durante 3 minutos. Centrifugar hasta obtener un líquido sobrenadante transparente, filtrando si fuera necesario.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de liotironina y levotiroxina no debe ser menor de 5,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 100 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{15}H_{10}I_4NNaO_4$ en la porción de Levotiroxina Sódica en ensayo, a partir de las respuestas de los picos de levotiroxina obtenidos con la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*.

LIDOCAÍNA



$C_{14}H_{22}N_2O$

PM: 234,3

137-58-6

Definición - Lidocaína es 2-(Dietilamino)-*N*-(2,6-dimetilfenil)acetamida. Debe contener no menos de 97,5 por ciento y no más de 102,5 por ciento de $C_{14}H_{22}N_2O$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o levemente amarillo. Estable al aire. Muy soluble en alcohol y cloroformo; fácilmente soluble en éter; prácticamente insoluble en agua. Se disuelve en aceites.

Sustancia de referencia - Lidocaína SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. Secar previamente al vacío sobre gel de sílice durante 24 horas.

B - Disolver 100 mg de Lidocaína en 1 ml de alcohol. Agregar a esta solución 10 gotas de cloruro cobaltoso (SR) y agitar durante aproximadamente 2 minutos: se debe desarrollar un color verde brillante y formar un precipitado fino.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 66 y 69 °C.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Disolver 1,0 g de Lidocaína en una mezcla de 3 ml de ácido nítrico 2 N y 12 ml de agua y agregar 1 ml de nitrato de plata (SR): la turbidez no debe ser mayor que la producida por 50 μ l de ácido clorhídrico 0,020 N (0,0035 %).

Sulfato - Disolver aproximadamente 200 mg de Lidocaína en una mezcla de 2 ml de ácido nítrico 2 N y 20 ml de agua y filtrar si fuera necesario. A la mitad del filtrado agregar 1 ml de cloruro de bario (SR): la turbidez no debe ser mayor que la

presente en la porción remanente del filtrado a la cual no se le agregó cloruro de bario (SR).

Límite de metales pesados <590>

Método I. Disolver 1,0 g de Lidocaína en una mezcla de 2 ml de ácido clorhídrico 3 N y 10 ml de agua, evaporar en un baño de vapor hasta sequedad y disolver el residuo en 25 ml de agua (0,002 %).

Límite de 2,6-Dimetilanilina

Disolver 250 mg de Lidocaína en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente. A 2 ml de esta solución agregar 1 ml de una solución recientemente preparada de *p*-dimetilaminobenzaldehído al 1 % en metanol y 2 ml de ácido acético glacial y dejar en reposo durante 10 minutos. Una eventual coloración amarillenta en la solución no debe ser más intensa que la de una solución de referencia preparada al mismo tiempo y de la misma manera empleando 2 ml de una solución de 2,6-dimetilanilina en metanol de aproximadamente 2,5 μ g por ml (100 ppm).

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm \times 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. Se debe mantener la temperatura de la columna entre 20 y 25 °C \pm 0,1 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Mezclar 50 ml de ácido acético glacial y 930 ml de agua. Ajustar a pH 3,40 con hidróxido de sodio 1 N. Mezclar aproximadamente 4 volúmenes de esta solución con 1 volumen de acetonitrilo, de manera que el tiempo de retención de lidocaína sea entre 4 a 6 minutos. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 85 mg de Lidocaína SR-FA, transferir a un matraz de 50 ml y disolver en 0,5 ml de ácido clorhídrico 1 N, calentando si fuera necesario para favorecer la disolución. Completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 1,7 mg de Lidocaína por ml.

Solución de resolución - Preparar una solución de *Metilparabeno* en *Fase móvil* de aproximadamente 220 μ g por ml. Mezclar 2 ml de esta solución y 20 ml de la *Preparación estándar*.

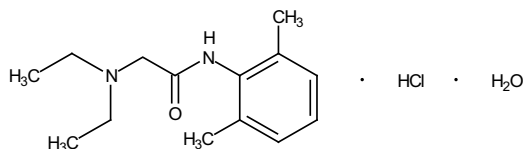
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 85 mg de Lidocaína, transferir a un matraz aforado de 50 ml y disolver en 0,5 ml de ácido clorhídrico 1 N, calentando si fuera necesario

para favorecer la disolución. Completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de lidocaína y metilparabeno no debe ser menor de 3,0. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,5 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{14}H_{22}N_2O$ en la porción de Lidocaína en ensayo.

LIDOCAÍNA, CLORHIDRATO DE



$\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O} \cdot \text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ PM: 288,8 6108-05-0

Anhidro PM: 270,8 73-78-9

Definición - Clorhidrato de Lidocaína es Monoclorhidrato de 2-(diethylamino)-N-(2,6-dimethylphenyl)acetamide, monohidrato. Debe contener no menos de 97,5 por ciento y no más de 102,5 por ciento de $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O} \cdot \text{HCl}$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco. Muy soluble en agua y alcohol; soluble en cloroformo; insoluble en éter.

Sustancia de referencia - Lidocaína SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Transferir aproximadamente 300 mg de Clorhidrato de Lidocaína a una ampolla de decantación, disolver en 5 a 10 ml de agua, agregar 4 ml de hidróxido de amonio 6 N y extraer con cuatro porciones de 15 ml de cloroformo. Combinar los extractos cloroformicos, evaporar con una corriente de aire caliente y secar el residuo al vacío sobre gel de sílice durante 24 horas: el precipitado cristalino obtenido debe responder a los ensayos de *Identificación* en *Lidocaína*.

B - Una solución debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 74 y 79 °C. No secar la muestra antes de la determinación.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 5,0 y 7,0 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de sulfato

Disolver aproximadamente 200 mg de Clorhidrato de Lidocaína en 20 ml de agua, agregar 2 ml de ácido clorhídrico 3 N, mezclar y dividir en dos porciones. A una porción de la solución agregar 1 ml de cloruro de bario (SR); no se debe producir más turbidez que la presente en la porción remanente de la solución a la que no se agregó el cloruro de bario (SR).

Límite de 2,6-dimetilanilina

Solución muestra - Disolver 250 mg de Clorhidrato de Lidocaína en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar - Disolver 50 mg de 2,6-dimetilanilina en metanol y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Diluir 1 ml de esta solución a 100 ml con metanol.

Procedimiento - Emplear tres tubos de Nessler, transferir al primer tubo 2 ml de *Solución muestra*, al segundo tubo 1 ml de *Solución estándar* y 1 ml de metanol y al tercer tubo 2 ml de metanol (empleado para preparar el blanco). A cada uno de los tubos agregar 1 ml de una solución recientemente preparada de *p*-dimetilaminobenzaldehído al 1 % en metanol y 2 ml de ácido acético glacial y dejar reposar la solución a temperatura ambiente durante 10 minutos. La intensidad de la coloración amarilla en el tubo que contiene la *Solución muestra* debe estar comprendida entre la del tubo que contiene el blanco y la del tubo que contiene la *Solución estándar* (100 ppm).

Límite de metales pesados <590>

Método I. No más de 0,002 %.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que el Clorhidrato de Lidocaína es estéril, no debe contener más de 1,1 Unidades de Endotoxina por mg de Clorhidrato de Lidocaína.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que el Clorhidrato de Lidocaína es estéril debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Preparación estándar - Proceder según se indica en *Valoración* en *Lidocaína*.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Clorhidrato de Lidocaína, transferir a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución de resolución - Preparar una solución de *Metilparabeno* en *Fase móvil* de aproximada-

mente 220 µg por ml. Mezclar 2 ml de esta solución y 20 ml de *Preparación estándar*.

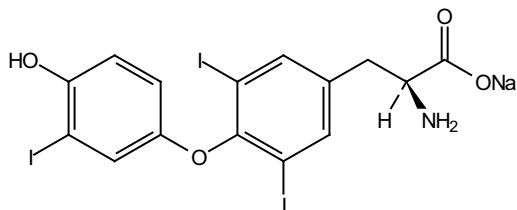
Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar aproximadamente 20 µl de la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de lidocaína y metilparabeno no debe ser menor de 3,0. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,5 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad en mg de $C_{14}H_{22}N_2O \cdot HCl$ en la porción de Clorhidrato de Lidocaína en ensayo.

ROTULADO

Cuando el Clorhidrato de Lidocaína esté destinado para la preparación de formas farmacéuticas inyectables, en el rótulo se debe indicar que es estéril.

LIOTIRONINA SÓDICA



$C_{15}H_{11}I_3NNaO_4$ PM: 673,0 55-06-1

Definición - Liotironina Sódica es la Sal sódica de *O*-(4-Hidroxi-3-iodofenil)-3,5-diiodo-*L*-tirosina. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{15}H_{11}I_3NNaO_4$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino de color castaño claro. Inodoro. Poco soluble en alcohol; muy poco soluble en agua; prácticamente insoluble en la mayoría de otros solventes orgánicos.

Sustancias de referencia - Liotironina SR-FA. Levotiroxina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: ácido clorhídrico diluido (1 en 50) en alcohol al 80 %.

Concentración: 100 µg por ml.

Las absorptividades a 297 nm, calculadas sobre la sustancia seca como ácido, no deben diferir en más de 5,0 %.

B - Calentar aproximadamente 50 mg de Liotironina Sódica con unas gotas de ácido sulfúrico en un crisol de porcelana: se deben producir vapores de yodo de color violeta.

C - El residuo de ignición de Liotironina Sódica debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +18° y +22°.

Solución muestra: 20 mg por ml, en una mezcla de alcohol y ácido clorhídrico 1,2 N (4:1).

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 4,0 % de su peso.

Límite de ioduro inorgánico

Solución de extracción, Solución estándar y Sistema de electrodos - Proceder según se indica en

Límite de ioduro inorgánico en Levotiroxina Sódica.

Solución muestra - Transferir 7,5 mg de Liotironina Sódica a un vaso de precipitados, agregar 100 ml de *Solución de extracción* y sonicar durante 5 minutos.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Límite de ioduro inorgánico en Levotiroxina Sódica*: el límite es 0,08 %.

Límite de levotiroxina sódica

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar, Preparación muestra y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración*: no debe contener más de 5,0 % de levotiroxina sódica.

Contenido de cloruro

Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Liotironina Sódica previamente secados y transferir a una cápsula de platino. Someter a ignición sobre una llama de baja intensidad. Cuando se haya completado la ignición, enfriar la cápsula, agregar 2 gotas de agua y deshacer la masa carbonizada con una varilla. Agregar 10 ml de agua, 5 ml de hidróxido de amonio y mezclar. Transferir la mezcla a un erlenmeyer de 50 ml con tapa de vidrio y lavar con agua la cápsula de platino y la varilla, agregando los lavados al erlenmeyer hasta que el volumen de la solución sea aproximadamente de 25 ml. Agregar 10 ml de solución de nitrato de plata 1 en 20 y agitar. Filtrar a través de un papel de filtro recolectando los filtrados en un tubo de Nessler de 50 ml. Lavar el matraz y el papel de filtro con 10 ml de agua y agregar los lavados al tubo. Acidificar el filtrado y los lavados combinados con ácido nítrico empleando tornasol como indicador y diluir con agua a 50 ml. Preparar un control del siguiente modo: mezclar 5 ml de hidróxido de amonio, 20 ml de agua y 10 ml de solución de nitrato de plata 1 en 20, filtrar la mezcla a través de un papel de filtro a un tubo de Nessler de 50 ml, luego lavar el papel de filtro con 10 ml de agua en el tubo, acidificando su contenido frente al tornasol con ácido nítrico; diluir con agua a 50 ml y agregar solución de cloruro de sodio 1 en 1.000 en porciones de 0,1 ml hasta que la turbidez del control sea comparable a la de la solución en ensayo. No se deben requerir más de 2,0 ml de cloruro de sodio (1,2 %).

Contenido de sodio

Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Liotironina Sódica previamente secados y transferir a una cápsula de platino. Agregar de 8 a 10 gotas de ácido sulfúrico y someter a ignición hasta peso

constante, evitando salpicaduras. Cada mg de residuo equivale a 0,324 mg de Na. Corregir el resultado por la cantidad de sodio equivalente al NaCl encontrado en el ensayo para *Contenido de cloruro*: no menos de 2,9 ni más de 4,0 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 225 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por grupos nitrilo químicamente unidos a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Agua y acetonitrilo (60:40) que contenga 0,5 ml de ácido fosfórico por litro. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver cantidades exactamente pesadas de Liotironina SR-FA y Levotiroxina SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente y en etapas con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 10 µg de liotironina y 0,5 µg de levotiroxina por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 µg de Liotironina Sódica, transferir a un tubo de centrifuga, agregar 2 perlas de vidrio, 10,0 ml de *Fase móvil* y agitar durante 3 minutos. Centrifugar hasta obtener un líquido sobrenadante transparente, filtrar si fuera necesario.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de levotiroxina y liotironina no debe ser menor de 5,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas de liotironina no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 100 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₁₅H₁₁I₃NNaO₄ en la porción de Liotironina Sódica en ensayo.

LITIO, CARBONATO DE

Li₂CO₃ PM: 73,9 554-13-2

Definición - Carbonato de Litio debe contener no menos de 99,0 por ciento de Li₂CO₃, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo granular blanco, inodoro. Moderadamente soluble en agua; muy poco soluble en alcohol. Se disuelve con efervescencia en ácidos minerales diluidos.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe producir efervescencia al agregar un ácido, liberando un gas incoloro que cuando se pasa a través de hidróxido de calcio (SR), causa inmediatamente la formación de un precipitado blanco.

B - Cuando se humedece con ácido clorhídrico, debe proporcionar un color carmesí intenso a una llama no luminosa.

Alcalinidad

Una solución saturada debe ser alcalina frente al tornasol.

Sustancias insolubles

Transferir 10 g de Carbonato de Litio a un vaso de precipitados de 250 ml, agregar 50 ml de agua y agregar lentamente 50 ml de ácido clorhídrico 6 N. Cubrir con un vidrio de reloj y calentar a ebullición durante 1 hora. Filtrar la solución al vacío, a través de un crisol previamente pesado y seco equipado con un disco filtrante de fibra de vidrio. Lavar el filtro con agua caliente hasta que el último lavado de negativa la reacción para cloruros con nitrato de plata (SR). Secar el crisol en una estufa a 110 °C durante 1 hora: el peso del residuo no debe ser mayor de 0,02 % del peso del Carbonato de Litio en ensayo.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - A 500 mg de Carbonato de Litio agregar 1,2 ml de ácido nítrico, diluir con agua a 50 ml y agregar 1 ml de nitrato de plata (SR). Preparar una solución estándar de igual volumen que contenga 1,2 ml de ácido nítrico, 0,50 ml de ácido clorhídrico 0,020 N y 1 ml de nitrato de plata (SR). La turbidez observada en la solución muestra no debe ser mayor que la desarrollada en la solución estándar (0,07 %).

Sulfato - Disolver 1,0 g de Carbonato de Litio en 10 ml de ácido clorhídrico 3 N, diluir con agua a

40 ml y agregar 1 ml de cloruro de bario (SR). Preparar una solución estándar de igual volumen que contenga 1,0 ml de ácido sulfúrico 0,020 N, 1 ml de ácido clorhídrico 3 N y 1 ml de cloruro de bario (SR). La turbidez observada en la solución muestra, luego de 3 minutos, no debe ser mayor que la producida en la solución estándar (0,1 %).

Hierro y aluminio

Disolver 500 mg de Carbonato de Litio en 10 ml de agua mediante el agregado de ácido clorhídrico gota a gota y agitar. Calentar a ebullición la solución y enfriar. A una porción de 5 ml de esta solución, agregar hidróxido de amonio 6 N hasta reacción alcalina: no se debe desarrollar turbidez o precipitado.

Calcio

Suspender 5,0 g de Carbonato de Litio en 50 ml de agua y agregar un ligero exceso de ácido clorhídrico 3 N. Calentar a ebullición la solución transparente para eliminar el dióxido de carbono, agregar 5 ml de oxalato de amonio (SR), alcalinizar con hidróxido de amonio 6 N y dejar reposar durante 4 horas. Filtrar a través de un crisol filtrante y lavar con agua caliente hasta que el último lavado no desarrolle turbidez con cloruro de calcio (SR). Colocar el crisol en un vaso de precipitados, cubrir con agua, agregar 3 ml de ácido sulfúrico, calentar a 70 °C y titular con permanganato de potasio 0,10 N hasta color rosa pálido que persiste durante 30 segundos. No debe consumirse más de 3,76 ml de permanganato de potasio 0,10 N (0,15 %).

Sodio

Solución estándar - Transferir 1,271 g de cloruro de sodio, previamente secado a 130 °C hasta peso constante, a un matraz aforado de 1 litro. Disolver en agua, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Esta solución contiene 500 µg de Na por ml.

Solución madre de la muestra - Suspender 20,0 g de Carbonato de Litio en 100 ml de agua, agregar con cuidado 50 ml de ácido clorhídrico, transferir a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución muestra - Transferir 5,0 ml de *Solución madre de la muestra* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución control - Transferir 5,0 ml de *Solución madre de la muestra* y 1,0 ml de *Solución estándar* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Ajustar un fotómetro de llama para obtener máxima emisión aproximadamente a 589 nm, empleando la *Solución control*. Medir las intensidades de emisión de la *Solución muestra* a

580 y 589 nm. La diferencia entre las intensidades observadas a 580 y 589 nm para la *Solución muestra* no debe exceder la diferencia entre las intensidades observadas a 589 nm para la *Solución muestra* y la *Solución control*, respectivamente. El límite de sodio es 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Disolver 1 g de Carbonato de Litio en 10 ml de ácido clorhídrico 3 N y diluir con agua a 25 ml: el límite es 0,002 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 200 °C durante 4 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

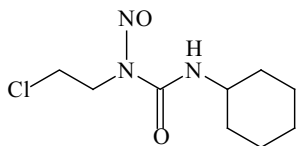
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 1 g de Carbonato de Litio, disolver en 50,0 ml de ácido sulfúrico 1 N (SV), agregar naranja de metilo (SR) y titular el exceso de ácido con hidróxido de sodio 1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver *Titulaciones residuales* en 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido sulfúrico 1 N equivale a 36,95 mg de Li_2CO_3 .

LOMUSTINA



$C_9H_{16}ClN_3O_2$ PM: 233,7 13010-47-4

Definición - Lomustina es *N*-(2-Cloroetil)-*N'*-ciclohexil-*N*-nitrosourea. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_9H_{16}ClN_3O_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino amarillo. Fácilmente soluble en acetona y cloruro de metileno; soluble en alcohol; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Lomustina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

[NOTA: realizar todos los ensayos al resguardo de la luz y preparar todas las soluciones inmediatamente antes de su uso].

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*.

B - Absorción ultravioleta <470>. Disolver 50 mg de Lomustina en alcohol y diluir a 50 ml con el mismo solvente. Diluir 2,0 ml de esta solución a 100 ml con alcohol. Examinar entre 220 y 350 nm: esta solución debe presentar un máximo de absorción a 230 nm: el coeficiente de extinción específica $E(1\%, 1\text{ cm})$ a esta longitud de onda debe estar comprendido entre 250 y 270.

C - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Sustancias relacionadas*. La mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra B* se debe corresponder en valor de R_f , tamaño, color e intensidad con la obtenida con la *Solución estándar A*.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 89 y 91 °C.

Pérdida por secado <680>

Secar sobre pentóxido de fósforo a una presión que no exceda los 5 mm Hg, durante 24 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Límite de cloruros

Solución muestra - Disolver 0,24 g de Lomustina en 4,0 ml de metanol y agregar 20 ml de agua. Dejar en reposo durante 20 minutos y filtrar. A 10,0 ml del filtrado obtenido agregar 5,0 ml de metanol y emplear esta última solución como *Solución muestra*.

Procedimiento - A los 15 ml de *Solución muestra* agregar 1,0 ml de ácido nítrico al 12,5 %. Transferir esta mezcla a un tubo de Nessler que contenga 1,0 ml de nitrato de plata (SR) y proteger de la luz. Proceder del mismo modo con un control preparado a partir de 5,0 ml de metanol y 10,0 ml de solución de cloruro (5 ppm) (SL) y examinar los tubos lateralmente sobre fondo negro. Luego de 5 minutos, si la *Solución muestra* presenta opalescencia, esta no debe ser más intensa que la del control (500 ppm).

Sustancias relacionadas

ENSAYO I

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno y ácido acético glacial (80:20).

Solución muestra A - Disolver 250 mg de Lomustina en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución muestra B - Diluir 1,0 ml de *Solución muestra A* a 25 ml con metanol.

Solución estándar A - Disolver 10 mg de Lomustina SR-FA en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Diluir 1,0 ml de *Solución muestra B* a 10 ml con metanol.

Solución estándar C - Diluir 1,0 ml de *Solución muestra B* a 20 ml con metanol.

Solución estándar D - Disolver 10 mg de Lomustina SR-FA y 10 mg de dicitohexilurea en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Revelador - Almidón-ioduro de potasio (SR1).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 μ l de las *Soluciones muestra A* y *B* y 5 μ l de las *Soluciones estándar A, B, C* y *D*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Secar la placa a 110 °C durante 1 hora. En el fondo de una cámara, colocar una cápsula de evaporación conteniendo una mezcla de permanganato de potasio al 1,5 %, agua y ácido clorhídrico al 25 % p/v (2:1:1). Cerrar la cámara y dejar en reposo durante 15 minutos. Colocar la placa seca en la cámara y cerrar. Dejar la placa en contacto con

vapores de cloro durante 5 minutos, retirar la placa de la cámara y colocarla en una corriente de aire frío hasta eliminar el exceso de cloro. Comprobar que el área de recubrimiento por debajo de los puntos de aplicación no presente color azul frente al agregado de una gota de *Revelador*. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*: a excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra A*, ninguna mancha debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar B* (0,4 %); y solo una de las manchas secundarias obtenidas a partir de la *Solución muestra A*, puede ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar C* (0,2 %). El ensayo solo es válido si el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar D* presenta dos manchas completamente separadas.

ENSAYO II

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 230 nm y una columna de 25 cm × 4,0 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol y agua (50:50). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Solución muestra - Disolver 250 mg de Lomustina en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar - Diluir 1,0 ml de *Solución muestra* a 100 ml con metanol.

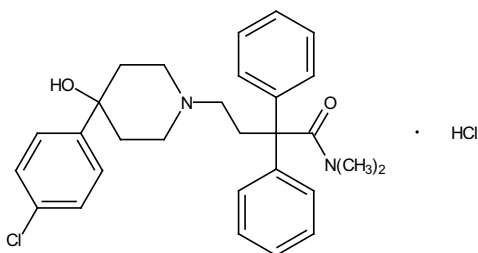
Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente de 20 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos: a excepción del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la suma de las respuestas de todos los picos no debe ser mayor a la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (1 %). Ignorar cualquier pico debido al solvente y cualquier pico con una respuesta menor a 0,05 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar*.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Lomustina, disolver en 3 ml de alcohol y agregar 20 ml de hidróxido de potasio al 20 % p/v. Calentar a ebullición, en un condensador a reflujo, durante 2 horas. Agregar 75 ml de agua y 4 ml de ácido nítrico, enfriar y titular con nitrato de plata 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con

un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de nitrato de plata 0,1 N equivale a 23,37 mg de $C_9H_{16}ClN_3O_2$.

LOPERAMIDA, CLORHIDRATO DE



$C_{29}H_{33}ClN_2O_2 \cdot HCl$ PM: 513,5 34552-83-5

Definición - Clorhidrato de Loperamida es Clorhidrato de 4-(*p*-Clorofenil)-4-hidroxi-*N,N*-dimetil- α,α -difeníl-1-piperidinbutiramida.

Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{29}H_{33}ClN_2O_2 \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o débilmente amarillento. Funde aproximadamente a 225 °C, con descomposición. Fácilmente soluble en alcohol isopropílico, cloroformo y metanol; poco soluble en agua y en ácidos diluidos.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Loperamida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>.

Pesar exactamente alrededor de 40 mg de Clorhidrato de Loperamida, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en aproximadamente 50 ml de alcohol isopropílico, agregar 10 ml de ácido clorhídrico 0,1 N, completar a volumen con alcohol isopropílico y mezclar: el espectro de absorción ultravioleta de esta solución, determinado entre 250 y 300 nm, debe presentar máximos y mínimos a las mismas longitudes de onda que el de una solución similar de Clorhidrato de Loperamida SR-FA.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 80 °C durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol y ácido fórmico (85:10:5).

Solución estándar - Preparar una solución de Clorhidrato de Loperamida SR-FA en cloroformo de aproximadamente 10 mg por ml.

Solución muestra - Preparar una solución de Clorhidrato de Loperamida en cloroformo de aproximadamente 10 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Exponer a vapores de yodo y examinar la placa: la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar en valor de R_f , color e intensidad a la obtenida con la *Solución estándar* y no se deben observar manchas secundarias.

Contenido de cloruro

Pesar exactamente alrededor de 13 mg de Clorhidrato de Loperamida y proceder según se indica en 60. *Combustión en erlenmeyer con oxígeno*, empleando una mezcla de 10 ml de hidróxido de sodio 0,02 N y 2 gotas de peróxido de hidrógeno al 30 % como líquido de absorción. Cuando se completa la combustión y se absorbieron los gases de la combustión, enjuagar el tapón, el sujetador de la muestra y las paredes internas del matraz con 50 ml de alcohol isopropílico. Agregar 4 ml de ácido nítrico 0,1 N y titular con nitrato mercúrico 0,01 N (SV), empleando difenilcarbazona (SR) como indicador. Cada ml de nitrato mercúrico 0,01 N equivale a 0,3545 mg de cloro: debe contener entre 13,52 y 14,20 %.

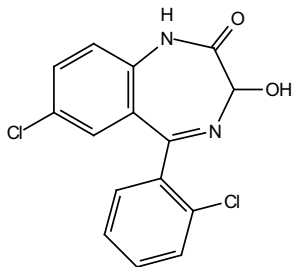
VALORACIÓN

Acido acético neutralizado - Disolver 10 mg de *p*-naftolbenceína en 100 ml de ácido acético glacial y agregar ácido perclórico 0,1 N (SV) hasta color verde, sin considerar la cantidad de solución consumida.

Procedimiento - Pesar exactamente alrededor de 375 mg de Clorhidrato de Loperamida y disolver en 25 ml de *Acido acético neutralizado*. Agregar

10 ml de una solución de acetato mercúrico, preparada disolviendo 1 g de acetato mercúrico en 33 ml de *Acido acético neutralizado*. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) hasta restablecer el color verde original del *Acido acético neutralizado*. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 51,35 mg de $C_{29}H_{33}ClN_2O_2 \cdot HCl$.

LORAZEPAM



C₁₅H₁₀Cl₂N₂O₂

PM: 321,2

846-49-1

Definición - Lorazepam es (\pm) 7-Cloro-5-(2-clorofenil)-1,3-dihidro-3-hidroxi-2H-1,4-benzodiazepin-2-ona. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de C₁₅H₁₀Cl₂N₂O₂, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Prácticamente inodoro. Moderadamente soluble en alcohol; poco soluble en cloroformo; insoluble en agua.

Sustancias de referencia - Lorazepam SR-FA. Impureza A de Lorazepam SR-FA: (7-cloro-5-(*o*-clorofenil)-1,3-dihidro-3-acetoxi-2H-1,4-benzodiazepin-2-ona). Impureza B de Lorazepam SR-FA: 2-amino-2',5-diclorobenzofenona.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en el *Ensayo A* en *Sustancias relacionadas*. El valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución de identificación*.

Sustancias relacionadas

ENSAYO A

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor, lavada previamente con una mezcla de cloroformo, acetato de etilo y metanol (2:1:1) y secada al aire.

Fase móvil - Cloroformo, dioxano y ácido acético glacial (91:5:4).

Solución muestra - Disolver una cantidad exactamente pesada de Lorazepam en cloroformo para obtener una solución de aproximadamente 2 mg por ml.

Solución de identificación - Disolver una cantidad exactamente pesada de Lorazepam SR-FA en cloroformo para obtener una solución de aproximadamente 2 mg por ml.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Impureza A de Lorazepam SR-FA en cloroformo para obtener una solución de aproximadamente 20 μ g por ml.

Solución estándar A - Diluir cuantitativamente una cantidad de *Solución estándar* con cloroformo para obtener una solución de aproximadamente 10 μ g por ml.

Solución estándar B - Diluir cuantitativamente una cantidad de *Solución estándar* con cloroformo para obtener una solución de aproximadamente 4 μ g por ml.

Procedimiento - Dentro de los 30 minutos siguientes a la preparación de las soluciones, aplicar por separado sobre la placa 50 μ l de la *Solución muestra*, 50 μ l de la *Solución de identificación*, 50 μ l de la *Solución estándar*, 50 μ l de la *Solución estándar A* y 50 μ l de la *Solución estándar B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire durante aproximadamente 30 minutos. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm. Comparar las intensidades de cualquier mancha secundaria observada en el cromatograma de la *Solución muestra* con las manchas principales obtenidas en los cromatogramas de la *Solución estándar* y las *Soluciones estándar A* y *B*: la suma de las intensidades de todas las manchas secundarias en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor de 1,0 %.

ENSAYO B

Fase estacionaria y *Fase móvil* - Proceder según se indica en *Ensayo A*.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 50,0 mg de Lorazepam, transferir a un erlenmeyer de 10 ml, agregar 2,5 ml de acetona y agitar. Dejar sedimentar cualquier partícula que no se haya disuelto y emplear la solución sobrenadante.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Impureza B de Lorazepam SR-FA en acetona para obtener una solución de aproximadamente 10 μ g por ml.

Revelador 1 - Solución de ácido sulfúrico 2 N.

Revelador 2 - Solución de nitrito de sodio 1 en 1.000.

Revelador 3 - Solución de sulfamato de amonio 1 en 200.

Revelador 4 - Solución de diclorhidrato de N-(1-naftil)etilendiamina 1 en 1.000.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 50 µl de la *Solución muestra* y 10 µl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar evaporar el solvente. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 1*, secar a 105 °C durante 15 minutos y pulverizar sucesivamente con *Revelador 2, 3 y 4*, secando la placa con una corriente de aire luego de cada pulverización. Examinar la placa bajo luz visible: la mancha obtenida a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor en tamaño o intensidad a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar* (0,01 % de Impureza B de Lorazepam).

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

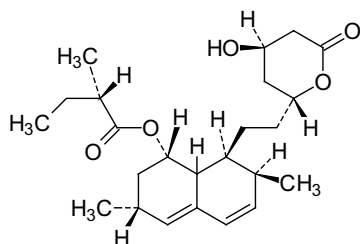
Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,3 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 400 mg de Lorazepam y disolver en 50 ml de *N,N*-dimetilformamida. Titular con hidróxido de tetrabutilamonio 0,1 N (SV) y, tomando precauciones para evitar la absorción de dióxido de carbono atmosférico, determinar el punto final potenciométricamente, empleando un electrodo de vidrio y un electrodo de calomel que contenga una solución saturada de cloruro de potasio en metanol. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de tetrabutilamonio 0,1 N equivale a 32,12 mg de $C_{15}H_{10}Cl_2N_2O_2$.

LOVASTATINA



$C_{24}H_{36}O_5$ PM: 404,5 75330-75-5

Definición - Lovastatina es (S)-2-Metilbutanoato de (4R,6R)-6-[2-[(1S,2S,6R,8S,8aR)-1,2,6,7,8,8a-hexahidro-8-hidroxi-2,6-dimetil-1-naftil]etil]tetrahidro-4-hidroxi-2H-piran-2-ona-8-ilo. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{24}H_{36}O_5$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco a casi blanco. Fácilmente soluble en cloroformo; soluble en acetona, acetonitrilo y metanol; moderadamente soluble en alcohol; prácticamente insoluble en hexano; insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Lovastatina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases impermeables, bajo nitrógeno, en un sitio frío.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: acetonitrilo

Concentración: 10 µg por ml

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +325° y +340°.

Solución muestra: 5 mg por ml, en acetonitrilo.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío, a una presión no mayor de 5 mm Hg a 60 °C, durante 3 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Proceder según se indica para *Preparación estándar B* en *Valoración*.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Lovastatina, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver, completar a volumen con acetonitrilo y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta de ningún pico individual debe ser mayor a 0,6 veces la respuesta del pico correspondiente a lovastatina obtenido con la *Solución estándar B* (0,3 %); la suma de las respuestas de todos los picos no debe ser mayor a 2 veces la respuesta del pico correspondiente a lovastatina obtenido con la *Solución estándar B* (1 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor a 0,1 veces la respuesta del pico correspondiente a lovastatina obtenido con la *Solución estándar B* (0,05 %).

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 238 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Solución A - Acetonitrilo.

Solución B - Solución de ácido fosfórico 0,1 % v/v.

Fase móvil - Emplear mezclas variables de *Solución A* y *Solución B*, según se indica a continuación. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Tiempo (minutos)	Solución A (%)	Solución B (%)	Etapas
0-5	60	40	Gradiente lineal
5-7	60→65	40→35	isocrático
7-13	65→90	35→10	isocrático
13-15	90	10	Gradiente Lineal
15-17	90→60	10→40	isocrático
17-20	60	40	Gradiente lineal

Preparación muestra- Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Lovastatina, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver, completar a volumen con acetonitrilo y mezclar. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz aforado de 20 ml, completar a volumen con acetonitrilo y mezclar.

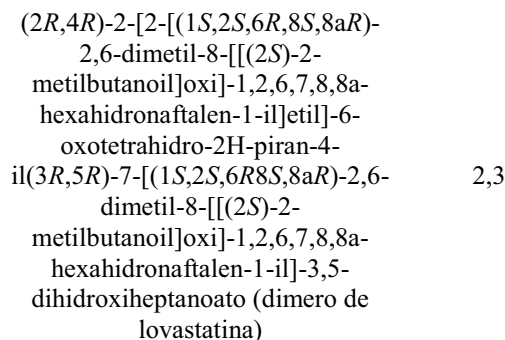
Preparación estándar A - Disolver una cantidad exactamente pesada de Lovastatina SR-FA en acetonitrilo y diluir con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 0,2 mg por ml.

Preparación estándar B- Transferir 0,5 ml de *Solución muestra* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con acetonitrilo y mezclar.

Solución de aptitud del sistema - Pesar exactamente alrededor de 1 mg de *Simvastatina*, transferir a un matraz aforado de 50 ml conteniendo 5 ml de *Preparación estándar B*, y completar a volumen con acetonitrilo.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de lovastatina y simvastatina no debe ser menor de 5,0. Cromatografiar la *Solución estándar B* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el tiempo de retención para el pico de lovastatina debe ser aproximadamente 7 minutos; los tiempos de retención relativos al pico de lovastatina son aproximadamente los indicados en la siguiente tabla:

<i>Nombre</i>	<i>Tiempo de retención relativo</i>
ácido (3 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-7-[(1 <i>S</i> ,2 <i>S</i> ,6 <i>R</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aR</i>)-2,6-dimetil-8-[[2 <i>S</i>]-2-metilbutanoil]oxi]-1,2,6,7,8,8 <i>a</i> -hexahidronaftalen-1-il]-3,5-dihidroxiheptanoico (hidroxíácido de lovastatina)	0,6
(1 <i>S</i> ,7 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aR</i>)-8-[2-[(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-4-hidroxi-6-oxotetrahydro-2 <i>H</i> -piran-2-il]etil]-7-metil-1,2,3,7,8,8 <i>a</i> -hexahidronaftalen-1-il (2 <i>S</i>)-2-metilbutanoato (mevastatina)	0,8
Simvastatina	1,1
(1 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,7 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,8 <i>aR</i>)-3,7-dimetil-8-[2-[(2 <i>R</i>)-6-oxo-3,6-dihidro-2 <i>H</i> -piran-2-il]etil]-1,2,3,7,8,8 <i>a</i> -hexahidronaftalen-1-il (2 <i>S</i>)-2-metilbutanoato (dehidrolovastatina)	1,2



Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar A* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₂₄H₃₆O₅ en la porción de Lovastatina en ensayo.

MAGNESIO, CARBONATO DE

Definición - Carbonato de Magnesio es carbonato básico de magnesio hidratado o carbonato normal de magnesio hidratado (1:1). Debe contener el equivalente a no menos de 40,0 por ciento y no más de 43,5 por ciento de Óxido de Magnesio (MgO) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o masas friables blancas. Liviano, voluminoso, inodoro y estable al aire. Soluble en ácidos diluidos, con efervescencia; prácticamente insoluble en agua, dando a la misma una ligera reacción alcalina; insoluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Disolver una porción de Carbonato de Magnesio en ácido clorhídrico 3 N. Debe producirse efervescencia y la solución resultante debe responder a los ensayos para *Magnesio* <410>.

Sales solubles

Transferir 2,0 g de Carbonato de Magnesio a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a volumen con una mezcla de alcohol *n*-propílico y agua (1:1). Calentar a ebullición con agitación constante, enfriar a temperatura ambiente, completar a volumen con agua y filtrar. Evaporar 50 ml del filtrado hasta sequedad en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: el peso del residuo no debe ser mayor a 10 mg (1,0 %).

Sustancias insolubles en ácido

Transferir 5,0 g de Carbonato de Magnesio con 75 ml de agua a un erlenmeyer, agregar ácido clorhídrico en porciones pequeñas, agitando, hasta completar la disolución y calentar a ebullición durante 5 minutos. Si queda un residuo insoluble, filtrar, lavar con agua hasta que el último lavado esté libre de cloruro y someter a ignición: el peso del residuo no debe ser mayor a 2,5 mg (0,05 %).

Límite de arsénico <540>

Método I. Disolver 750 mg de Carbonato de Magnesio en 25 ml de ácido clorhídrico 3 N y emplear esta solución como *Solución muestra*. No más de 4 ppm.

Límite de calcio

Ácido clorhídrico diluido - Diluir 25 ml de ácido clorhídrico con agua a 250 ml.

Solución de cloruro de lantano - Transferir 5,86 g de óxido de lantano a un matraz de 1 litro, agregar 40 ml de agua y luego 25 ml de ácido clorhídrico, gradualmente y con agitación. Agitar hasta que se disuelva, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución blanco - Transferir 4 ml de *Solución de lantano* y 10 ml de *Ácido clorhídrico diluido* a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Soluciones estándar - Transferir 279,7 mg de carbonato de calcio, previamente secado a 300 °C durante 3 horas y enfriados en un desecador durante 2 horas, a un matraz aforado de 100 ml, disolver en una porción de ácido clorhídrico, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 1 litro que contenga 20 ml de *Solución de cloruro de lantano* y 40 ml de *Ácido clorhídrico diluido*, completar a volumen con agua y mezclar. Esta solución contiene 5,6 µg de Ca por ml.

Solución muestra - Transferir 250 mg de Carbonato de Magnesio a un vaso de precipitados, agregar 30 ml de *Ácido clorhídrico diluido* y agitar hasta que se disuelva, calentando si fuera necesario. Transferir esta solución a un matraz aforado de 200 ml que contenga 4 ml de *Solución de cloruro de lantano*, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución estándar* y la *Solución muestra* en la línea de emisión del calcio a 422,7 nm, con un espectrofotómetro de absorción atómica (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*) equipado con una lámpara de calcio de cátodo hueco y una llama de aire-acetileno, emplear la *Solución blanco* para llevar a cero la lectura del instrumento. La absorbancia obtenida a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la obtenida con la *Solución estándar* (0,45 %).

Límite de metales pesados <590>

Método I. Disolver 0,67 g de Carbonato de Magnesio en 10 ml de ácido clorhídrico 3 N en un crisol apropiado y evaporar hasta sequedad en un baño de vapor. Someter a ignición a 550 ± 25 °C durante 2 horas. Disolver el residuo en una mezcla de 15 ml de agua y 5 ml de ácido clorhídrico y evaporar hasta sequedad. Hacia el final de la evaporación, agitar con frecuencia para desintegrar el residuo y obtener un polvo seco. Disolver el polvo obtenido en 20 ml de agua y evaporar hasta sequedad de la misma manera. Disolver nuevamente el residuo en 20 ml de agua, filtrar si fuera necesario, y agregar al filtrado 2 ml de ácido acético 1 N y

agua para obtener 25 ml: no debe contener más de 0,003 %.

Límite de hierro <580>

No debe contener más de 0,02 %.

Solución muestra - Calentar a ebullición 50 mg de Carbonato de Magnesio con 5 ml de ácido nítrico 2 N durante 1 minuto. Enfriar, diluir con agua a 45 ml, agregar 2 ml de ácido clorhídrico y mezclar.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con el ensayo para ausencia de *Escherichia coli*.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 1,00 g de Carbonato de Magnesio, disolver en 30,0 ml de ácido sulfúrico 1 N (SV), agregar naranja de metilo (SR) y titular el exceso de ácido con hidróxido de sodio 1 N (SV). Del volumen de ácido sulfúrico 1 N consumido, deducir el volumen de ácido sulfúrico 1 N correspondiente al contenido de calcio en la porción de Carbonato de Magnesio en ensayo. La diferencia es el volumen de ácido sulfúrico 1 N equivalente al Óxido de Magnesio presente. Cada ml de ácido sulfúrico 1 N (SV) equivale a 20,2 mg de MgO y a 20,0 mg de Ca.

MAGNESIO, CLORURO DE

MgCl₂ · 6H₂O PM: 203,3 7791-18-6
Anhidro PM: 95,2 7786-30-31

Definición - Cloruro de Magnesio es Cloruro de magnesio hexahidrato. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de MgCl₂ · 6H₂O y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales o escamas incoloras e inodoras; delicuescente. Pierden agua cuando se calientan a 100 °C y pierden ácido clorhídrico cuando se calientan a 110 °C. Muy soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Una solución de Cloruro de Magnesio 1 en 20 debe responder a los ensayos para *Magnesio* <410> y *Cloruro* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 7,0, determinado sobre una solución 1 en 20, en agua libre de dióxido de carbono.

Materia insoluble

Pesar exactamente alrededor de 20 g de Cloruro de Magnesio, disolver en 200 ml de agua, calentar a ebullición y digerir en un vaso de precipitados tapado en un baño de vapor durante 1 hora. Filtrar a través de un crisol filtrante, previamente pesado, lavar completamente y secar a 115 °C: el peso del residuo no debe ser mayor de 1 mg (0,005 %).

Límite de cloruro y sulfato <560>

Sulfato - Una porción de 10 g de Cloruro de Magnesio no debe contener más sulfato que el correspondiente a 0,50 ml de ácido sulfúrico 0,020 N (0,005 %).

Bario

Disolver 1 g de Cloruro de Magnesio en 10 ml de agua y agregar 1 ml de ácido sulfúrico 2 N: no se debe producir turbidez dentro de las 2 horas.

Límite de calcio

Ácido clorhídrico diluido, Solución de lantano, Soluciones estándar y Solución blanco - Proceder según se indica en *Límite de calcio en Carbonato de magnesio*.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 10,0 g de Cloruro de Magnesio, transferir a un matraz aforado de 200 ml, agregar agua para disol-

ver, agregar 4 ml de *Solución de lantano*, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Límite de calcio en Carbonato de magnesio*. Calcular el porcentaje de calcio en el Cloruro de Magnesio en ensayo por la fórmula siguiente:

$$0,002C$$

en la cual *C* es la concentración en µg por ml de calcio en la *Solución muestra*: no debe contener más de 0,01 %.

Potasio

Disolver 5 g de Cloruro de Magnesio en 5 ml de agua y agregar 0,2 ml de bitartrato de sodio (SR): no se debe producir turbidez dentro de los 5 minutos.

Determinación de aluminio <140>

Cuando en el rótulo se indica que Cloruro de Magnesio está destinado para ser empleado en hemodiálisis, proceder según se indica empleando 2,0 g de Cloruro de Magnesio para preparar la *Solución muestra*. El límite es 0,001 %.

Límite de metales pesados <590>

Disolver 2 g de Cloruro de Magnesio en agua para obtener 25 ml. El límite es 0,001 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 450 mg de Cloruro de Magnesio, disolver en 25 ml de agua, agregar 5 ml de solución reguladora de amoniaco-cloruro de amonio (SR) y 0,1 ml de negro de eriocromo (SR) y titular con edetato disódico 0,05 M (SV) hasta punto final color azul. Cada ml de edetato disódico 0,05 M equivale a 10,17 mg de MgCl₂ · 6H₂O.

ROTULADO

Indicar en el rótulo cuando Cloruro de Magnesio esté destinado para ser empleado en hemodiálisis.

MAGNESIO, ESTEARATO DE

557-04-0

Definición - Estearato de Magnesio es la sal de magnesio del ácido octadecanoico, es una mezcla de sales magnésicas de ácidos orgánicos sólidos y consiste principalmente en proporciones variables de estearato de magnesio y palmitato de magnesio. Los ácidos grasos se obtienen a partir de fuentes comestibles. Estearato de Magnesio debe contener el equivalente a no menos de 4,0 por ciento y no más de 5,0 por ciento de Mg, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco muy fino, liviano, untuoso al tacto. Insoluble en agua, alcohol y éter.

Sustancias de Referencia - Ácido Palmítico SR-FA. Ácido Esteárico SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Mezclar 5 g de Estearato de Magnesio con 50 ml de éter libre de peróxidos, 20 ml de ácido nítrico diluido y 20 ml de agua en un balón. Conectar el balón a un refrigerante y calentar a reflujo hasta disolver completamente. Dejar enfriar y transferir el contenido del balón a una ampolla de decantación. Agitar, dejar separar las fases y transferir la fase acuosa a otra ampolla de decantación. Extraer la fase etérea con dos porciones de 4 ml de agua y agregar estos extractos acuosos al extracto acuoso principal. Lavar los extractos acuosos con 15 ml de éter libre de peróxidos, transferir los extractos acuosos a un matraz aforado de 50 ml, diluir con agua a volumen y mezclar. [NOTA: conservar esta solución para *Límite de cloruro y sulfato*]. Esta solución debe responder a los ensayos para *Magnesio* <410>.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Contenido relativo de ácido esteárico y ácido palmítico*. Los tiempos de retención de los picos de ácido esteárico y ácido palmítico en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se deben corresponder con los de la *Solución de aptitud del sistema*.

Acidez o alcalinidad

Transferir 1,0 g de Estearato de Magnesio a un vaso de precipitado de 100 ml, agregar 20 ml de agua libre de dióxido de carbono, calentar a ebullición en un baño de vapor durante 1 minuto con agitación continua, enfriar y filtrar. Agregar 0,05 ml de azul de bromotimol (SR) a 10 ml del filtrado: no debe consu-

mir más de 0,05 ml de ácido clorhídrico 0,1 N o hidróxido de sodio 0,1 N para virar el color del indicador.

Límite de plomo <600>

Transferir 0,50 g de Estearato de Magnesio a un crisol de sílice y someter a ignición a una temperatura comprendida entre 475 y 500 °C durante 15 a 20 minutos. Enfriar, agregar 3 gotas de ácido nítrico, evaporar sobre una llama pequeña hasta sequedad y someter a ignición entre 475 a 500 °C durante 30 minutos. Disolver el residuo obtenido en 1 ml de una mezcla de volúmenes iguales de ácido nítrico y agua, transferir la solución a una ampolla de decantación, lavar el crisol con varias porciones de agua, y recolectar los líquidos de lavado en la ampolla de decantación. Agregar 3 ml de *Solución de citrato de amonio* y 0,5 ml de *Solución de clorhidrato de hidroxilamina* y alcalinizar con hidróxido de amonio frente al rojo de fenol (SR). Agregar 10 ml de *Solución de cianuro de potasio*. Extraer de inmediato la solución con porciones sucesivas de 5 ml de *Solución de ditizona para extracciones*. Juntar los extractos en otra ampolla de decantación y continuar las extracciones hasta que en la porción agregada de la solución de ditizona no se observe cambio de coloración. Agitar los extractos combinados con 20 ml de ácido nítrico 0,2 N durante 30 segundos y descartar la fase clorofórmica. Agregar a la solución ácida, 4,0 ml de la *Solución de amoniaco-cianuro* y 2 gotas de una *Solución de clorhidrato de hidroxilamina*. Agregar 10 ml de *Solución de ditizona estándar* y agitar la mezcla durante 30 segundos. Filtrar la fase clorofórmica a través de un papel de filtro lavado con ácido, y colocar en un tubo de Nessler. Comparar el color obtenido con el de una solución estándar preparada del siguiente modo: a 20 ml de ácido nítrico 0,2 N, agregar 5 µg de plomo, 4 ml de *Solución de amoniaco-cianuro* y 2 gotas de *Solución de clorhidrato de hidroxilamina*; agitar con 10 ml de *Solución de ditizona estándar* durante 30 segundos. Filtrar a través de un papel de filtro lavado con ácido en un tubo de Nessler. El color obtenido a partir de la solución muestra no debe ser más intenso que el del control (10 ppm).

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Una porción de 10,0 ml de la solución obtenida en el ensayo de *Identificación A* no debe contener más cloruro que el correspondiente a 1,4 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (1.000 ppm).

Sulfato - Una porción de 3,0 ml de la solución obtenida en el ensayo de *Identificación A*, no debe contener más sulfato que el correspondiente a 1,5 ml de ácido sulfúrico 0,020 N (5.000 ppm).

Contenido relativo de ácido esteárico y ácido palmítico

Sistema cromatográfico - Emplear un cromatógrafo de gases equipado con un detector de ionización a la llama, mantenido a aproximadamente 260 °C, un sistema de inyección no dividido y una columna capilar de sílice fundida con fase estacionaria constituida por un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular químicamente unida con un ligando di-epóxido (de p.m.p. aproximadamente 15.000) de 5 µm. Mantener la temperatura del inyector a 220 °C. Mantener la columna a una temperatura de 70 °C durante 2 minutos después de la inyección y aumentarla a razón de 5 °C por minuto hasta 240 °C, y mantenerla durante 5 minutos. Emplear helio como gas transportador con una velocidad lineal de aproximadamente 50 cm por segundo.

Solución de aptitud del sistema - Transferir aproximadamente 50 mg de Ácido Esteárico SR-FA y 50 mg de Ácido Palmítico SR-FA a un erlenmeyer conectado a un refrigerante. Agregar 5 ml de una solución preparada disolviendo 14 g de trifluoruro de boro en metanol y diluyendo a 100 ml, mezclar y calentar a reflujo hasta disolver durante aproximadamente 10 minutos. Agregar 4 ml de *n*-heptano para cromatografía a través del refrigerante, calentar a reflujo durante 10 minutos y enfriar. Agregar 20 ml de solución saturada de cloruro de sodio, agitar y dejar separar las fases. Filtrar la fase de *n*-heptano a través de una capa de 0,1 g de sulfato de sodio anhidro previamente lavado con *n*-heptano para cromatografía, transferir 1,0 ml del filtrado a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con *n*-heptano para cromatografía y mezclar.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Estearato de Magnesio, transferir a un erlenmeyer conectado a un refrigerante y proceder según se indica en *Solución de aptitud del sistema*, comenzando donde dice "...Agregar 5,0 ml de una solución preparada disolviendo...".

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,86 para palmitato de metilo y 1,0 para estearato de metilo. La resolución *R* entre los picos de palmitato de metilo y estearato de metilo no debe ser menor de 5,0. La desviación estándar relativa para inyecciones repetidas de las respuestas de los picos de palmitato y de los picos de estearato no debe ser mayor de 6,0 %. La desviación estándar relativa para inyecciones repetidas del cociente de las respuestas de los picos de palmitato y de los picos de estearato no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 1 µl de la *Solución muestra* registrar el cromatograma y medir las respuestas de los picos de todos los ésteres de los ácidos grasos en el cromatograma obtenido. Calcular la cantidad de ácido esteárico en la porción de ácidos grasos de Estearato de Magnesio en relación a la suma de las respuestas de todos los picos de los ésteres de ácidos grasos. Calcular la cantidad de ácido palmítico en la porción de Estearato de Magnesio en ensayo. La respuesta del pico de estearato no debe ser menor de 40 % y la suma de las respuestas de los picos de estearato y de palmitato no debe ser menor de 90 % de la respuesta total de todos los picos de ésteres de ácidos grasos en el cromatograma obtenido con la *Solución muestra*.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C hasta peso constante: no debe perder más de 6,0 % de su peso.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

El recuento de aerobios viables totales no debe ser mayor 10³ por gramo, el recuento de hongos y levaduras no debe ser mayor de 50 por gramo y debe cumplir con los requisitos del *Ensayo para Salmonella spp.* y *Escherichia coli*.

VALORACIÓN

Solución reguladora de cloruro de amonio de pH 10 - Disolver 5,4 g de cloruro de amonio en agua, agregar 20 ml de hidróxido de amonio y diluir con agua a 100 ml.

Procedimiento - Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Estearato de Magnesio, transferir a un erlenmeyer de 250 ml, agregar 50 ml de una mezcla de alcohol butílico y alcohol absoluto (1:1), 5 ml de hidróxido de amonio, 3 ml de *Solución reguladora de cloruro de amonio de pH 10*; 30,0 ml de edetato disódico 0,1 M (SV), 1 ó 2 gotas de negro de eriocromo (SR) y mezclar. Calentar entre 45 y 50 °C hasta que la solución sea transparente. Enfriar y titular el exceso de edetato disódico con sulfato de cinc 0,1 M (SV) hasta que el color azul de la solución se torne violeta.

Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de edetato disódico 0,1 M equivale a 2,43 mg de Mg.

MAGNESIO, HIDRÓXIDO DE

Mg(OH)₂ PM: 58,3 1309-42-8

Definición - Hidróxido de Magnesio secado a 105 °C durante 2 horas, debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de Mg(OH)₂ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco. Soluble en ácidos diluidos; prácticamente insoluble en agua y alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Una solución de Hidróxido de Magnesio 1 en 20 en ácido clorhídrico 3 N debe responder a los ensayos para *Magnesio* <410>.

Sales solubles

Pesar exactamente alrededor de 2,0 g de Hidróxido de Magnesio, calentar a ebullición con 100 ml de agua durante 5 minutos en un vaso de precipitados cubierto, filtrar en caliente, enfriar y diluir el filtrado a 100 ml con agua. Titular 50 ml del filtrado diluido con ácido sulfúrico 0,10 N, emplear rojo de metilo (SR) como indicador: no deben consumirse más de 2,0 ml de ácido sulfúrico 0,10 N. Evaporar hasta sequedad 25 ml del filtrado diluido y secar a 105 °C durante 3 horas: no debe contener más de 10 mg de residuo.

Carbonato

Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Hidróxido de Magnesio, agregar 5 ml y calentar a ebullición, enfriar y agregar 5 ml de ácido acético 6 N: se debe observar una ligera efervescencia.

Límite de calcio

Ácido clorhídrico diluido, Solución de lantano, Soluciones estándar y Solución blanco - Proceder según se indica en el ensayo *Límite de calcio* en *Carbonato de magnesio*.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Hidróxido de Magnesio previamente secados, transferir a un vaso de precipitados, agregar 30 ml de *Ácido clorhídrico diluido* y agitar hasta disolver, calentar si fuera necesario. Transferir la solución obtenida a un matraz aforado de 200 ml que contenga 4 ml de *Solución de lantano*, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Proceder según se indica en el ensayo *Límite de Calcio* en *Carbonato de magnesio*: el límite es 1,5 %.

Límite de metales pesados <590>

Método I. Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Hidróxido de Magnesio, disolver en 15 ml de ácido clorhídrico 3 N y evaporar la solución hasta sequedad en un baño de vapor. Hacia el final de la evaporación, agitar el residuo con frecuencia, desintegrándolo hasta obtener un polvo seco, disolver el residuo en 20 ml de agua y filtrar. Al filtrado que debe ser neutro frente al papel de tornasol, agregar 2 ml de ácido acético 1 N y diluir a 25 ml con agua. El límite es 20 µg por g.

Límite de plomo <600>

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 1 g de Hidróxido de Magnesio y disolver en 20 ml de ácido clorhídrico 3 N.

Solución estándar de plomo - Emplear 10 ml de *Solución estándar de plomo* (10 ppm).

El límite es 0,001 %.

Pérdida por calcinación <670>

Someter a ignición a 800 °C, aumentando el calor gradualmente, hasta llegar a peso constante: debe perder entre 30,0 y 33,0 % de su peso.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 2,0 % de su peso.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Cumple con los requisitos del ensayo para ausencia de *Escherichia coli*.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 75 mg de Hidróxido de Magnesio previamente secado y transferir a un erlenmeyer. Agregar 2,0 ml de ácido clorhídrico 3 N y agitar por rotación hasta disolución. Agregar 100 ml de agua, ajustar a pH 7 con hidróxido de sodio 1 N (emplear papel indicador de pH, ver *Papeles y papeles indicadores* en *Reactivos y soluciones*), agregar 5 ml de solución reguladora de amoníaco - cloruro de amonio (SR) y 0,15 ml de negro de eriocromo (SR) y titular con edetato disódico 0,05 M (SV) hasta punto final color azul. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de edetato disódico 0,05 M equivale a 2,916 mg de Mg(OH)₂.

MAGNESIO, SULFATO DE

MgSO₄ · xH₂O

Monohidrato	PM: 138,4	
Heptahidrato	PM: 246,5	10034-99-8
Anhidro	PM: 120,4	7487-88-9

Definición - Sulfato de Magnesio, transformado en anhidro mediante ignición, debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de MgSO₄ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales incoloros pequeños, generalmente en forma de aguja. Es eflorescente al aire tibio y seco. Muy soluble en agua a ebullición; fácilmente soluble en agua y glicerina; moderadamente soluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Una solución de Sulfato de Magnesio 1 en 20 debe responder a los ensayos para *Magnesio* <410> y para *Sulfato* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 5,0 y 9,2, determinado sobre una solución 1 en 20.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Una porción de 1,0 g de Sulfato de Magnesio no debe contener más cloruro que el correspondiente a 0,20 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,014 %).

Límite de Hierro

Para el sulfato de magnesio destinado a la preparación de formas farmacéuticas no parenterales.

Disolver 0,50 g de Sulfato de Magnesio en 40 ml de agua y proceder según se indica en 580. *Límite de Hierro.* El límite es 20 µg por g.

Para el sulfato de magnesio destinado a la preparación de formas farmacéuticas parenterales.

[NOTA :enjuagar el material de vidrio empleado en este ensayo con ácido clorhídrico en agua 1 en 1.000.]

Solución de acetato de amonio - Transferir 250 g de acetato de amonio a un matraz aforado de 500 ml, disolver, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución de ácido ascórbico - Transferir 1,34 g de ácido ascórbico a un matraz aforado de 100 ml, disolver, completar a volumen con agua y mezclar.

[NOTA: preparar esta solución en el día de su empleo.]

Reactivo colorimétrico - Transferir 380 mg de sal disódica del ácido 3-(2-piridil)-5,6-di(2-furil)-1,2,4-triazina-5',5''-disulfónico a un matraz aforado de 100 ml, disolver en *Solución de acetato de amonio*, agitando mecánicamente si fuera necesario, completar a volumen con *Solución de acetato de amonio* y mezclar. Emplear esta solución en el día de su preparación.

Solución madre del estándar - Transferir 5,0 ml de *Solución estándar de hierro* (ver 580. *Límite de hierro*) a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con ácido clorhídrico en agua 1 en 1.000 y mezclar. Esta solución contiene 1,0 µg de hierro por ml.

Soluciones estándar - A tres matraces aforados de 50 ml, transferir 2,0; 5,0 y 10,0 ml de la *Solución madre del estándar* y diluir a 35 ml con ácido clorhídrico en agua 1 en 1.000. Estas soluciones contienen 2,0; 5,0 y 10,0 µg de hierro, respectivamente.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 10,0 g de Sulfato de Magnesio, transferir a un matraz aforado de 50 ml, diluir a 35 ml con *Ácido clorhídrico diluido* y sonicar, si fuera necesario, hasta disolver completamente.

Blanco - Transferir 35 ml de *Ácido clorhídrico diluido* a un matraz aforado de 50 ml.

Procedimiento - A cada uno de los matraces que contiene las *Soluciones estándar*, la *Solución muestra* y el *Blanco*, agregar 5 ml de *Solución de ácido ascórbico* y 5 ml de *Reactivo colorimétrico*. Completar a volumen cada solución con Acido clorhídrico en agua 1 en 1.000, mezclar y dejar reposar durante 10 minutos. Determinar las absorbancias de las *Soluciones estándar* y la *Solución muestra*, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 594 nm, con un espectrofotómetro, contra el *Blanco*. Graficar la absorbancia de las *Soluciones estándar* en función de su contenido de hierro en µg por matraz y calcular la ecuación de la recta que mejor ajuste. A partir de la ecuación obtenida, determinar el contenido de hierro *C* en µg por matraz de la *Solución muestra*. Calcular el contenido en ppm de hierro en la porción de Sulfato de Magnesio en ensayo multiplicando el contenido de hierro *C* por 0,1. El límite es 0,5 µg por g.

Límite de metales pesados <590>

Disolver 2 g de Sulfato de Magnesio en 25 ml de agua: el límite es 0,001 %.

Límite de selenio <610>

Disolver 200 mg de Sulfato de Magnesio en 50 ml de ácido nítrico 0,25 N para obtener la *Solución muestra*. El límite es 0,003 %.

Pérdida por calcinación <670>

Pesar exactamente alrededor de 1 g de Sulfato de Magnesio en un crisol, calentar a 105 °C durante 2 horas, luego someter a ignición a 450 ± 25 °C hasta peso constante: el monohidrato debe perder entre 13,0 y 16,0 %; la forma anhidra entre 22,0 y 28,0 % y la heptahidratada entre 40,0 % y 52,0 %.

Perdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: la forma anhidra no debe perder más de 2 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

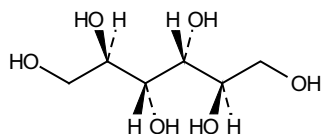
VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg del Sulfato de Magnesio obtenidos según se indica en *Pérdida por calcinación*, disolver en 100 ml de agua y la mínima cantidad de ácido clorhídrico 3 N requerida para obtener una solución límpida. Ajustar el pH de la solución a 7 con hidróxido de sodio 1 N, empleando papel indicador de pH (ver *Papeles y Papeles indicadores* en *Reactivos y Soluciones*), agregar 5 ml de solución reguladora de amoníaco-cloruro de amonio (SR) y 0,15 ml de negro de eriocromo (SR). Titular con edetato disódico 0,05 M (SV) hasta punto final color azul, realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de edetato disódico 0,05 M equivale a 6,018 mg de $MgSO_4$.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si se trata de la forma anhidra, monohidrato o heptahidrato. Indicar en el rótulo si es Sulfato de Magnesio destinado a la preparación de formas farmacéuticas parenterales o no parenterales.

MANITOL



$C_6H_{14}O_6$

PM: 182,2

69-65-8

Definición - Manitol es D-Manitol. Debe contener no menos de 98,0 por ciento de $C_6H_{14}O_6$ calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Gránulos o polvo cristalino blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en agua; muy poco soluble en alcohol.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Manitol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. [NOTA: si los espectros obtenidos presentan diferencias, disolver por separado la sustancia en ensayo y la *Sustancia de referencia* en agua, evaporar hasta sequedad y registrar nuevamente los espectros sobre los residuos].

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Propanol, acetato de etilo y agua (70:20:10).

Solución estándar A - Disolver 25 mg de Manitol SR-FA en agua y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 25 mg de Manitol SR-FA y 25 mg de *Sorbitol* en agua y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución muestra - Disolver 25 mg de Manitol en agua y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Revelador 1 - Disolver 1 g de ácido *p*-aminobenzoico en una mezcla de 18 ml de ácido acético glacial, 20 ml de agua y 1 ml de ácido fosfórico. Inmediatamente antes de su empleo, mezclar 2 volúmenes de esta solución con 3 volúmenes de acetona.

Revelador 2 - Preparar una solución de 2 mg de periodato de sodio por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 2 μ l de la *Solución muestra* y 2 μ l de la *Solución estándar A* y *B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Dejar secar la placa al aire, pulverizar sobre la placa con *Revelador 1* y dejar secar en una corriente de aire frío hasta eliminar la acetona. Calentar la placa a 100 °C durante 15 minutos, dejar enfriar y pulverizar sobre la placa con *Revelador 2*. Secar la placa en una corriente de aire frío y calentar a 100 °C durante 15 minutos: en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la mancha principal debe ser similar en color, tamaño y valor de R_f a la obtenida con la *Solución estándar A*. El ensayo sólo es válido si el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar B* presenta dos manchas completamente separadas.

C - A 5 gotas de una solución saturada de 200 mg de Manitol por ml, agregar 1 ml de cloruro férrico (SR) y 5 gotas de una solución de hidróxido de sodio al 20 %: debe formarse un precipitado amarillo. Agitar la solución vigorosamente: debe formarse una solución clara. No debe formarse precipitado por la posterior adición de solución de hidróxido de sodio al 20 %.

Aspecto de la solución

Disolver 2,0 g de Manitol en 10 ml de agua caliente: la solución debe ser clara e incolora.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 165 y 170 °C.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +137° y +145°, calculada sobre la sustancia anhidra.

Solución muestra: Transferir 1,0 g de Manitol previamente secado a un matraz aforado de 100 ml y disolver con 80 ml de una solución de molibdato de amonio 1 en 20. Completar a volumen con una solución de ácido sulfúrico 1 en 35 y agitar.

Conductividad <70>

Disolver 20,0 g de Manitol en agua libre de dióxido de carbono y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Determinar la conductividad de la solución agitando suavemente con un agitador magnético: no debe ser mayor de 20 μ S.cm⁻¹.

Azúcares reductores

A 5,0 ml de citrato cúprico alcalino (SR), agregar 1 ml de solución de 200 mg de Manitol por ml y calentar a ebullición en un baño de agua durante 5 minutos: no debe formarse más que un ligero precipitado.

Niquel

Disolver 0,5 g de Manitol en 5 ml de agua, agregar 3 gotas de solución de dimetilglioxina al 1 % en alcohol y 3 gotas de amoníaco (SR). Dejar reposar durante 5 minutos: no debe formarse coloración roja.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 0,3 % de su peso.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indica que Manitol esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas parenterales debe contener menos de 2,5 Unidades de Endotoxinas por gramo.

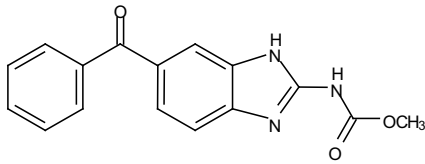
VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Manitol, previamente secado y transferir a un matraz aforado de 100 ml. Disolver y completar a volumen con agua. Transferir 10 ml de esta solución a un recipiente apropiado y agregar 50 ml de una solución preparada disolviendo 2,8 g de periodato de potasio en 200 ml de agua. Agregar gota a gota 20 ml de ácido sulfúrico concentrado para disolver y completar a 1 litro con agua. Calentar durante 15 minutos en un baño de agua, enfriar y agregar 2,5 g de ioduro de potasio. Tapar y agitar. Dejar en reposo protegiendo de la luz durante 5 minutos. Titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV) agregando 1 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. volumetría). Cada ml de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 1,8217 mg de $C_6H_{14}O_6$.

ROTULADO

Indicar en el rótulo cuando Manitol esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas parenterales.

MEBENDAZOL



$C_{16}H_{13}N_3O_3$

PM: 295,3

31431-39-7

Definición - Mebendazol es el Éster metílico del ácido (5-benzoil-1*H*-benzimidazol-2-il)-carbámico. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{16}H_{13}N_3O_3$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o débilmente amarillo. Funde aproximadamente a 290 °C. Fácilmente soluble en ácido fórmico; prácticamente insoluble en agua, en soluciones diluidas de ácidos minerales, alcohol, éter, cloruro de metileno y cloroformo.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Mebendazol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. [NOTA: si los espectros obtenidos presentan diferencias, disolver por separado la muestra y la *Sustancia de referencia* en alcohol absoluto, evaporar hasta sequedad y repetir el ensayo sobre los residuos].

B - Disolver 30,0 mg de Mebendazol en 2 ml de ácido fórmico anhidro y diluir a 100 ml con alcohol isopropílico. Transferir 2,5 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con alcohol isopropílico. Examinar entre 230 y 320 nm (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*), empleando una solución de ácido fórmico anhidro al 0,05 % v/v en alcohol isopropílico como blanco: esta solución debe presentar dos máximos a 247 y 312 nm cuyos coeficientes de extinción específica $E(1\%, 1\text{ cm})$ deben estar comprendidos entre 940 y 1.040 y entre 485 y 535, respectivamente.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol y ácido fórmico al 96 % (90:5:5).

Diluyente - Cloroformo y ácido fórmico al 96 % (9:1).

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Mebendazol SR-FA, transferir a un matraz aforado de 10 ml y disolver en 1,0 ml de ácido fórmico al 96 %. Completar a volumen con cloroformo y mezclar para obtener una solución con una concentración de aproximadamente 5 mg por ml.

Solución estándar diluida - Transferir 1,0 ml de la *Solución estándar* a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Mebendazol, transferir a un matraz aforado de 10 ml y disolver en 1,0 ml de ácido fórmico al 96 %. Completar a volumen con cloroformo y mezclar.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra*, 10 μ l de la *Solución estándar* y 10 μ l de la *Solución estándar diluida*.

Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore.

Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar al obtenido con la *Solución estándar* y, a excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ninguna mancha debe ser mayor en tamaño e intensidad a la obtenida con la *Solución estándar diluida* (0,5 %).

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

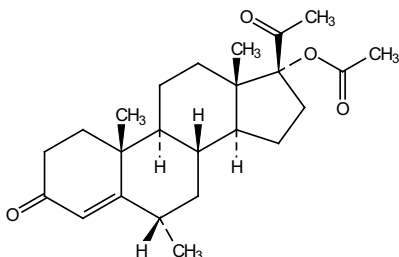
Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Mebendazol, disolver en 3 ml de ácido fórmico anhidro y agregar 40 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 29,53 mg de $C_{16}H_{13}N_3O_3$.

MEDROXIPROGESTERONA, ACETATO DE



$C_{24}H_{34}O_4$

PM: 386,5

71-58-9

Definición - Acetato de Medroxiprogesterona es 17 α -Acetoxi-6 α -metilpregn-4-eno-3,20-diona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_{24}H_{34}O_4$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Estable al aire. Fácilmente soluble en cloroformo; soluble en acetona y dioxano; moderadamente soluble en etanol y metanol; poco soluble en éter; insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Acetato de Medroxiprogesterona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: alcohol.

Concentración: 10 μ g por ml.

Las absorbancias a 241 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 2,0 %.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +45° y +51°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en dioxano.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 205 y 209 °C.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Proceder según se indica en *Valoración*, excepto que el caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Acetato de Medroxiprogesterona SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 50 μ g por ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 62,5 mg de Acetato de Medroxiprogesterona, transferir a un matraz aforado de 25 ml, disolver en *Fase móvil*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Solución de aptitud del sistema - Disolver cantidades apropiadas de *Acetato de Megestrol* y *Acetato de Medroxiprogesterona SR-FA* en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 40 μ g por ml de cada uno.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de acetato de megestrol y acetato de medroxiprogesterona no debe ser mayor de 1,5. Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 3 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Acetato de Medroxiprogesterona en ensayo, en relación a la respuesta del pico principal obtenido en la *Solución estándar*. No debe contener más de 1,0 % de cualquier impureza individual y no más de 1,5 % de impurezas totales.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua y acetonitrilo (3:2). Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Acetato de Medroxiprogesterona

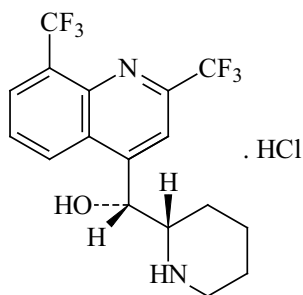
terona SR-FA en acetonitrilo para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Acetato de Medroxiprogesterona, transferir a un matraz aforado de 25,0 ml, disolver en acetonitrilo, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{24}H_{34}O_4$ en la porción de Acetato de Medroxiprogesterona en ensayo.

MEFLOQUINA, CLORHIDRATO DE



$C_{17}H_{16}F_6N_2O \cdot HCl$ PM: 414,8 51773-92-3

Definición - Clorhidrato de Mefloquina es Monoclorhidrato de (*R**,*S**)-(±)-α-2-piperidinil-2,8-bis(trifluorometil)-4-quinolinometanol. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{17}H_{16}F_6N_2O \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o ligeramente amarillo. Funde aproximadamente a 260 °C, con descomposición. Fácilmente soluble en metanol; soluble en alcohol; muy poco soluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de mefloquina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. [NOTA: si los espectros obtenidos presentan diferencias, disolver por separado la muestra y la *Sustancia de referencia* en metanol, evaporar a sequedad y registrar nuevamente los espectros].

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor. [NOTA: desarrollar previamente la placa con una mezcla de cloruro de metileno y metanol (80:20) y secar entre 100 y 105 °C durante 15 minutos antes de emplear].

Fase móvil - Cloruro de metileno, metanol y ácido acético glacial (80:10:10).

Solución muestra - Disolver 8 mg de Clorhidrato de Mefloquina en metanol y diluir a 5 ml con el mismo solvente.

Solución estándar A - Disolver 8 mg de Clorhidrato de Mefloquina SR-FA en metanol y diluir a 5 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Diluir 2,5 ml de *Solución muestra* a 100 ml con metanol.

Solución estándar C - A 1 ml de la *Solución estándar B*, agregar 1 ml de solución de Sulfato de Quinidina al 0,0016 % en metanol.

Revelador 1 - Iodoplatinato (SR) y ácido sulfúrico (40:1). [NOTA: preparar esta mezcla inmediatamente antes de su uso].

Revelador 2 - Peróxido de hidrógeno (SR).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 20 µl de *Solución muestra* y 20 µl de las *Soluciones estándar A, B y C*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente la mitad de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente, dejar secar bajo una corriente de aire caliente durante 15 minutos y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 1* y luego con *Revelador 2*. La mancha principal obtenida a partir de la *Solución muestra* debe ser similar en valor de R_f , tamaño e intensidad a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A*. El ensayo solo es válido si el cromatograma obtenido con la *Solución estándar C* presenta dos manchas completamente separadas.

C - Una solución de Clorhidrato de Mefloquina debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

D - A 20 mg de Clorhidrato de Mefloquina agregar 0,2 ml de ácido sulfúrico; debe presentar fluorescencia azul bajo la luz ultravioleta a 366 nm.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -0,2 y +0,2 °.

Solución muestra: 50 mg por ml, en metanol.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm, una precolumna de 2,5 cm × 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro totalmente encapada y una columna de 25 cm × 4 mm con la misma fase estacionaria. El caudal debe ser aproximadamente 0,8 ml por minuto. Equilibrar la columna con la *Fase móvil*, a un caudal de 2 ml por minuto durante aproximadamente 30 minutos.

Fase móvil - Disolver 1 g de bromuro de tetraheptilamonio en una mezcla de acetonitrilo, solución de sulfato ácido de sodio al 0,15 % y

metanol (40:40:20). Mezclar, filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Disolver 100 mg de Clorhidrato de Mefloquina en *Fase móvil* y diluir a 25,0 ml con el mismo solvente.

Solución estándar A - Diluir 1,0 ml de la *Solución muestra* a 50,0 ml con *Fase móvil*. Diluir 1,0 ml de esta solución a 20,0 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 8 mg de Clorhidrato de Mefloquina SR-FA y 8 mg de *Sulfato de Quinidina* en *Fase móvil* y diluir a 50,0 ml con el mismo solvente. Diluir 5,0 ml de esta solución a 100,0 ml con *Fase móvil*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*)- Cromatografiar la *Solución estándar B* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de quinidina y mefloquina no debe ser menor de 8,5.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución muestra* y las *Soluciones estándar A* y *B*, registrar los cromatogramas durante al menos diez veces el tiempo de retención del pico principal y medir las respuestas de todos los picos. Los tiempos de retención deben ser aproximadamente 2 minutos para quinidina, 4 minutos para mefloquina, 15 minutos para (RS)-[2,8-bis(trifluorometil)quinolin-4-il](piridin-2-il)metanol (impureza B) y 36 minutos para [2,8-bis(trifluorometil)quinolin-4-il](piridin-2-il)metanona (impureza A). En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* la respuesta de ningún pico con un tiempo de retención relativo de aproximadamente 0,7 con respecto a la mefloquina debe ser mayor a dos veces la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar A* (0,2 %); a excepción del pico principal, la respuesta de ningún pico debe ser mayor que la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar A* (0,1 %) y la suma de las respuestas de todos los picos no debe ser mayor a cinco veces la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar A* (0,5 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor a 0,2 veces la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar A* (0,02 %).

Límite de metales pesados <590>

Método VI. Preparar la *Solución muestra* a partir de 1,0 g de Clorhidrato de Mefloquina y la *Solución estándar* empleando 2 ml de *Solución estándar de plomo*(10 ppm). El límite es 0,002 %.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 3,0 %.

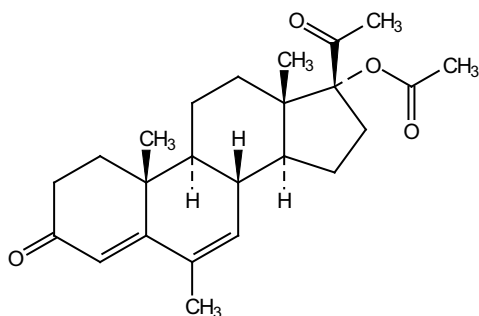
Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 350 mg de Clorhidrato de Mefloquina, disolver en 15 ml de ácido fórmico anhidro y agregar 40 ml de anhídrido acético. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 41,48 mg de $C_{17}H_{16}F_6N_2O \cdot HCl$

MEGESTROL, ACETATO DE



$C_{24}H_{32}O_4$ PM: 384,5 595-33-5

Definición - Acetato de Megestrol es el Acetato de 17-hidroxi-6-metilpregna-4,6-dieno-3,20-diona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_{24}H_{32}O_4$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Es inestable en soluciones acuosas de pH 7 o mayor. Muy soluble en cloroformo; soluble en acetona; moderadamente soluble en alcohol; poco soluble en aceites fijos y éter; insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Acetato de Megestrol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Disolución completa <280>

Debe cumplir con los requisitos, 500 mg de Acetato de Megestrol se deben disolver en 10 ml de acetona.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 213 y 220 °C; el intervalo de fusión no debe ser mayor de 3 °C.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +8,8° y +12,0°; a 20 °C.

Solución muestra: 20 mg de Acetato de Megestrol por ml en cloroformo.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,5 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %. Se debe emplear una cápsula de platino y calcinar a 600 ± 25 °C.

Límites de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 30 cm \times 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo y agua (55:45). Mezclar y desgasificar. La concentración de acetonitrilo debe poder variarse levemente para cumplir con los requisitos de *Aptitud del sistema* y para proporcionar un tiempo de elución apropiado.

Diluyente - Agua y acetonitrilo (60:40).

Solución del estándar interno - Pesar exactamente alrededor de 80 mg de *Propilparabeno*, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en acetonitrilo, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Preparación estándar - Pesar exactamente una cantidad de Acetato de Megestrol SR-FA para preparar una solución en acetonitrilo de aproximadamente 1 mg por ml. Transferir 4,0 ml de esta solución y 5,0 ml de la *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Esta solución debe contener aproximadamente 80 μ g de acetato de megestrol por ml.

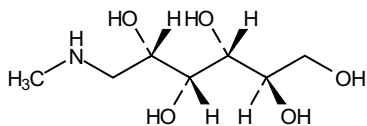
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Acetato de Megestrol, transferir a un matraz aforado de 100 ml. Disolver en acetonitrilo, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Transferir 4,0 ml de esta solución y 5,0 ml de *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,4 para propilparabeno y 1,0 para acetato de megestrol; la resolución *R* entre los picos de propilparabeno y acetato de megestrol no debe ser menor de 8,0 y la desviación estándar relativa del cociente de la respuesta de los picos de acetato de megestrol en relación a la respuesta de

los picos de propilparabeno para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 25 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*; registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{24}H_{32}O_4$ en la porción de Acetato de Megestrol en ensayo, relacionando las respuestas de los picos de acetato de megestrol y del estándar interno obtenidas a partir de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*.

MEGLUMINA



$C_7H_{17}NO_5$ PM: 195,2 6284-40-8

Definición - Meglumina es 1-Deoxi-1-(metilamino)-D-glucitol. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_7H_{17}NO_5$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales o polvo blanco a amarillento, inodoro. Fácilmente soluble en agua; moderadamente soluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Transferir 250 mg de Meglumina a un tubo de centrifuga seco de 50 ml, agregar 500 mg de periodato de sodio y agregar rápidamente y de una vez 5 ml de agua. Dejar reposar: la solución se debe tornar amarilla al instante y debe producir calor. A continuación, se debe producir un cambio de color de amarillo oscuro a marrón anaranjado (color óxido) y luego de 20 minutos, la solución de color óxido se debe tornar turbia. Agregar 2 ml de hidróxido de sodio 2,5 N: la mezcla se debe tornar amarillo claro y luego transparente.

Absorbancia de la solución

Una solución de Meglumina 1 en 5 debe ser transparente y su absorbancia, determinada en una celda de 1 cm, a 420 nm, con un espectrofotómetro, empleando agua como blanco, no debe ser mayor de 0,030.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 128 y 132 °C.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -15,7° y -17,3°.

Solución muestra: 100 mg por ml, en agua

[NOTA: no secar la muestra.]

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Disolver 1 g de Meglumina en 20 ml de agua, agregar fenoltaleína (SR), neutralizar con ácido

clorhídrico 3 N y diluir con agua a 25 ml. No debe contener más de 0,002 %.

Ausencia de sustancias reductoras

Agregar 5 ml de tartrato cúprico alcalino (SR) a 5 ml de una solución de Meglumina 1 en 20 y calentar a ebullición: el color de la solución no debe cambiar.

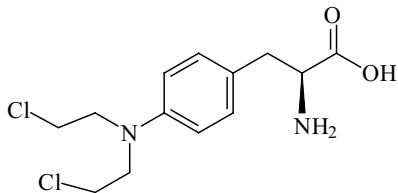
Pérdida por secado <680>

Secar aproximadamente 1 g a 105 °C hasta peso constante: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Meglumina, disolver en 40 ml de agua, agregar 2 gotas de rojo de metilo (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,1 N (SV). Cada ml de ácido clorhídrico 0,1 N equivale a 19,52 mg de $C_7H_{17}NO_5$.

MELFALÁN



$C_{13}H_{18}Cl_2N_2O_2$ PM: 305,2 148-82-3

Definición - Melfalán es 4-[Bis(2-cloroetil)amino]-L-fenilalanina. Debe contener no menos de 93,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_{13}H_{18}Cl_2N_2O_2$, calculado sobre la sustancia seca y libre de cloro iónico. Melfalán debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo casi blanco, brillante. Funde aproximadamente a 180 °C, con descomposición. Soluble en ácidos minerales diluidos; poco soluble en alcohol y metanol; prácticamente insoluble en agua, cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Melfalán SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de vidrio inactínico de cierre perfecto.

Precaución - Manipular el Melfalán con sumo cuidado ya que es extremadamente activo.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: metanol

Concentración: 5 µg por ml

B - Preparar una solución de Melfalán 1 en 10.000 en alcohol. Transferir 1 ml de esta solución a un tubo de ensayo con tapón de vidrio y agregar 1 ml de solución reguladora de ftalato ácido pH 4,0 (ver *Soluciones reguladoras en Reactivos y Soluciones*), 1 ml de una solución de 4-(p-nitrobencil)piridina 1 en 20 en acetona y 1 ml de solución fisiológica (SR). Calentar en un baño de agua a 80 °C durante 20 minutos y enfriar rápidamente. Agregar 10 ml de alcohol y 1 ml de hidróxido de potasio 1 N: se debe desarrollar coloración violeta a violeta rojiza.

C - Calentar 100 mg de Melfalán con 10 ml de hidróxido de sodio 0,1 N en un baño de agua durante 10 minutos. Acidificar con ácido nítrico 2 N: esta solución debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -30° y -36°.

Solución muestra: 7 mg por ml, en metanol

[NOTA: calentar suavemente antes de la determinación].

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,3 %.

Determinación de nitrógeno <200>

Método II. Disolver aproximadamente 325 mg de Melfalán, exactamente pesados, en ácido sulfúrico 0,1 N (SV): no debe contener menos de 8,90 ni más de 9,45 % de nitrógeno, sobre la sustancia seca.

Cloro iónico

Disolver aproximadamente 500 mg de Melfalán, exactamente pesados, en una mezcla de 75 ml de agua y 2 ml de ácido nítrico. Dejar reposar durante 2 minutos y titular con nitrato de plata 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente (ver 780. *Volumetría*): no debe consumir más de 1,0 ml de nitrato de plata 0,1 N por cada 500 mg de muestra.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 105 °C hasta peso constante: no debe perder más de 7,0 % de su peso.

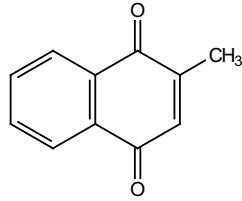
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Melfalán, transferirlos a un vaso de precipitados y disolver en 20 ml de hidróxido de sodio 0,5 N. Cubrir el vaso con un vidrio de reloj y calentar a ebullición durante 30 minutos, agregando agua, si fuera necesario, para mantener el volumen de la solución. Enfriar, neutralizar con ácido acético, frente a fenoltaleína (SR) y agregar 1 ml de ácido acético en exceso. Titular con nitrato de plata 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente, empleando un sistema de electrodos de plata-calomel, siendo este último modificado para contener una solución saturada de sulfato de potasio. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Calcular el volumen en ml de nitrato de plata 0,1 N que equivale al cloro iónico presente en la porción de Melfalán en ensayo, a partir de los resultados obtenidos en *Cloro iónico*, y restar este volumen al consumido durante la titulación. Cada ml de nitrato de plata 0,1 N equivale a 15,26 mg de $C_{13}H_{18}Cl_2N_2O_2$.

MENADIONA



$C_{11}H_8O_2$ PM: 172,2 58-27-5

Sinonimia - Vitamina K_3 .

Definición - Menadiona es 2-Metil-1,4-naftalenodiona. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{11}H_8O_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino amarillo brillante, prácticamente inodoro. Se altera por la luz solar. Fácilmente soluble en tolueno; soluble en éter; moderadamente soluble en alcohol y metanol; prácticamente insoluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Menadiona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

Precaución - Menadiona es irritante para el tracto respiratorio y la piel.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Disolver aproximadamente 10 mg de Menadiona en 1 ml de alcohol, agregar 1 ml de ácido clorhídrico y calentar en un baño de agua. Se debe observar la aparición de color rojo.

Determinación del punto de fusión <260>

Método I. Entre 105 y 108 °C.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Sustancias relacionadas

[NOTA: realizar todos los ensayos en ausencia de luz intensa].

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Ciclohexano, cloruro de etileno, acetona y nitrometano (90:5:2:1).

Solución muestra - Disolver 200 mg de Menadiona en acetona y diluir hasta 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar - Diluir 0,5 ml de la *Solución muestra* hasta 100 ml con acetona.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 μ l de la *Solución muestra* y 5 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Secar la placa con una corriente de aire caliente. Repetir las operaciones de desarrollo y de secado dos veces. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, cualquier mancha, excepto la mancha principal, no debe ser más intensa que la obtenida en el cromatograma con la *Solución estándar* (0,5 %).

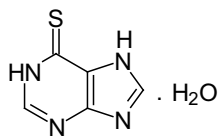
Pérdida por secado <680>

Secar sobre pentóxido de fósforo a una presión entre 10 y 20 mm Hg, durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 150 mg de Menadiona en un matraz provisto con un tapón con válvula superpuesta, disolver en 15 ml de ácido acético glacial, agregar 15 ml de ácido clorhídrico diluido y 1 g de cinc en polvo, tapar el matraz, agitar y dejar reposar en la oscuridad durante 1 hora, agitando de vez en cuando. Filtrar la solución a través de algodón y lavar tres veces con 10 ml de agua libre de dióxido de carbono. Reunir el filtrado y los líquidos de lavado y agregar 0,1 ml de ferroína (SR). Titular de inmediato con nitrato cérico amónico 0,1 N (SV). Cada ml de nitrato cérico amónico 0,1 N equivale a 8,61 mg de $C_{11}H_8O_2$.

MERCAPTOPURINA



$C_5H_4N_4S \cdot H_2O$ PM: 170,2 6112-76-1

Definición - Mercaptopurina es 1,7-Dihidro-6H-purina-6-tiona. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_5H_4N_4S$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino, amarillo. Funde con descomposición a temperaturas mayores de 308 °C. Fácilmente soluble en alcohol y en soluciones de álcalis diluidos; poco soluble en ácidos; insoluble en acetona, agua y éter.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción ultravioleta <470>.

Concentración: 5 µg por ml.

Solvente: ácido clorhídrico 0,1 N

Las absorptividades a 325 nm, calculadas con respecto a la sustancia anhidra, no deben diferir en más de 3,0 %. El cociente entre las absorbancias a 255 y 325 (A_{255}/A_{325}) no debe ser mayor de 0,06.

B - Disolver aproximadamente 20 mg de Mercaptopurina en 20 ml de alcohol. Calentar a 60 °C y agregar 1 ml de solución saturada de acetato mercurico (SR) en alcohol. Se debe formar un precipitado blanco.

C - Disolver aproximadamente 20 mg de Mercaptopurina en 20 ml de alcohol. Calentar a 60 °C y agregar 1 ml de una solución 10 mg de acetato de plomo por ml en alcohol. Se debe formar un precipitado amarillo.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No debe contener más de 12,0 %.

Límite de hipoxantina

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetona, agua y amoníaco concentrado (90:7:3)

Solución estándar - Disolver 10 mg de hipoxantina con 10 ml de dimetilsulfóxido y diluir a 100 ml con metanol.

Solución muestra - Disolver 50 mg de Mercaptopurina con 1 ml de dimetilsulfóxido y diluir a 10 ml con metanol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de la *Solución muestra* y 5 µl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido la mitad de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm: cualquier mancha correspondiente a hipoxantina en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser más intensa que la mancha obtenida con la *Solución estándar* (2,0 %).

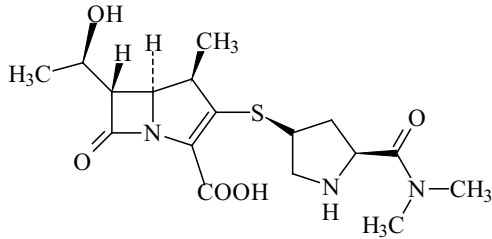
Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Mercaptopurina y disolver en 50 ml de dimetilformamida. Titular con hidróxido de tetrabutilamonio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de tetrabutilamonio 0,1 N (SV) equivale a 15,22 mg de $C_5H_4N_4S$.

MEROPENEM



$C_{17}H_{25}N_3O_5S \cdot 3H_2O$ PM: 437,5 119478-56-7

Anhidro PM: 383,5 96036-03-2

Definición - Meropenem es Ácido [4*R*-[3-(3*S**,5*S**),4*α*,5*β*,6*β*(*R**)]]-3-[[5-[(dimetilamino)carbonil]-3-pirrolidinil]tio]-6-(1-hidroxietil)-4-metil-7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-eno-2-carboxílico, trihidrato. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{17}H_{25}N_3O_5S$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales incoloros a blancos. Soluble en dimetilformamida y en solución de fosfato monobásico de potasio al 5 %; moderadamente soluble en agua; muy poco soluble en alcohol; prácticamente insoluble en acetona y éter.

Sustancia de referencia - Meropenem SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarrojo <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: agua

Concentración: 30 µg por ml

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -17° y -21°, a 20 °C.

Solución muestra: 5 mg por ml, en agua.

Determinación del pH <250>

Entre 4,0 y 6,0; determinado sobre una solución 1 en 100.

Determinación de agua <120>

Titulación coulombimétrica. Entre 11,4 y 13,4 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %. [NOTA: someter a ignición a 500 ± 50 °C; emplear un desecador conteniendo sílica gel].

Límite de acetona

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de 2 m × 3,0 mm con un soporte constituido por un copolímero rígido de estireno-divinilbenceno con un área superficial nominal de menos de 50 m² por g y un diámetro de poro promedio de 0,3 a 0,4 µm, mantenida a 150 °C. Mantener el inyector aproximadamente a 170 °C. Se debe emplear nitrógeno como gas transportador, ajustando el caudal de modo de obtener un tiempo de retención para el pico de acetona de aproximadamente 3 minutos.

Solución del estándar interno - Preparar una solución de acetato de etilo en dimetilformamida que contenga 0,05 µl de acetato de etilo por ml.

Solución estándar - Transferir aproximadamente 50 mg de acetona, exactamente pesados, a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con dimetilformamida y mezclar. A 1,0 ml esta solución, agregar 10,0 ml de *Solución del estándar interno* y mezclar.

Solución muestra - Disolver 100 mg de Meropenem, exactamente pesados, en 0,2 ml de dimetilformamida y 2,0 ml de *Solución del estándar interno*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 2 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos de acetona y del estándar interno. Calcular el porcentaje de acetona en la porción de Meropenem en ensayo, a partir de las respuestas de los picos de acetona, relativos al estándar interno, obtenidos a partir de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. No debe contener más de 0,05 % de acetona.

Pureza cromatográfica

Ácido fosfórico diluido y Diluyente - Proceder según se indica en *Valoración*.

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 220 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. Mantener la columna aproximadamente a 40 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,6 ml por minuto.

Fase móvil - Transferir 1,0 ml de trietilamina a un matraz aforado de 1 litro que contenga 900 ml de agua. Ajustar a pH $5,0 \pm 0,1$ con *Ácido fosfórico diluido*, completar a volumen con agua y mezclar. Agregar a solución 70 ml de acetonitrilo. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Preparar una solución de Meropenem SR-FA en *Diluyente* de aproximadamente 0,025 mg por ml. [NOTA: almacenar esta solución en un refrigerador inmediatamente luego de su preparación y emplearla dentro de las 24 horas de preparada].

Solución muestra - Disolver una cantidad exactamente pesada de Meropenem en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 5 mg por ml. [NOTA: preparar en el momento de su uso.]

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 2.500 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 1,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*. Registrar los cromatogramas durante al menos tres veces el tiempo de retención del pico de meropenem en la *Solución muestra* y medir las respuestas de todos los picos. El tiempo de retención del pico de meropenem esta comprendido entre 5 y 7 minutos. El Meropenem puede presentar dos impurezas principales con tiempos de retención relativos de 0,45 y 1,9. Calcular el porcentaje de cada impureza individual en el cromatograma de la *Solución muestra*, en relación a la repuesta del pico de meropenem en la *Solución estándar*. No debe contener más de 0,3 % de cualquiera de las dos impurezas principales, calculadas sobre la sustancia seca; no más de 0,1 % de cualquier otra impureza individual, calculada sobre la sustancia seca y la suma de todas ellas no debe ser mayor al 0,3 %.

Límite de metales pesados

Reactivo de sulfuro de sodio - Disolver 5 g de sulfuro de sodio en una mezcla de 10 ml de agua y 30 ml de glicerina. [NOTA: conservar esta solución en un envase inactivo, completamente lleno y emplear dentro de los 3 meses de preparada].

Solución muestra - Transferir 1,0 g de Meropenem, exactamente pesado, a un crisol de cuarzo o porcelana. Tapar sin presionar y carbonizar mediante ignición suave. Dejar enfriar, agregar 2 ml de ácido nítrico y 5 gotas de ácido sulfúrico y calentar cuidadosamente hasta que se produzcan vapores blancos. Someter a ignición entre 500 y 600 °C. Enfriar, agregar 2 ml de ácido clorhídrico y evaporar en un baño de agua hasta sequedad. Humedecer el residuo con 3 gotas de ácido clorhídrico, agregar 10 ml de agua caliente y calentar durante 2 minutos. Agregar 1 gota de fenoltaleína (SR) y luego amon-

íaco (SR), gota a gota, hasta que la solución desarrolle un color rojo pálido. Agregar 2 ml de ácido acético 1 N. Filtrar, si fuera necesario, para obtener una solución limpia; lavando el filtro con 10 ml de agua. Transferir el filtrado y el líquido de lavado a un tubo de Nessler de 50 ml y agregar agua hasta 50 ml.

Solución estándar - Evaporar una mezcla de 2 ml de ácido nítrico, 5 gotas de ácido sulfúrico y 2 ml de ácido clorhídrico en un baño de agua. Luego evaporar hasta sequedad en un baño de arena caliente y humedecer el residuo con 3 gotas de ácido clorhídrico. Proceder según se indica para *Solución muestra* desde donde dice "agregar 10 ml de agua caliente...", excepto que el volumen de agua que debe agregarse en el tubo de Nessler debe ser para completar 49 ml en lugar de 50 ml. Agregar al tubo de Nessler 1,0 ml de *Solución estándar de plomo (10 ppm)* (ver 590. *Límite de metales pesados*).

Procedimiento - Agregar 1 gota de *Reactivo de sulfuro de sodio* a los tubos que contienen la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, mezclar y dejar reposar durante 5 minutos: el color en el tubo que contiene a la *Solución muestra* no debe ser más oscuro que el del tubo de la *Solución estándar* (0,001 %).

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que Meropenem está destinado a la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral, no debe contener más de 0,125 Unidades de Endotoxina por mg de Meropenem.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que Meropenem es estéril, debe cumplir con los requisitos según se indica en *Método de filtración por membrana*.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 300 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Ácido fosfórico diluido - Diluir 10 ml de ácido fosfórico con agua hasta 100 ml.

Diluyente - Agregar 1,0 ml de trietilamina a 900 ml de agua. Ajustar a pH 5,0 ± 0,1 con *Ácido fosfórico diluido*, diluir a 1 litro con agua y mezclar.

Fase móvil - *Diluyente* y metanol (5:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Meropenem SR-FA y transferir a un matraz aforado de 50 ml. Disolver en *Diluyente*, agitando por rotación para facilitar la disolución, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. [NOTA: almacenar esta solución en un refrigerador inmediatamente luego de su preparación y emplearla dentro de las 24 horas de preparada].

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Meropenem y transferir a un matraz aforado de 50 ml. Disolver en *Diluyente*, agitando por rotación para facilitar la disolución, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Emplear esta solución inmediatamente después de preparada.

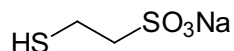
Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 2.500 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 1,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 5 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. El tiempo de retención para el pico de meropenem está comprendido entre 6 y 8 minutos. Calcular la cantidad de $C_{17}H_{25}N_3O_5S$ en la porción de Meropenem en ensayo.

ROTULADO

Cuando Meropenem esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral indicar en el rótulo que es estéril.

MESNA



$\text{C}_2\text{H}_5\text{NaO}_3\text{S}_2$ PM: 164,2 80-49-9

Definición - Mesna es la Sal sódica del ácido 2-mercaptoetansulfónico. Debe contener no menos de 96,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $\text{C}_2\text{H}_5\text{NaO}_3\text{S}_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o ligeramente amarillo. Higroscópico. Fácilmente soluble en agua; moderadamente soluble en alcohol; prácticamente insoluble en ciclohexano.

Sustancias de referencia - Impureza C de Mesna SR-FA: Ácido 2-(acetilsulfanil) etanosulfónico. Impureza D de Mesna SR-FA: Ácido 2,2'-(disulfanil)bis etanosulfónico.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. Proceder según se indica en *Identificación mediante espectros de referencia*.

B - Debe responder a los ensayos para Sodio <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 6,0. Realizar la determinación sobre una solución de Mesna al 10 % en agua libre de dióxido de carbono.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 60 °C durante 2 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 235 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 2,94 g de fosfato monobásico de potasio, 2,94 g de fosfato dibásico de potasio y 2,6 g de sulfato ácido de tetrabutilamonio en aproximadamente 600 ml de agua. Ajustar a pH 2,3 con ácido fosfórico, agregar 335 ml de metanol y completar a 1 litro con agua.

Solución estándar A - Pesarse exactamente alrededor de 0,4 mg de Impureza C de

Mesna SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver con *Fase móvil* y completar a volumen con el mismo solvente.

Solución estándar B - Pesarse exactamente alrededor de 6,0 mg de Impureza D de Mesna SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver y completar a volumen con *Fase móvil*.

Solución estándar C - Diluir 3,0 ml de *Solución muestra* a 10 ml con *Fase móvil*. Diluir 1,0 ml de la solución anterior a 100 ml con *Fase móvil*.

Solución estándar D - Diluir 3,0 ml de *Solución estándar C* a 10 ml con *Fase móvil*. A la solución anterior agregar 10 ml de *Solución estándar A*.

Solución muestra - Pesarse exactamente alrededor de 100 mg de Mesna, transferir a un matraz aforado de 25 ml, disolver y completar a volumen con *Fase móvil*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar D* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de mesna e impureza C no debe ser menor de 3,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de las *Soluciones estándar A, B, C y D* y la *Solución muestra*. Registrar los cromatogramas durante aproximadamente cuatro veces el tiempo de retención del pico de mesna y medir las respuestas de todos los picos. Los tiempos de retención relativos al pico de mesna son 0,6 para el ácido 2-(carbamidodilsulfanil)etanosulfónico (impureza A) y para el ácido 2-[[guanidino](imino)metil]sulfanil]etanosulfónico (impureza B); 0,8 para el ácido 2-(4,6-diamino-1,3,5-triazin-2-il)sulfanil]etanosulfónico (impureza E); 1,4 para impureza C; y 2,3 para impureza D. Factor de corrección *F*: para el cálculo de los contenidos de las impurezas A, B y E multiplicar las áreas de los picos de las mismas por 0,01. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta del pico correspondiente a impureza C no debe ser mayor que la respuesta del pico obtenido con la *Solución estándar A* (0,2 %); la respuesta del pico correspondiente a impureza D no debe ser mayor que la respuesta del pico obtenido con la *Solución estándar B* (3,0 %); las respuestas de los picos correspondientes a las impurezas A, B y E no deben ser mayores, cada una de ellas, a la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar C* (0,3 %); ninguna otra impureza debe ser mayor que un tercio de la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar C* (0,1 %); y la suma de todas las impurezas, a excepción de las impurezas A, B, C y D, no debe ser mayor a la respuesta del

pico principal obtenido con la *Solución estándar C* (0,3 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor a 0,15 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar C* (0,045 %).

Límite de metales pesados <590>

Método IV. Preparar la *Solución muestra* disolviendo 5 g de Mesna en agua libre de dióxido de carbono y completando a 50 ml con el mismo solvente. Preparar la *Solución estándar* empleando la *Solución estándar de plomo (1 ppm)*. No más de 10 ppm.

Límite de cloruro

Solución estándar - Emplear una mezcla de 10 ml de *Solución de cloruro (5 ppm)* (SL) y 5 ml de agua.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 1 g de Mesna, transferir a un matraz aforado de 5 ml, disolver en agua libre de dióxido de carbono y completar a volumen con el mismo solvente. Diluir 1,0 ml de esta solución a 15 ml con agua.

Procedimiento - A 15 ml de *Solución muestra* agregar 1 ml de ácido nítrico al 12,5 % y transferir a un tubo de Nessler conteniendo 1 ml de nitrato de plata (SR) [NOTA: mantener esta solución al abrigo de la luz.] Proceder del mismo modo con un control preparado a partir de 5 ml de agua y 10 ml de *Solución de cloruro (5 ppm)* (SL) y examinar los tubos lateralmente sobre fondo negro. Dejar reposar 5 minutos al abrigo de la luz: la opalescencia de la *Solución muestra* no debe ser más intensa que la del control (250 ppm).

Límite de sulfato

Solución muestra - Disolver 1,5 g de Mesna en agua libre de dióxido de carbono y completar a 50 ml con el mismo solvente.

Procedimiento - A 1,5 ml de *Solución de sulfato (10 ppm)* (SL) agregar 1 ml de solución de cloruro de bario al 25 %, agitar y dejar reposar durante 1 minuto. Agregar 15 ml de *Solución muestra* y 0,5 ml de ácido acético. Proceder del mismo modo con un control preparado a partir de 15 ml de *Solución de sulfato (10 ppm)* (SL). Luego de 5 minutos, si la *Solución muestra* presenta opalescencia, esta no debe ser más intensa que la del control (300 ppm).

Límite de edetato disódico

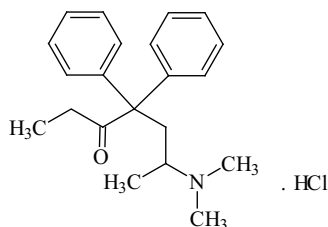
Disolver 4,0 g de Mesna en 90 ml de agua y ajustar a pH 4,5 con ácido clorhídrico 0,1 M. Agregar 10 ml de solución reguladora de acetato de pH 4,5 y 50 ml de 2-propanol. Agregar 2 ml de una solución de ditizona en 2-propanol de aproximadamente 25 mg por ml. Titular con sulfato de cinc 0,01 M hasta que la solución vire del gris azulado al rosa. Cada ml de sulfato de

cinc 0,01 M equivale a 3,72 mg de $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot H_2O$. El límite no debe ser mayor de 500 ppm.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 120 mg de Mesna y disolver en 10 ml de agua. Agregar 10 ml de ácido sulfúrico 1 N (SV) y 10 ml de iodo 0,1 N (SV). Titular con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 1 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Cada ml de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 16,42 mg de $C_2H_5NaO_3S_2$.

METADONA, CLORHIDRATO DE



$C_{21}H_{27}NO \cdot HCl$ PM: 345,9 1095-90-5

Definición - Clorhidrato de Metadona es el Clorhidrato de 6-dimetilamino-4,4-difenil-3-heptanona. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_{21}H_{27}NO \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales blancos o polvo cristalino blanco. Fácilmente soluble en alcohol y cloroformo; soluble en agua; prácticamente insoluble en éter y glicerina.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Metadona SR-FA. Clorhidrato de Imipramina SR-FA. Clorhidrato de Ciclobenzaprina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos herméticos, a temperatura ambiente.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Una solución de Clorhidrato de Metadona debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 6,5, determinado sobre una solución 1,0 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama, un inyector de flujo dividido 1:100 y una columna de sílica fundida de 50 m x 0,32 mm con fase estacionaria constituida por poli(dimetil)(difenil)siloxano de 1,05 μ m de espesor. Mantener el inyector y el detector a 200 y 250 °C, respectivamente. Aumentar la temperatura

de la columna de 150 a 250 °C, a razón de 25 °C por minuto y mantener a esta temperatura durante 31 minutos. Emplear helio como gas transportador con un caudal de 1,2 ml por minuto.

Solución muestra - Disolver 10 mg de Clorhidrato de Metadona en 10 ml de metanol.

Solución estándar - Diluir 1,0 ml de la *Solución muestra* a 10,0 ml con metanol. Diluir 1,0 ml de la solución anterior a 100,0 ml con metanol.

Solución de resolución - Disolver 5 mg de Clorhidrato de Imipramina SR-FA y 5 mg de Clorhidrato de Ciclobenzaprina SR-FA en 100,0 ml de metanol.

Aptitud del sistema - Cromatografiar la *Solución de resolución* según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de imipramina y ciclobenzaprina no debe ser menor de 3,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 2 μ l) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. Registrar los cromatogramas durante aproximadamente 1,5 veces el tiempo de retención del pico de metadona y medir las respuestas de todos los picos. Identificar los picos que se observen en la *Solución muestra* según los tiempos de retención relativos indicados en la siguiente tabla:

Sustancia	t _{rr}
Difenilacetoniitrilo (impureza E)	0,44
(3RS)-4-(dimetilamino)-3-metil-2,2-difenilbutanonitrilo (impureza C. Isodidiavalo)	0,81
(4RS)-4-(dimetilamino)-2,2-difenilbutanonitrilo (impureza B. Didiavalo)	0,89
(5RS)-6-(dimetilamino)-5-metil-4,4-difenilhexan-3-ona (impureza D. Isometadona)	0,98
Metadona	1,00
(2RS)-4-imino-N,N,2-trimetil-3,3-difenilhexan-1-amina (impureza A. Isometadona ketimina)	1,14
Imipramina	1,19
Ciclobenzaprina	1,24

En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ningún pico con un tiempo de retención relativo correspondiente con los indicados en *Tabla* debe ser mayor a la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (0,1 %). Ningún otro pico individual obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser mayor a la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (0,1 %). La suma de todos los picos, a excepción del pico principal obtenido con

la *Solución muestra*, debe ser mayor a tres veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (0,3 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta inferior a 0,5 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (0,05 %).

Impurezas comunes <510>

Solución muestra y *Solución estándar*: emplear alcohol como solvente.

Fase móvil: metanol e hidróxido de amonio (100:1,5).

Revelador: 3.

La suma de las intensidades de todas las manchas secundarias obtenidas a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor de 1,0 %.

Pérdida por secado <680>

Secar 500 mg a 105 °C durante 1 hora: no debe perder más de 0,3 % de su peso.

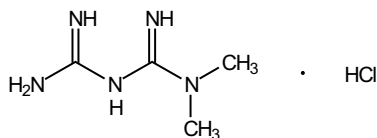
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 300 mg de Clorhidrato de Metadona, disolver en una mezcla de 10 ml de ácido acético glacial y 10 ml de acetato mercurico (SR), y calentar suavemente si fuera necesario para lograr la disolución. Enfriar hasta temperatura ambiente, agregar 10 ml de dioxano, luego agregar cristal violeta (SR) y titular de inmediato con ácido perclórico 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 34,59 mg de $C_{21}H_{27}NO \cdot HCl$.

METFORMINA, CLORHIDRATO DE



$C_4H_{11}N_5 \cdot HCl$ PM: 165,6 1115-70-4

Definición - Clorhidrato de Metformina es Clorhidrato de 1,1-dimetilbiguanida. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_4H_{11}N_5 \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales blancos. Fácilmente soluble en agua; poco soluble en alcohol; prácticamente insoluble en acetona y cloruro de metileno.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Metformina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver. 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Emplear la capa superior de una mezcla de agua, butanol y ácido acético glacial (50:40:10).

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Clorhidrato de Metformina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 5 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Clorhidrato de Metformina, transferir a un matraz aforado de 5 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Revelador - [NOTA: preparar esta solución 20 minutos antes de usar]. Emplear una mezcla de volúmenes iguales de una solución de nitroferricianuro de sodio al 10 %, una solución de ferricianuro de potasio al 10 % y una solución de hidróxido de sodio al 10 %.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 μ l de la *Solución muestra* y 5 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente, secar entre 100 y 105 °C durante 15 minutos y pulverizar sobre la placa con *Revelador*: la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder en valor de R_f , color y tamaño a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar*.

C - Una solución de Clorhidrato de Metformina debe responder a los ensayos para *Cloruro* <560>.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 218 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por gel de sílice poroso e irregular al que se han enlazado químicamente grupos ácido bencenosulfónico de 10 μ m o una columna de 11 cm \times 4,7 mm con fase estacionaria constituida por gel de sílice poroso y uniforme al que se han enlazado químicamente grupos ácido bencenosulfónico de 5 μ m. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Emplear una solución de fosfato monobásico de amonio al 1,7 % ajustada a pH 3,0 con ácido fosfórico. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de cianoguanidina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Clorhidrato de Metformina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución muestra diluida - Transferir 1,0 ml de *Solución muestra* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 20 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución de resolución - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de melamina, transferir a un matraz aforado de 100 ml y disolver en 90 ml de agua. Agregar 5,0 ml de *Solución muestra* y completar a volumen con agua. Transferir 1,0 ml de esta solu-

ción a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de melamina y clorhidrato de metformina no debe ser menor de 10.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución estándar*, la *Solución muestra* y la *Solución muestra diluida*, registrar los cromatogramas durante dos veces el tiempo de retención del clorhidrato de metformina y medir las respuestas de todos los picos. El pico correspondiente a cianoguanidina en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor al correspondiente en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar* (0,02 %). A excepción del pico principal y del pico correspondiente a cianoguanidina, la respuesta de cualquier pico no debe ser mayor que la respuesta del pico principal obtenida con la *Solución muestra diluida* (0,1 %).

Límite de metales pesados <590>

Método I. No más de 0,001 %.

Pérdida por secado <680>

Secar en estufa de 100 a 105 °C durante 5 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

VALORACIÓN

[NOTA: para evitar el sobrecalentamiento en el medio de reacción, homogeneizar completamente y detener la valoración inmediatamente después de haber alcanzado el punto final].

Pesar exactamente alrededor de 60 mg de Clorhidrato de Metformina y disolver en 4 ml de ácido fórmico anhidro. Agregar 50 ml de anhídrido acético y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 8,28 mg de $C_4H_{11}N_5 \cdot HCl$.

METILCELULOSA

9004-67-5

Definición - Metilcelulosa es el Éter metílico de la celulosa. Debe contener no menos de 26,0 por ciento y no más de 33,0 por ciento de grupos metoxilos (-OCH₃), calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo o gránulos blancos, blanco-amarillentos o blanco-grisáceos. Higroscópico luego de secado. Prácticamente insoluble en acetona, agua caliente, alcohol, éter y tolueno. Se disuelve en agua fría dando soluciones coloidales.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe cumplir con el ensayo de *Identificación A* en *Hidroxipropilmetilcelulosa*.

B - Debe cumplir con el ensayo de *Identificación B* en *Hidroxipropilmetilcelulosa*.

C - A 0,2 ml de la solución obtenida en *Identificación B*, agregar 9 ml de ácido sulfúrico diluido (9 en 10), agitar y calentar a baño de agua durante exactamente 3 minutos. Inmediatamente enfriar en un baño de hielo, agregar cuidadosamente 0,6 ml de una solución preparada disolviendo 2 g de ninhidrina en 1 litro de una mezcla de butanol y ácido acético diluido (95:5). Agitar y dejar reposar a 25 °C: se debe desarrollar inmediatamente un color rojo que no cambia a púrpura durante los siguientes 100 minutos.

D - Debe cumplir con el ensayo de *Identificación D* en *Hidroxipropilmetilcelulosa*.

E - Debe cumplir con el ensayo de *Identificación E* en *Hidroxipropilmetilcelulosa*.

Determinación de la viscosidad <190>

Debe cumplir con los requisitos cuando se ensaya según se indica en 190. *Determinación de la viscosidad* en *Hidroxipropilmetilcelulosa*, excepto que el baño de agua debe equilibrarse a una temperatura por debajo de 5 °C.

Determinación del pH <250>

Debe cumplir con los requisitos cuando se ensaya según se indica en 250. *Determinación del pH*, en *Hidroxipropilmetilcelulosa*.

Límite de metales pesados <590>

Debe cumplir con los requisitos cuando se ensaya según se indica en 590. *Límite de metales pesados* en *Hidroxipropilmetilcelulosa*.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 1,5 %, determinado a 600 ± 50 °C.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 1 hora: no debe perder más de 5,0 % de su peso.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Recipiente de reacción, Estufa y Solución de estándar interno - Proceder según se indica en *Valoración* en *Hidroxipropilmetilcelulosa*.

Preparación estándar - Transferir entre 60 y 100 mg de ácido adípico, 2,0 ml de *Solución del estándar interno* y 2,0 ml de ácido iodhídrico al 57 % a un *Recipiente de reacción*, tapar, sellar y pesar exactamente. Agregar 45 µl de ioduro de metilo a través del septo con una jeringa y volver a pesar exactamente. Agitar el *Recipiente de reacción* y emplear la fase superior como *Preparación estándar*.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 65 mg de Metilcelulosa, transferir a un *Recipiente de reacción*, agregar entre 60 y 100 mg de ácido adípico, 2,0 ml de *Solución del estándar interno* y 2,0 ml de ácido iodhídrico al 57 %, tapar inmediatamente, sellar y pesar exactamente. Mezclar el contenido del *Recipiente de reacción* calentando en la *Estufa* a 130 ± 2 °C durante 60 minutos. [NOTA: si no se emplea agitación mecánica o magnética, agitar bien el *Recipiente de reacción* a intervalos de 5 minutos durante los primeros 30 minutos del calentamiento]. Dejar enfriar y pesar nuevamente. Si la pérdida de peso es menor a 0,50 % del contenido, emplear la fase superior como *Preparación muestra*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: ajustar la velocidad de flujo del gas transportador de manera que el tiempo de retención del estándar interno sea aproximadamente 10 minutos. El ensayo solo es válido si los picos de ioduro de metilo y del estándar interno se resuelven completamente y si el tiempo de retención para ioduro de metilo es menor al tiempo de retención para el estándar interno.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (entre 1 y 2 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el porcentaje de grupos metoxilos en la porción de Metilcelulosa en ensayo por la fórmula siguiente:

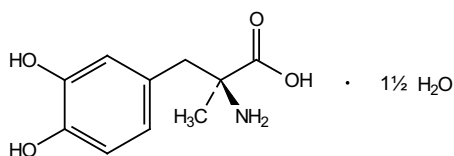
$$21,864 \left(\frac{R_M P_E}{R_E P_M} \right)$$

en la cual P_M es el peso en mg de la *Preparación muestra*, calculado sobre la sustancia seca, P_E es el peso en mg de yoduro de metilo en la *Preparación estándar*, y R_M y R_E son las respuestas de los picos de yoduro de metilo, con respecto al estándar interno, obtenidos a partir de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, respectivamente.

ROTULADO

Indicar en el rótulo la viscosidad nominal en mPa.s.

METILDOPA



$C_{10}H_{13}NO_4 \cdot 1\frac{1}{2}H_2O$ PM: 238,2 41372-08-1
Anhidro PM: 211,2 555-30-6

Definición - Metildopa es 3-Hidroxi- α -metil-L-tirosina, sesquihidrato. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{10}H_{13}NO_4$, calculado sobre la sustancia anhidra.

Caracteres generales - Polvo fino blanco o blanco-amarillento, inodoro. Muy soluble en ácido clorhídrico 3 N; moderadamente soluble en agua; poco soluble en alcohol; prácticamente insoluble en éter y cloroformo.

Sustancias de referencia - Metildopa SR-FA.
3-O-Metilmethylidopa SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: ácido clorhídrico 0,1 N.

Concentración: 40 μ g por ml.

Las absorptividades a 280 nm, calculadas sobre la sustancia anhidra, no deben diferir en más de 3,0 %.

C - A 10 mg de Metildopa agregar 0,15 ml de una solución de ninhidrina en ácido sulfúrico 1 en 250: se debe producir un color púrpura oscuro en un periodo comprendido entre 5 y 10 minutos. Agregar 0,15 ml de agua: el color se debe tornar amarillo-pardusco claro.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -25° y -28° .

Solución muestra: 44 mg por ml, en una solución de cloruro de aluminio en agua 2 en 3, previamente tratada con carbón activado, filtrada y ajustada a pH 1,5 con hidróxido de sodio 0,25 N.

Acidez

Disolver 1,0 g de Metildopa en agua libre de dióxido de carbono, con ayuda de calor. Agregar 1 gota de rojo de metilo (SR). Titular con hidróxido de sodio 0,10 N hasta punto final de color amarillo: no deben consumirse más de 0,50 ml.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 10,0 y 13,0 %.

Límite de 3-O-metilmethylidopa

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con celulosa de grado apropiado, de 250 μ m de espesor, previamente lavada con *Fase móvil*.

Fase móvil - Alcohol butílico, agua y ácido acético glacial (65:25:15). [NOTA: preparar esta mezcla en el día de su uso.]

Solución estándar - Transferir 5,0 mg de 3-O-Metildopa SR-FA a un matraz aforado de 50 ml, disolver y completar a volumen con metanol para obtener una solución de aproximadamente 100 μ g por ml.

Solución muestra - Transferir 100 mg de Metildopa a un matraz aforado de 10 ml, disolver y completar a volumen con metanol.

Revelador 1 - [NOTA: preparar todas las soluciones en el momento de su uso]. Disolver 300 mg de *p*-nitroanilina en 100 ml de ácido clorhídrico 10 N (*Solución A*). Disolver 2,5 g de nitrito de sodio en 50 ml de agua (*Solución B*). Mezclar 90 ml de *Solución A* y 10 ml de *Solución B*.

Revelador 2 - Disolver 25 g de carbonato de sodio en 100 ml de agua y mezclar.

Procedimiento - Lavar la placa colocándola en una cámara que debe contener *Fase móvil* y dejando que el solvente ascienda hasta el borde superior. Secar con la ayuda de una corriente de aire seco. Aplicar por separado sobre la placa 20 μ l de la *Solución muestra* en dos porciones de 10 μ l y 10 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y secar con la ayuda de una corriente de aire seco (no se debe percibir olor a ácido acético). Colocar la placa en posición vertical y pulverizar uniformemente con *Revelador 1*. Colocar la placa en posición horizontal y secar, tan completamente como sea posible, con la ayuda de una corriente de aire seco caliente (no se debe percibir olor a ácido clorhídrico). Colocar la placa en posición vertical y pulverizar uniformemente con *Revelador 2*. La mancha principal obtenida a partir del cromatograma de la *Solución muestra* debe ser de color negro sobre un fondo rosa pálido o anaranjado con un valor de R_f de aproximadamente 0,50; la mancha principal obtenida a partir de la *Solución estándar* correspondiente a 3-O-metilmethylidopa debe ser oscura sobre un fondo similar al anterior con un

valor de R_f de aproximadamente 0,65. La mancha correspondiente a 3-*O*-metilmetildopa en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor en tamaño e intensidad a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar* (0,5 %).

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límites de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

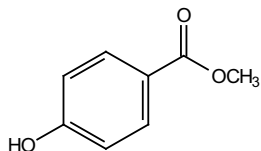
Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Metildopa y disolver en 25 ml de ácido acético glacial, calentando suavemente. Enfriar a temperatura ambiente y agregar 0,1 ml de cristal violeta (SR) y 50 ml de acetonitrilo. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) hasta punto final de color azul. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 21,12 mg de $C_{10}H_{13}NO_4$.

METILPARABENO



$C_8H_8O_3$

PM: 152,2

99-76-3

Sinonimia - Nipagin M.

Definición - Metilparabeno es el Éster metílico del ácido 4-hidroxibenzoico. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_8H_8O_3$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o cristales incoloros. Fácilmente soluble en alcohol y metanol; poco soluble en agua.

Sustancia de referencia - Metilparabeno SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Pureza cromatográfica*. La mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra B* se debe corresponder en tamaño y valor de R_f a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar B*.

Color de la solución

Solución muestra - Disolver 1,0 g de Metilparabeno en alcohol, diluir a 10 ml con el mismo solvente y mezclar.

Solución de comparación - Transferir 2,4 ml de cloruro férrico (SC), 1,0 ml de cloruro cobaltoso (SC) y 0,4 ml de sulfato cúprico (SC) a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con ácido clorhídrico 0,3 N. [NOTA: preparar esta solución en el momento de su uso]. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con ácido clorhídrico 0,3 N.

Procedimiento - Examinar la *Solución muestra* y la *Solución de comparación* en tubos de Nessler contra una superficie blanca. La *Solución muestra* debe ser transparente y no debe ser más intensamente coloreada que la *Solución de comparación*.

Acidez

Disolver 1 g de Metilparabeno en alcohol, diluir a 10 ml con el mismo solvente y mezclar. A 2 ml de esta solución, agregar 3 ml de alcohol, 5 ml de agua libre de dióxido de carbono y 0,1 ml de verde de bromocresol (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,10 N: no se debe consumir más de 0,1 ml para producir color azul.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice octadecilsilanizado para cromatografía, con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Metanol, agua y ácido acético glacial (70:30:1).

Solución muestra A - Preparar una solución de Metilparabeno en acetona que contenga 10 mg por ml.

Solución muestra B - Transferir 1,0 ml de *Solución muestra A* a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con acetona y mezclar.

Soluciones estándar A - Transferir 0,5 ml de *Solución muestra A* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con acetona y mezclar.

Solución estándar B - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Metilparabeno SR-FA, transferir a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con acetona y mezclar.

Solución estándar C - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de *Etilparabeno*, transferir a un matraz aforado de 10 ml, agregar 1 ml de *Solución muestra A*, completar a volumen con acetona y mezclar.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 2 μ l de las *Soluciones muestra A* y *B*; 2 μ l de las *Soluciones estándar A*, *B* y *C*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm. En el cromatograma obtenido con la *Solución muestra A*, ninguna mancha secundaria debe ser mayor en tamaño e intensidad a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A* (0,5 %). El ensayo sólo es válido si el cromatograma obtenido con la *Solución estándar C* presenta dos manchas completamente separadas.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 125 y 128 °C.

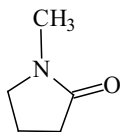
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 1 g de Metilparabeno, transferir a un recipiente adecuado, agregar 20,0 ml de hidróxido de sodio 1 N (SV) y calentar a 70 °C durante 1 hora. Enfriar rápidamente en un baño de hielo. Titular a temperatura ambiente el exceso de hidróxido de sodio con ácido sulfúrico 1 N (SV), continuando la titulación hasta el segundo punto de inflexión y determinar el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver *Titulación residual* en 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 1 N equivale a 152,2 mg de $C_8H_8O_3$.

N-METILPIRROLIDONA



C₅H₉NO

PM: 99,1

872-50-4

Definición - N-Metilpirrolidona es 1-Metil-2-pirrolidinona y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido transparente incoloro. Ebulle alrededor de 204 °C. Miscible con agua y alcohol. Densidad relativa aproximadamente 1,034. Índice de refracción aproximadamente 1,469.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. Proceder según se indica en *Identificación por medio de espectros de referencia*.

Alcalinidad

Disolver 50 ml de N-Metilpirrolidona en 50 ml de agua previamente ajustada con hidróxido de potasio 0,02 M o ácido clorhídrico 0,02 M hasta obtener coloración amarilla empleando 0,5 ml azul de bromotímol (SR1) como indicador. Titular con ácido clorhídrico 0,02 M: no debe consumir más de 8 ml de ácido clorhídrico 0,02 M para obtener la coloración amarilla inicial.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 30 m × 0,32 mm recubierta con una película de 5 µm de una fase estacionaria constituida por polidimetilsiloxano. Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 280 °C y programar la temperatura de la columna según se indica a continuación:

Tiempo (minutos)	Temperatura (°C)
0	100
0 - 23,3	100 → 170
23,3 - 53	170

Se debe emplear nitrógeno como gas transportador y la velocidad lineal debe ser aproximadamente 20 cm por segundo.

Solución muestra - Emplear N-Metilpirrolidona.

Solución estándar - A 1 ml de

N-Metilpirrolidona, agregar 1 ml de 2-pirrolidona y diluir con cloruro de metileno a 20 ml.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*)- Cromatografiar la *Solución estándar* según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de N-metilpirrolidona y 2-pirrolidona no debe ser menor de 2,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 1 µl) de la *Solución muestra* y de la *Solución estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos: la suma de las respuestas de todos los picos correspondientes a impurezas en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor de 0,3 % y ningún pico correspondiente a impurezas debe ser mayor de 0,1 %. Ignorar cualquier pico con una respuesta menor de 0,02 %.

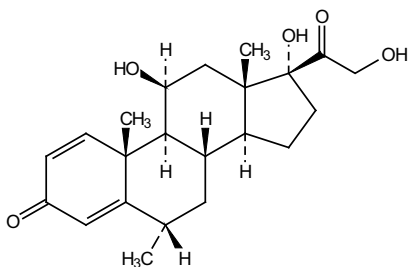
Límite de metales pesados <590>

Método IV. Disolver 4 g de N-Metilpirrolidona en agua y diluir a 20 ml con el mismo solvente. Emplear 12 ml de esta solución como *Solución muestra* y preparar la *Solución estándar* empleando *Solución estándar de plomo* (2 ppm). El límite es 10 ppm.

Determinación de agua <120>

No más de 0,1 %.

METILPREDNISOLONA



$C_{22}H_{30}O_5$

PM: 374,5

83-43-2

Definición - Metilprednisolona es (6 α ,11 β)-11,17,21-trihidroxi-6-metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_{22}H_{30}O_5$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Inodoro. Funde aproximadamente a 240 °C, con descomposición parcial. Moderadamente soluble en alcohol, dioxano y metanol; poco soluble en acetona y cloroformo; muy poco soluble en éter; prácticamente insoluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Metilprednisolona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: alcohol.

Concentración: 10 μ g por ml.

Las absorbancias a 243 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

C - Disolver aproximadamente 5 mg de Metilprednisolona en 2 ml de ácido sulfúrico: se debe producir color rojo.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +79° y +86°.

Solución muestra: 5 mg por ml, en dioxano.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 20 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, tetrahydrofurano, dimetil-sulfóxido y butanol (149:40:10:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Agua, tetrahydrofurano y ácido acético glacial (72:25:3).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Metilprednisolona SR-FA en *Diluyente*. Diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,01 mg por ml.

Solución muestra - Transferir 25 mg de Metilprednisolona exactamente pesados a un matraz aforado de 25 ml, disolver y completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 800 platos teóricos; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 5,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular la cantidad de cada impureza individual en la porción de Metilprednisolona en ensayo, en relación la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar*. No debe contener más de 1,0 % de cualquier impureza individual y la suma de todas las impurezas no debe ser mayor de 2,0 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm \times 4 mm con fase estacionaria constituida por partículas porosas de sílice de 5 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Cloruro de *n*-butilo, cloruro de *n*-butilo saturado con agua, tetrahydrofurano, metanol y ácido acético glacial (475:475:70:35:30). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución del estándar interno - Disolver una can-

tidad de *Prednisona* en una solución de ácido acético glacial en cloroformo 3 en 100 para obtener una solución de aproximadamente 0,2 mg por ml.

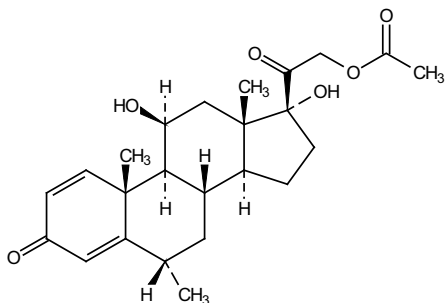
Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Metilprednisolona SR-FA en *Solución del estándar interno* para obtener una solución de aproximadamente 0,2 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Metilprednisolona y proceder según se indica en *Preparación estándar*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,7 para prednisona y 1,0 para metilprednisolona; la resolución *R* entre los picos de metilprednisolona y del estándar interno no debe ser menor de 4,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{22}H_{30}O_5$ en la porción de Metilprednisolona en ensayo.

METILPREDNISOLONA, ACETATO DE



$C_{24}H_{32}O_6$

PM: 416,5

53-36-1

Definición - Acetato de Metilprednisolona es 21-Acetato de (6 α -11 β)-11,17,21-trihidroxi-6-metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_{24}H_{32}O_6$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Inodoro. Funde a 225 °C, con descomposición. Soluble en dioxano; moderadamente soluble en acetona, alcohol, cloroformo y metanol; poco soluble en éter; prácticamente insoluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Acetato de Metilprednisolona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. En fase sólida.

[NOTA: si los espectros presentan diferencias, disolver porciones de la muestra y de la *Sustancia de referencia* en un mínimo volumen de acetona, evaporar hasta sequedad y repetir el ensayo sobre los residuos.]

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: alcohol.

Concentración: 10 μ g por ml.

Las absorbancias a 243 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +97° y +105°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en dioxano.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua y tetrahydrofurano (149:51). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*)

Diluyente - Agua, tetrahydrofurano, acetonitrilo y ácido acético glacial (499:250:250:1).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Acetato de Metilprednisolona SR-FA en *Diluyente*, para obtener una solución de aproximadamente 20 μ g por ml. Sonicar y diluir cuantitativamente, si fuera necesario.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Acetato de Metilprednisolona, transferir a un matraz aforado de 20 ml, disolver en *Diluyente* y sonicar si fuera necesario. Completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 5,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Acetato de Metilprednisolona en ensayo, en relación a la respuesta del pico de metilprednisolona en la *Solución estándar*. No debe contener más de 1,0 % de cualquier impureza individual y no más de 2,0 % de impurezas totales.

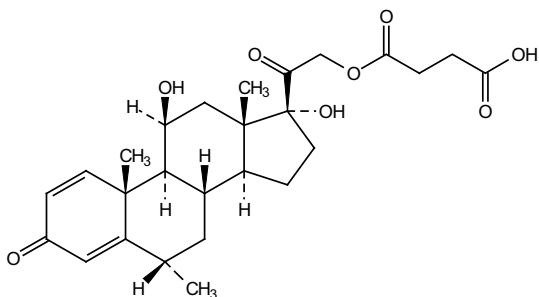
VALORACIÓN

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Acetato de Metilprednisolona, disolver en alcohol y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Diluir 1 ml de esta solución a 100 ml con alcohol.

Preparación estándar - Proceder del mismo modo que con la *Preparación muestra*, pero empleando Acetato de Metilprednisolona SR-FA.

Procedimiento - Determinar la absorbancia de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 243 nm, con un espectrofotómetro y calcular el contenido de $C_{24}H_{32}O_6$ en la porción de Acetato de Metilprednisolona en ensayo.

METILPREDNISOLONA, HEMISUCCINATO DE



$C_{26}H_{34}O_8$

PM: 474,5

2921-57-5

Definición - Hemisuccinato de Metilprednisolona es (6 α ,11 β) 21-(3-carboxi-1-oxopropoxi)-11,17-dihidroxi-6-metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_{26}H_{34}O_8$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Sólido blanco o casi blanco. Inodoro. Higroscópico. Fácilmente soluble en alcohol; soluble en acetona; muy poco soluble en agua.

Sustancias de referencia - Hemisuccinato de Metilprednisolona SR-FA. Fluorometolona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: alcohol.

Concentración: 20 μ g por ml.

Las absorbividades a 243 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +87° y +95°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en dioxano.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 20 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, tetrahidrofurano y ácido fórmico (745:255:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Agua, tetrahidrofurano, acetonitrilo y ácido acético (47:25:25:3).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Hemisuccinato de Metilprednisolona SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,02 μ g por ml.

Solución muestra - Preparar una solución de Hemisuccinato de Metilprednisolona en *Diluyente* de aproximadamente 1 mg por ml. Agitar y sonicar para favorecer la disolución.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 5.000 platos teóricos; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 5,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Hemisuccinato de Metilprednisolona en ensayo, en relación a la respuesta del pico de hemisuccinato de metilprednisolona obtenido con la *Solución estándar*. No debe contener más de 1,0 % de cualquier impureza individual y la suma de todas las impurezas no debe ser mayor de 2,0 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico y fase móvil - Proceder según se indica en *Valoración* en *Metilprednisolona*.

Solución del estándar interno - Disolver Fluorometolona SR-FA en tetrahidrofurano para obtener una solución de aproximadamente 6 mg por ml.

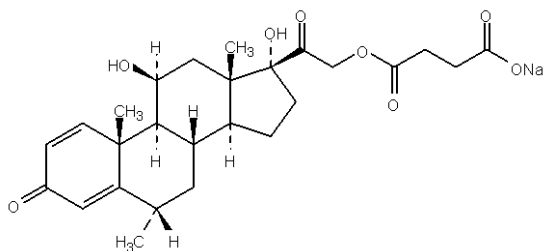
Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 40 mg de Hemisuccinato de Metilprednisolona SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 5,0 ml de *Solución del estándar interno*. Completar a volumen con cloroformo que contenga 3 % de ácido acético glacial y mezclar hasta disolver.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 40 mg de Hemisuccinato de Metilprednisolona y proceder según se indica en *Preparación estándar*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de hemisuccinato de metilprednisolona y del estándar interno no debe ser menor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (entre 4 y 8 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{26}H_{34}O_8$ en la porción de Hemisuccinato de Metilprednisolona en ensayo.

METILPREDNISOLONA, SUCCINATO SÓDICO DE



$C_{26}H_{33}NaO_8$ PM: 496,5 2375-03-3

Definición - Succinato Sódico de Metilprednisolona es (6 α ,11 β) 21-(3-carboxi-1-oxopropoxi)-11,17-dihidroxi-6-metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona, sal monosódica. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_{26}H_{33}NaO_8$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Sólido amorfo blanco o casi blanco. Inodoro. Higroscópico. Muy soluble en agua y alcohol; muy poco soluble en acetona; insoluble en cloroformo.

Sustancia de referencia - Hemisuccinato de Metilprednisolona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión.* Transferir 100 mg de Succinato Sódico de Metilprednisolona a una ampolla de decantación, disolver en 10 ml de agua, agregar 1 ml de ácido clorhídrico 3 N y extraer de inmediato con 50 ml de cloroformo. Filtrar el extracto clorofórmico a través de algodón, evaporar en un baño de vapor hasta sequedad y secar al vacío a 60 °C durante 3 horas: el espectro de absorción infrarroja de una dispersión en aceite mineral del residuo obtenido debe presentar máximos sólo a las mismas longitudes de onda que una preparación similar de Hemisuccinato de Metilprednisolona SR-FA.

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: metanol.

Concentración: 20 μ g por ml.

Las absorptividades a 243 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

C - Debe responder al ensayo a la llama para Sodio <410>.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +96° y +104°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en alcohol.

Contenido de sodio

Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Succinato Sódico de Metilprednisolona, disolver con calentamiento suave en 75 ml de ácido acético glacial. Agregar 20 ml de dioxano, luego agregar 1 gota de cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) hasta punto final de color verde azulado. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 2,299 mg de sodio. No debe contener menos de 4,49 % y no más de 4,77 %, calculado sobre la sustancia seca.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 3,0 % de su peso.

VALORACIÓN

Preparación estándar - Proceder según se indica en <750>. *Valoración de esteroides*, empleando Hemisuccinato de Metilprednisolona SR-FA para obtener una solución de aproximadamente 12,5 μ g por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Succinato Sódico de Metilprednisolona y disolver en alcohol. Diluir a 200 ml con el mismo solvente y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con alcohol y mezclar. Transferir 20,0 ml de esta solución a un erlenmeyer de 50 ml provisto de un tapón de vidrio.

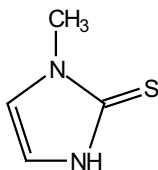
Procedimiento - A cada uno de los erlenmeyer que contengan la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* y a un erlenmeyer que contenga 20,0 ml de alcohol, que será empleado como blanco, agregar 2,0 ml de una solución preparada disolviendo 50 mg de azul de tetrazolio en 10 ml de alcohol y mezclar. Luego agregar a cada erlenmeyer 4,0 ml de una mezcla de alcohol e hidróxido de tetrametilamonio (SR) (9:1). Mezclar, dejar reposar en la oscuridad durante 90 minutos, agregar 1,0 ml de ácido acético glacial, mezclar y proceder según se indica en el *Procedimiento* en <750>. *Valoración de esteroides*, comenzando donde dice: “*Determinar las absorbancias...*”. Calcular la cantidad en mg de $C_{26}H_{33}NaO_8$ en la porción de Succinato Sódico de Metilprednisolona en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$8,37C(A_M/A_E)$$

en la cual C es la concentración de Hemisuccinato de Metilprednisolona SR-FA en la *Preparación estándar* y A_M y A_E son las absorbancias de las

soluciones de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, respectivamente.

METIMAZOL



$C_4H_6N_2S$ PM: 114,2 60-56-0

Sinonimia - Tiamazol.

Definición - Metimazol es 1,3-Dihidro-1-metil-2H-imidazol-2-tiona. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_4H_6N_2S$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Sus soluciones son prácticamente neutras frente al tornasol. Fácilmente soluble en agua, alcohol y cloroformo; poco soluble en éter.

Sustancia de referencia - Metimazol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Una solución de Metimazol 1 en 200 debe producir un precipitado blanco con cloruro mercuríco (SR), pero no debe producir un precipitado con trinitrofenol (SR). La solución se debe colorear intensamente de azul con fosfotungstato de molibdeno (SR).

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 143 y 146 °C.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de selenio <610>

No más de 0,003 %, empleando una muestra de 200 mg.

Impurezas comunes <510>

Solución muestra y Solución estándar: emplear acetato de etilo como solvente.

Fase móvil: tolueno, alcohol isopropílico e hidróxido de amonio (70:29:1), en una cámara no saturada.

Revelador: 2.

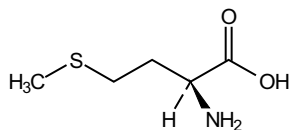
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Metimazol, disolver en 75 ml de agua. Agregar desde una bureta 15 ml de hidróxido de sodio 0,1 N (SV), mezclar y agregar, con agitación, aproximadamente 30 ml de nitrato de plata 0,1 N. Agregar 1 ml de azul de bromotimol (SR) y continuar la titulación con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) hasta que se produzca un color permanente verde azulado. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 11,42 mg de $C_4H_6N_2S$.

METIONINA DL



C₅H₁₁NO₂S PM: 149,2 59-51-8

Definición - Metionina DL es (±) Ácido-2-amino-4-(metilto)butírico. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de C₅H₁₁NO₂S, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino casi blanco o pequeñas escamas. Funde aproximadamente a 270 °C. Se disuelve en ácidos diluidos y en soluciones diluidas de hidróxidos alcalinos. Moderadamente soluble en agua; muy poco soluble en alcohol; prácticamente insoluble en éter.

Sustancia de referencia - Metionina DL SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. En fase sólida. [NOTA: secar la sustancia a 105 °C.]

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Sustancias relacionadas*. La mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra B* se debe corresponder en valor de *R_f*, tamaño e intensidad a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre - 0,05° y + 0,05°.

Solución muestra: Disolver 2,50 g de Metionina DL en ácido clorhídrico 1 N y diluir a 50,0 ml con el mismo solvente.

Determinación del pH <250>

Entre 5,4 y 6,1, determinado sobre una solución de 1,0 g de Metionina DL en 50 ml de agua libre de dióxido de carbono.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, que contenga aproximadamente 13 % de sulfato de calcio hemihidratado, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Butanol, ácido acético glacial y agua (60:20:20).

Solución estándar A - Transferir 20 mg de Metionina DL SR-FA a un matraz aforado de 50 ml, disolver y completar a volumen con agua.

Solución estándar B - Diluir 1,0 ml de *Solución estándar A* con agua a 10 ml.

Solución muestra A - Transferir 200 mg de Metionina DL a un matraz aforado de 10 ml, disolver y completar a volumen con agua.

Solución muestra B - Diluir 1,0 ml de *Solución muestra A* con agua a 50 ml.

Revelador - Preparar una solución de aproximadamente 2 mg de ninhidrina por ml en una mezcla de butanol y ácido acético 2 N (95:5).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de las *Soluciones muestra A* y *B* y 5 µl de las *Soluciones estándar A* y *B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Dejar secar y pulverizar sobre la placa con *Revelador*. Calentar la placa entre 100 y 105 °C durante 15 minutos: a excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra A*, ninguna mancha debe ser mayor en tamaño o intensidad a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar B* (0,2 %).

Límite de cloruro

Solución muestra - Disolver 250 mg de Metionina DL en 35 ml de agua. Agregar 5 ml de ácido nítrico al 12,5 % y 10 ml de nitrato de plata (SR). Dejar en reposo, protegido de la luz, durante 5 minutos y filtrar.

Solución de comparación - Preparar al mismo tiempo y del mismo modo según se indica en *Solución muestra* pero empleando 10 ml de solución de cloruro (5 ppm) (SL) y 25 ml de agua.

Procedimiento - Examinar la *Solución muestra* y la *Solución de comparación* en sendos tubos de Nessler frente a un fondo negro: la opalescencia de la *Solución muestra* no debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución de comparación* (200 ppm).

Límite de sulfato

Solución muestra - Disolver 1,0 g de Metionina DL en 20 ml de agua destilada. Calentar a 60°C, enfriar a 10°C y filtrar.

Procedimiento - A 1,5 ml de solución de sulfato (10 ppm) (SL1), agregar 1,0 ml de solución de cloruro de bario al 25 %. Agitar y dejar reposar durante 1 minuto. Agregar 15 ml de *Solución muestra* y 0,5 ml de ácido acético. Proceder del mismo modo con 15 ml de solución de sulfato (10 ppm) (SL) para obtener un control. Luego de

15 minutos, si la *Solución muestra* presenta opalescencia, esta no debe ser más intensa que la obtenida a partir del control (200 ppm).

Límite de metales pesados <590>

Método VII. Preparar la *Solución estándar* a partir de 2 ml de *Solución estándar de plomo* (10 ppm). No más de 0,002 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

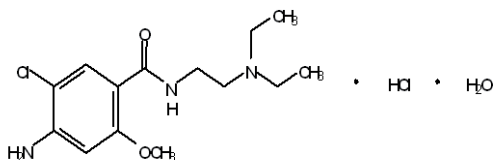
Pérdida por secado <680>

Secar 1,0 g de Metionina *DL* entre 100 y 105 °C: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 140 mg de Metionina *DL*, disolver en 3 ml de ácido fórmico anhidro y agregar 30 ml de ácido acético glacial. Inmediatamente después de obtenida la disolución completa, valorar con ácido perclórico 0,1 N en metanol (SV) y determinar el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 14,92 mg de $C_5H_{11}NO_2S$.

METOCLOPRAMIDA, CLORHIDRATO DE



$C_{14}H_{22}ClN_3O_2 \cdot HCl \cdot H_2O$ PM: 354,3 54143-57-6

Definición - Clorhidrato de Metoclopramida es Monoclorhidrato de 4-amino-5-cloro-*N*-[2-(diethylamino)etil]-*o*-anisamida, monohidrato. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{14}H_{22}ClN_3O_2 \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Muy soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol; poco soluble en cloroformo; prácticamente insoluble en éter.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Metoclopramida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*.

B - Disolver 50 mg de Clorhidrato de Metoclopramida en 5 ml de agua y agregar 5 ml de una solución 1 en 100 de *p*-dimetilaminobenzaldehído en ácido clorhídrico 1 N: se debe producir un color entre anaranjado y amarillo.

C - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Pureza cromatográfica*. El valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución de identificación* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución estándar A*.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 4,5 y 6,0 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromato-

grafía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol, tolueno e hidróxido de amonio (140:60:20:1).

Solución estándar - Disolver una porción de Clorhidrato de Metoclopramida SR-FA en metanol y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml. Diluir cuantitativamente con metanol para obtener tres *Soluciones estándar*, con las siguientes concentraciones:

Solución estándar	Dilución	Concentración (µg por ml)	% con respecto a la muestra
A	1 en 4	250	0,5
B	3 en 20	150	0,3
C	1 en 20	50	0,1

Solución muestra - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Metoclopramida en metanol para obtener una solución de aproximadamente 50 mg por ml.

Solución de identificación - Diluir una porción de la *Solución muestra* cuantitativamente con metanol para obtener una solución de aproximadamente 500 µg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de la *Solución muestra*, 10 µl de la *Solución de identificación* y 10 µl de las *Soluciones estándar A, B y C*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar evaporar. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm y comparar las intensidades de cualquier mancha secundaria en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* con las manchas principales obtenidas con las *Soluciones estándar C*. [NOTA: no se deben considerar las manchas observadas en el origen de los cromatogramas]. Ninguna mancha secundaria en el cromatograma debe ser mayor en tamaño o intensidad que la obtenida con la *Solución estándar A* (0,5 %) y la suma de las intensidades de todas las manchas secundarias obtenidas a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor de 1,0 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

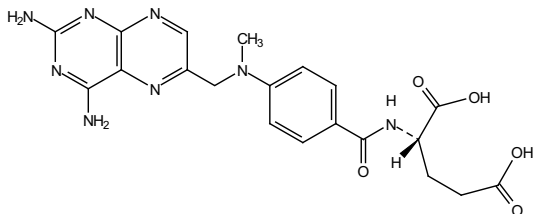
Método I.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 300 mg de Clorhidrato de Metoclopramida, transferir a un erlenmeyer de 125 ml con tapón, agregar 10 ml de acetato mercúrico (SR), 2 ml de anhídrido acético y dejar reposar durante 3 horas. Agregar 80 ml de

ácido acético glacial y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 33,63 mg de $C_{14}H_{22}ClN_3O_2 \cdot HCl$.

METOTREXATO



$C_{20}H_{22}N_8O_5$

PM: 454,4

59-05-2

Definición - Metotrexato es Ácido *N*-[4-[[[2,4-diamino-6-pteridil]metil]metilamino]benzoil]-*L*-glutámico. Es una mezcla de ácido 4-amino-10-metilfólico y compuestos estrechamente relacionados. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{20}H_{22}N_8O_5$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino marrón anaranjado o amarillo. Fácilmente soluble en soluciones diluidas de hidróxidos alcalinos y carbonatos; poco soluble en ácido clorhídrico 6 N; prácticamente insoluble en agua, alcohol, cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Metotrexato SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

Precaución - Evitar la inhalación y la exposición a la piel de partículas de Metotrexato.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. [NOTA: no secar las muestras.]

B - Absorción ultravioleta <470>. Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Metotrexato, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver con hidróxido de sodio 0,1 N, completar a volumen y mezclar. Diluir 10 ml de esta solución a 100 ml con hidróxido de sodio 0,1 N. El espectro de absorción ultravioleta, determinado entre 230 y 380 nm, debe presentar máximos a 258, 302 y 371 nm y la relación de absorbancia para el máximo a 302 nm con respecto al máximo a 371 nm debe estar comprendida entre 2,8 y 3,3.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +19° y +24°; calculado sobre la sustancia anhidra.

Solución muestra: 10 mg por ml, en carbonato de sodio 0,05 M, empleando un tubo polarimétrico de 2 dm.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 12,0 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico, Solución reguladora de pH 6,0, Fase móvil, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Metotrexato SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 5 µg por ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Metotrexato, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en *Fase móvil*, con la ayuda de sonicación o agitación si fuera necesario, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra* y dejar que la *Solución muestra* eluya por lo menos tres veces el tiempo de retención de metotrexato. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos. A excepción del pico principal, la suma de todos los picos en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor que cuatro veces la respuesta del pico principal en la *Solución estándar* (2,0 %); ningún pico en el cromatograma obtenido con la *Solución muestra* debe ser mayor que el pico principal en la *Solución estándar* (0,5 %).

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 302 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,2 ml por minuto.

Solución reguladora de pH 6,0 - Preparar una mezcla de fosfato dibásico de sodio 0,2 M y ácido cítrico 0,1 M (63:37). Ajustar, si fuera necesario, a

pH 6,0 con ácido cítrico 0,1 M o fosfato dibásico de sodio 0,2 M.

Fase móvil - Solución reguladora de pH 6,0 y acetonitrilo (90:10). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Metotrexato SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 100 µg por ml.

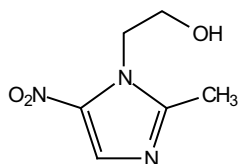
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Metotrexato, transferir a un matraz aforado de 250 ml, disolver en *Fase móvil*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Solución de aptitud del sistema - Disolver cantidades apropiadas de Metotrexato SR-FA y *Ácido Fólico* en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml de cada una.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,35 para ácido fólico y 1,0 para metotrexato; la resolución *R* entre los picos de ácido fólico y metotrexato no debe ser menor de 8,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,5 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{20}H_{22}N_8O_5$ en la porción de Metotrexato en ensayo.

METRONIDAZOL



$C_6H_9N_3O_3$ PM: 171,2 443-48-1

Definición - Metronidazol es 2-Metil-5-nitroimidazol-1-etanol. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_6H_9N_3O_3$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales blancos a amarillo pálido, o polvo cristalino. Estable al aire, se oscurece por exposición a la luz. Moderadamente soluble en agua y alcohol; poco soluble en éter y cloroformo.

Sustancia de referencia - Metronidazol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: ácido sulfúrico en metanol (1 en 350).

Concentración: 20 μ g por ml.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 159 y 163 °C.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,005 %.

Sustancias no básicas

Una porción de 1,0 g de Metronidazol se debe disolver completamente en 10 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 2).

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, alcohol absoluto, dietilamina y agua (80:10:10:1).

Solución estándar - Preparar una solución de Metronidazol SR-FA en acetona con una concentración de aproximadamente 3,0 mg por ml.

Solución estándar diluida - Diluir la *Solución estándar* cuantitativamente y en etapas con acetona para obtener una solución con una concentración de aproximadamente 30 μ g por ml.

Solución muestra - Disolver 100 mg de Metronidazol en 10,0 ml de acetona.

Revelador 1 - Tricloruro de titanio al 20 %.

Revelador 2 - Solución de sal de fast blue B al 1 %.

Revelador 3 - Emplear una mezcla de alcohol, agua e hidróxido de amonio (50:30:20).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 20 μ l de la *Solución muestra*, 20 μ l de la *Solución estándar* y 20 μ l de la *Solución estándar diluida*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 1*, calentar a 110 °C hasta que el color gris azulado empiece a desaparecer y enfriar la placa. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 2*. [*Precaución* - *Emplear la solución de sal de fast blue B bajo campana, evitando la inhalación de los vapores y el contacto con la piel*]. Dejar reposar durante 3 minutos y pulverizar sobre la placa con *Revelador 3*: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución estándar* y a excepción de la mancha principal, ninguna mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser mayor en tamaño o intensidad que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar diluida* (0,03 %).

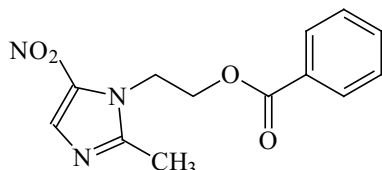
Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Metronidazol y disolver en 20 ml de anhídrido acético, calentando levemente para favorecer la disolución. Enfriar, agregar 1 gota de verde de malaquita (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) desde una bureta de 10 ml hasta punto final verde amarillento. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 17,12 mg de $C_6H_9N_3O_3$.

METRONIDAZOL, BENZOATO DE



$C_{13}H_{13}N_3O_4$

PM: 275,3

Definición - Benzoato de Metronidazol es Benzoato de 2-(2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol-1-il)etilo. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{13}H_{13}N_3O_4$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo o copos cristalinos, blancos o ligeramente amarillentos. Fácilmente soluble en cloruro de metileno; soluble en acetona; poco soluble en alcohol; muy poco soluble en éter; prácticamente insoluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancias de referencia - Metronidazol SR-FA. Benzoato de Metronidazol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>.

Solvente: ácido clorhídrico 2,8 N.

Concentración: 0,01 mg por ml.

Examinar entre 220 y 350. La solución debe presentar dos máximos de absorción a 232 y 275 nm. La absorbancia específica en el máximo de absorción, 232 nm, debe estar comprendido entre 525 y 575.

Acidez

Disolver 2,0 g de Benzoato de Metronidazol en una mezcla de dimetilformamida y agua (20:20) previamente neutralizada con ácido clorhídrico 0,02 M, empleando 0,2 ml de solución de rojo de metilo (SR). No deben consumirse más de 0,25 ml de hidróxido de sodio 0,02 M.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 99 y 102 °C.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor. Calentar la placa a 110 °C durante 1 hora y dejar enfriar antes de usar.

Fase móvil - Acetato de etilo.

Solución muestra A - Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Benzoato de Metronidazol, disolver en acetona y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución muestra B - Diluir 1 ml de la *Solución muestra A* a 10 ml con acetona.

Solución estándar A - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Benzoato de Metronidazol SR-FA, disolver en acetona y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Diluir 5 ml de la *Solución muestra B* a 100 ml con acetona.

Solución estándar C - Diluir 2 ml de la *Solución muestra B* a 100 ml con acetona.

Solución estándar D - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Metronidazol SR-FA, disolver en acetona y diluir a 100 ml con el mismo solvente.

Solución estándar E - Disolver 10 mg de 2-metil-5-nitroimidazol en acetona y diluir a 100 ml con el mismo solvente.

Solución estándar F - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Metronidazol SR-FA y 10 mg de 2-metil-5-nitroimidazol, disolver en acetona y diluir a 50 ml con el mismo solvente.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de las *Soluciones muestras A y B*, 10 µl de las *Soluciones estándar A, B, C, D, E y F*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente, dejar secar al aire y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra A*: ninguna mancha correspondiente a metronidazol o a 2-metil-5-nitroimidazol debe ser más intensa que la mancha correspondiente en los cromatogramas obtenidos con las *Soluciones estándar D y E* (0,5 %); A excepción de la mancha principal y a cualquier mancha correspondiente a metronidazol y a 2-metil-5-nitroimidazol, ninguna debe ser más intensa que la mancha en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar B* (0,5 %) y solo una de ellas puede ser más intensa que la mancha en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar C* (0,2 %). El ensayo sólo es válido si el cromatograma obtenido con la *Solución estándar F* presenta dos manchas principales claramente separadas.

Límite de metales pesados <590>

Método VI. Preparar la *Solución estándar* empleando 2 ml de *Solución estándar de Pb (10 ppm)*: no debe contener más de 0,002 %.

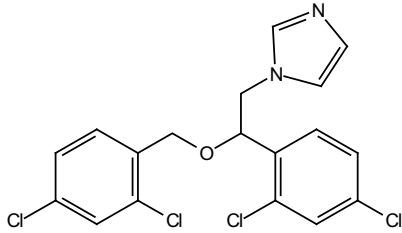
Pérdida por secado <680>

Secar a 80 °C durante 3 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Benzoato de Metronidazol, disolver en 50 ml de ácido acético anhidro. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 27,53 mg de $C_{13}H_{13}N_3O_4$.

MICONAZOL



$C_{18}H_{14}Cl_4N_2O$ PM: 416,1 22916-47-8

Definición - Miconazol es (\pm)-1-[2-(2,4-Diclorofenil)-2-[(2,4-diclorofenil)metoxi]etil]-1H-imidazol. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{18}H_{14}Cl_4N_2O$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Funde entre 78 y 82 °C. Fácilmente soluble en alcohol, metanol, alcohol isopropílico, acetona, propilenglicol, cloroformo y dimetilformamida; soluble en éter; insoluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Miconazol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Transferir 40 mg de Miconazol a un matraz aforado de 100 ml, disolver en 50 ml de alcohol isopropílico, agregar 10 ml de ácido clorhídrico 0,1 N, completar a volumen con alcohol isopropílico y mezclar: el espectro de absorción ultravioleta de esta solución (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) debe presentar máximos y mínimos a las mismas longitudes de onda que el de una solución similar de Miconazol SR-FA.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - *n*-hexano, cloroformo, metanol e hidróxido de amonio (60:30:10:1) [NOTA: preparar en el momento de su uso.]

Solución estándar - Disolver una cantidad apropiada de Miconazol SR-FA en cloroformo para obtener una solución con una concentración de aproximadamente 10,0 mg por ml.

Solución estándar diluida - Diluir la *Solución estándar* cuantitativamente con cloroformo para obtener una solución con una concentración de aproximadamente 100 µg por ml.

Solución muestra - Disolver 30 mg de Miconazol en 3,0 ml de cloroformo.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de la *Solución estándar*, 5 µl de la *Solución estándar diluida* y 5 µl de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar evaporar el solvente. Exponer la placa a vapores de yodo en una cámara cerrada durante aproximadamente 30 minutos y localizar las manchas: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución estándar* y ninguna otra mancha obtenida a partir de la *Solución muestra* debe ser mayor en tamaño o intensidad que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar diluida* (1,0 %).

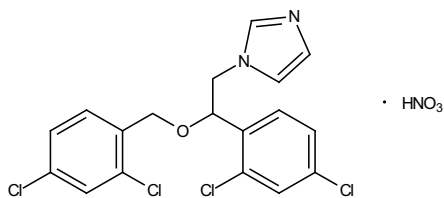
Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 60 °C durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 300 mg de Miconazol, disolver en 40 ml de ácido acético glacial, agregar 4 gotas de *p*-naftolbenceína (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) hasta punto final verde. Realizar una titulación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 41,61 mg de $C_{18}H_{14}Cl_4N_2O$.

MICONAZOL, NITRATO DE



C₁₈H₁₄Cl₄N₂O · HNO₃ PM: 479,1 22832-87-7

Definición - Nitrato de Miconazol es Mononitrato de 1-[2-(2,4-diclorofenil)-2-[(2,4-diclorofenil)metoxi]etil]-1*H*-imidazol. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de C₁₈H₁₄Cl₄N₂O · HNO₃, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco, de olor débil. Funde entre 178 y 183 °C, con descomposición. Fácilmente soluble en dimetilsulfóxido; soluble en dimetilformamida; moderadamente soluble en metanol; poco soluble en alcohol, cloroformo y propilenglicol; muy poco soluble en agua y alcohol isopropílico; insoluble en éter.

Sustancia de referencia - Nitrato de Miconazol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: ácido clorhídrico 0,1 N en alcohol isopropílico 1 en 10.

Concentración: 400 µg por ml.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 235 nm y una columna de 10 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Acetato de amonio 0,2 M, metanol y acetonitrilo (38:32:30). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Solución muestra - Transferir 100 mg de Nitrato de Miconazol a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución muestra diluida - Diluir un volumen exactamente medido de la *Solución muestra* cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 25 µg de Nitrato de Miconazol por ml.

Solución de resolución - Disolver cantidades exactamente pesadas de Nitrato de Miconazol SR-FA y *Nitrato de Econazol* en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 25 µg por ml de cada uno.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,5 para econazol y 1,0 para miconazol; la resolución *R* entre los picos de econazol y miconazol no debe ser menor de 10; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Solución muestra* y la *Solución muestra diluida*, registrar los cromatogramas durante 1,2 veces el tiempo de retención del pico principal y medir las respuestas de todos los picos. A excepción del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta de ningún pico debe ser mayor a la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución muestra diluida* (0,25 %) y la suma de las respuestas de todos los picos, a excepción del pico principal, no debe ser mayor a dos veces la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución muestra diluida* (0,5 %). Descartar el pico del ión nitrato y cualquier pico con una respuesta menor de 0,2 veces la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución muestra diluida*.

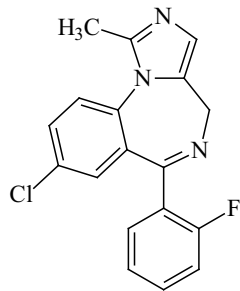
Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 350 mg de Nitrato de Miconazol, disolver en 75 ml de ácido acético glacial, calentar si fuera necesario y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 47,91 mg de C₁₈H₁₄Cl₄N₂O · HNO₃.

MIDAZOLAM



$C_{18}H_{13}ClFN_3$ PM: 325,8 59467-71-8

Definición - Midazolam es 8-Cloro-6-(2-fluorofenil)-1-metil-4H-imidazo[1,5-a][1,4]benzodiazepina. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,5 por ciento de $C_{18}H_{13}ClFN_3$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o amarillento. Fácilmente soluble en acetona y alcohol; soluble en metanol; prácticamente insoluble en agua.

Sustancias de referencia - Midazolam SR-FA. Clordiazepóxido SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Sustancias relacionadas*, bajo luz ultravioleta a 254 nm. La mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra B* se debe corresponder en valor de R_f y tamaño a la obtenida con la *Solución estándar B*.

C - Mezclar 90 mg de Midazolam con 0,3 g de carbonato de sodio anhidro y someter a ignición en un crisol hasta obtener un residuo casi blanco (normalmente en menos de 5 minutos). Dejar enfriar, disolver el residuo obtenido en 5,0 ml de ácido nítrico al 12,5 % p/v y filtrar. A 1,0 ml del filtrado obtenido agregar 1,0 ml de agua: esta solución debe cumplir con el ensayo para *Cloruros* <410>.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 161 y 164 °C.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %; en un crisol de platino.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo, metanol, agua y ácido acético glacial (80:20:15:2).

Solución muestra A - Disolver 200 mg de Midazolam en alcohol y diluir a 5 ml con el mismo solvente.

Solución muestra B - Diluir 1 ml de *Solución muestra A* a 50 ml con alcohol.

Solución estándar A - Diluir 1 ml de *Solución muestra A* a 10 ml con alcohol. Diluir 2 ml de esta solución a 100 ml con alcohol.

Solución estándar B - Disolver 8 mg de Midazolam SR-FA en alcohol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar C - Disolver 8 mg de Midazolam SR-FA y 8 mg de Clordiazepóxido SR-FA en alcohol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de las *Soluciones muestra A y B* y 5 µl de las *Soluciones estándar A, B y C*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, dejar secar al aire y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm: a excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra A*, ninguna mancha debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar A* (0,2 %). El ensayo solo es válido si el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar C* presenta dos manchas completamente separadas.

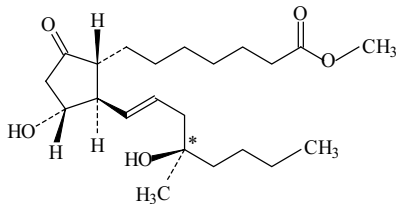
Pérdida por secado <680>

Secar entre 100 y 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 120 mg de Midazolam, disolver en 30 ml de ácido acético glacial y agregar 20 ml de anhídrido acético. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente, titulando hasta el segundo punto de inflexión (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 16,29 mg de $C_{18}H_{13}ClFN_3$.

MISOPROSTOL



C₂₂H₃₈O₅ PM: 382,5 59122-46-2

Definición - Misoprostol es una mezcla de 7-[(1*RS*,2*RS*,3*RS*)-3-hidroxi-2-[(1*E*,4*RS*)-4-hidroxi-4-metilocten-1-il]-5-oxociclopentil]heptanoato de metilo y 7-[(1*RS*,2*RS*,3*RS*)-3-hidroxi-2-[(1*E*,4*SR*)-4-hidroxi-4-metilocten-1-il]-5-oxociclopentil]heptanoato de metilo, su epímero en C₄ y sus enantiómeros. Los 4 estereoisómeros están presentes en igual proporción. Debe contener no menos de 96,5 por ciento y no más de 102,0 por ciento de C₂₂H₃₈O₅, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido oleoso incoloro o amarillento. Higroscópico. Soluble en alcohol; moderadamente soluble en acetonitrilo y prácticamente insoluble en agua.

Sustancias de referencia - Misoprostol SR-FA. Impureza A de Misoprostol SR-FA: es una mezcla de 7-[(1*E*,4*RS*)-4-Hidroxi-4-metilocten-1-il]-5-oxociclopentil]heptanoato de metilo y 7-[(1*RS*,2*RS*,3*RS*)-3-hidroxi-2-[(1*E*,4*SR*)-4-hidroxi-4-metilocten-1-il]-5-oxociclopentil]heptanoato de metilo (8-epimisoprostol).

CONSERVACIÓN

En envases herméticos a - 20 °C.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. En película fina.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar A - Transferir 1,0 ml de *Solución muestra* a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con acetonitrilo.

Solución estándar B - Transferir 1,0 ml de *Solución estándar A* a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con acetonitrilo.

Solución estándar C - Pesarse exactamente 0,25 mg de la impureza A de Misoprostol SR-FA,

transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver y completar a volumen con *Solución estándar A*.

Solución estándar D - Pesarse exactamente alrededor de 10 mg de Misoprostol SR-FA, transferir a un matraz aforado de 5 ml, disolver y completar a volumen con acetonitrilo.

Solución muestra - Proceder según se indica en *Preparación muestra en Valoración*.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo un volumen exactamente medido (aproximadamente 10 µl) de la *Solución muestra*, registrar el cromatograma durante 3 veces el tiempo de retención del pico principal de misoprostol y medir las respuestas de los picos. La respuesta del pico correspondiente a la suma de las impurezas A, B y E de misoprostol no debe ser mayor a 1,3 veces la respuesta del pico de misoprostol obtenido a partir de la *Solución estándar A* (1,3 %); ninguna otra impureza debe ser mayor que la respuesta del pico principal obtenido a partir de la *Solución estándar B* (0,1 %); la suma de todos los picos, excepto el pico principal, no debe ser mayor a 1,5 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (1,5 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta inferior a la del pico principal obtenido con la *Solución estándar B* (0,05 %).

Diastereoisómeros

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 205 nm, una columna de 15 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. Mantener la columna aproximadamente a 40 °C. El caudal debe ser de aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Heptano, 2-propanol y ácido acético glacial (95:5:0,01).

Solución muestra - Pesarse exactamente alrededor de 20 mg de Misoprostol, transferir a un matraz aforado de 1,0 ml, disolver y completar a volumen con *Fase móvil*.

Solución estándar - Transferir 0,1 ml de la *Solución muestra* a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Aptitud del sistema (ver 100. Cromatografía) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre el primer y segundo pico de misoprostol no debe ser menor de 2,3 y los tiempos de retención deben ser aproximadamente 19 minutos para el primer pico de misoprostol y 21 minutos para el segundo pico de misoprostol.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo un volumen exactamente medido (aproximadamente 10 µl) de la *Solución muestra*, registrar el cromato-

grama y medir las respuestas de los picos durante 1,5 veces el tiempo de retención del primer pico de misoprostol. La respuesta del pico correspondiente al primer pico de misoprostol debe encontrarse entre el 50 y el 55 por ciento de la suma de las áreas de los 2 picos debidos a misoprostol, obtenido a partir de la *Solución estándar*.

Determinación de agua <120>

Titulación coulombimétrica. No más de 1,0 %, empleando 1,0 ml de una solución de 10 mg por ml de misoprostol en metanol como solvente.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 200 nm, una columna de 25 cm x 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice de 5 µm de diámetro con un área de superficie específica de 220 m²/g y una carga de carbono de 7 %. Mantener la columna aproximadamente a 40 °C. El caudal debe ser de aproximadamente 0,75 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, acetonitrilo y solución de ácido fosfórico al 2,45 % (55:45:0,5).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Misoprostol SR-FA, transferir a un matraz aforado de 5 ml, disolver y completar a volumen con acetonitrilo.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Misoprostol, transferir a un matraz aforado de 5 ml, disolver y completar a volumen con acetonitrilo.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre misoprostol y los picos de impureza A de misoprostol no debe ser menor de 1,9. El tiempo de retención para misoprostol debe ser aproximadamente 20 minutos. Los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,9 para las impurezas A, C y el primer pico de la impureza B de misoprostol, y 0,95 para el segundo pico de la impureza B de misoprostol, siendo el primer pico de la impureza B una mezcla de

7-[(1*RS*,2*SR*,3*RS*)-3-hidroxi-2-[(1*E*,4*RS*)-4-hidroxi-4-metilocten-1-il]-5-oxociclopentil]heptanoato de metilo y

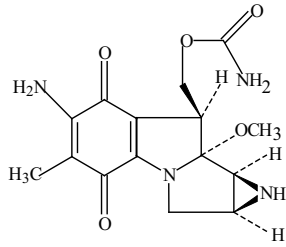
7-[(1*RS*,2*SR*,3*RS*)-3-Hidroxi-2-[(1*E*,4*SR*)-4-hidroxi-4-metilocten-1-il]-5-oxociclopentil]heptanoato de metilo (12-epimisoprostol) y la impureza C una mezcla de

7-[(1*RS*,2*RS*,3*RS*)-3-hidroxi-2-[(1*E*,4*RS*)-4-hidroxi-4-metilocten-1-il]-5-oxociclopentil]heptanoato de

metilo y
7-[(1*RS*,2*RS*,3*RS*)-3-Hidroxi-2-[(1*E*,4*SR*)-4-hidroxi-4-metilocten-1-il]-5-oxociclopentil]heptanoato de metilo (11-epimisoprostol).

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₂₂H₃₈O₅ en la porción de Misoprostol en ensayo.

MITOMICINA C



C₁₅H₁₈N₄O₅

PM: 334,3

50-07-7

Sinonimia - Mitomicina.

Definición - Mitomicina C es [1 α S-(1 α ,8 β ,8 α ,8 β α)]-6-Amino-8-[[aminocarboniloxi]metil]-1,1 α ,2,8,8 α ,8 β -hexa-hidro-8 α -metoxi-5-metilazirino[2',3':3,4]pirrolo[1,2-*a*]indol-4,7-diona. Debe contener una potencia no menor de 970 μ g de C₁₅H₁₈N₄O₅ por mg y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino azul-violetado. Soluble en acetona, ciclohexanona y metanol; poco soluble en agua.

Sustancia de referencia - Mitomicina C SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto, a 25 °C. [NOTA: la temperatura de almacenamiento no debe ser menor de 15 °C ni mayor de 30 °C].

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: metanol

Concentración: 5 μ g por ml

La absorbividad a 357 nm no debe ser menor de 95,0 % ni mayor de 105,0 % de la *Sustancia de referencia*, con respecto a la sustancia anhidra.

Determinación del pH <250>

Entre 6,0 y 7,5; determinado sobre una suspensión acuosa de aproximadamente 5 mg por ml.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 2,5%.

Cristalinidad

Colocar partículas de Mitomicina C en aceite mineral, sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas deben presentar birrefringencia

y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que Mitomicina C es estéril, no debe contener más de 10,0 Unidades de Endotoxina por mg de Mitomicina C.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que Mitomicina C es estéril, debe cumplir con los requisitos según se indica en *Método de filtración por membrana.*

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 365 nm y una columna de 30 cm \times 4,0 mm con fase estacionaria constituida por grupos fenilo químicamente unidos a partículas porosas de sílice de 5 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Transferir aproximadamente 1,54 g de acetato de amonio a un matraz aforado de 1 litro, disolver en 250 ml de metanol, agregar 5,0 ml de ácido acético 0,83 N y completar a volumen con agua. Mezclar, filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Solución de resolución - Disolver cantidades apropiadas de Mitomicina C SR-FA y 3-etoxi-4-hidroxibenzaldehído en *N,N*-dimetilacetamida, para obtener una solución de aproximadamente 0,5 y 7,5 mg por ml, respectivamente.

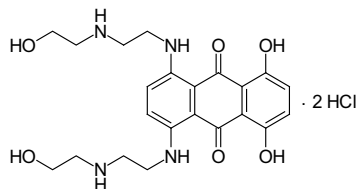
Preparación estándar - Disolver una porción exactamente pesada de Mitomicina C SR-FA en *N,N*-dimetilacetamida para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Mitomicina C y transferir a un matraz aforado de 50 ml. Disolver y completar a volumen con *N,N*-dimetilacetamida y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 1,0 para Mitomicina C y 1,4 para 3-etoxi-4-hidroxibenzaldehído; la resolución *R* entre los picos de Mitomicina C y 3-etoxi-4-hidroxibenzaldehído no debe ser menor de 1,8. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría para el pico de Mitomicina C no debe ser mayor de 1,3; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{15}H_{18}N_4O_5$ en la porción de Mitomicina C en ensayo.

MITOXANTRONA, CLORHIDRATO DE



$C_{22}H_{28}N_4O_6 \cdot 2HCl$ PM: 517,4 70476-82-3

Definición - Clorhidrato de Mitoxantrona es Diclорhidrato de 1,4-dihidroxi-5,8-bis[[2-[(2-hidroxietil)amino]etil]amino]antraquinona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{22}H_{30}Cl_2N_4O_6$, calculado sobre la sustancia anhidra y libre de alcohol. Clorhidrato de Mitoxantrona debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo de color azul oscuro, electrostático. Higroscópico. Soluble en alcohol, éter, éter de petróleo, aceites fijos y grasas; poco soluble en metanol; prácticamente insoluble en agua y acetona.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Mitoxantrona SR-FA. Impureza A de Mitoxantrona SR-FA: 1-Amino-5,8-dihidroxi-4-[[2-[(2-hidroxietil)amino]etil]amino]antraceno-9,10-diona.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.* Disolver entre 2 y 3 mg de Clorhidrato de Mitoxantrona en 1 ml de metanol, calentando en un baño de agua a una temperatura entre 40 y 50 °C. Evaporar hasta sequedad bajo corriente de nitrógeno seco calentando suavemente si fuera necesario. Proceder del mismo modo con la *Sustancia de referencia*.

B - Debe responder a los ensayos para *Cloruros* <410>.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 6,0 %; determinado sobre 300 mg.

Límite de alcohol

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de 2 m × 3 mm con fase estacionaria constituida por un copolímero de etinildivinilbenceno-divinilbenceno. Mantener la columna, el inyector y el detector aproximada-

mente a 120, 175 y 210 °C, respectivamente. Emplear helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 19,0 ml por minuto.

Solución del estándar interno - Diluir 2,0 ml de propanol a 100,0 ml con agua. Diluir 5,0 ml de esta solución a 100,0 ml con en el mismo solvente.

Solución estándar - Diluir 2,0 ml de *Alcohol* a 100 ml con agua. Diluir 5,0 ml de esta solución a 100 ml con el mismo solvente. Transferir 10 ml de la solución resultante y 10,0 ml de *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 25 ml y completar a volumen con agua.

Solución muestra - Mezclar 100 mg de Clorhidrato de Mitoxantrona con 2,0 ml de *Solución del estándar interno* y diluir a 5,0 ml con agua. Sonicar durante 2 minutos y agitar durante 2 minutos más. Repetir el proceso de sonicación y agitación hasta disolución completa.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de alcohol y propanol no debe ser menor de 6,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo, volúmenes iguales (aproximadamente 1 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos. Calcular el porcentaje p/p de alcohol en la porción de Clorhidrato de Mitoxantrona en ensayo, considerando que la densidad del alcohol a 20 °C es 0,790 g/ml. No debe contener más de 1,6 % de alcohol.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico, Solución de heptano-sulfonato de sodio, Fase móvil, Solución de resolución y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* según se indica en *Valoración*.

Solución estándar A - Transferir 1,0 ml de *Solución muestra* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución estándar B - Transferir 1,0 ml de *Solución estándar A* a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 µl) de las *Soluciones estándar A* y *B* y la *Solución muestra*. Registrar el cromatograma de la *Solución muestra* durante al menos tres veces el tiempo de retención del pico de mitoxantrona y medir las respuestas de todos los picos. A excepción del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta de ningún pico debe ser mayor a la respuesta del pico principal

obtenido con la *Solución estándar A* (1,0 %) y la suma de las respuestas de todos los picos no debe ser mayor a dos veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (2,0 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta inferior a la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar B*.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm × 3,0 mm con fase estacionaria constituida por grupos fenilo químicamente unidos a partículas porosas de sílice de 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 3,0 ml por minuto.

Solución de heptanosulfonato de sodio - Disolver 4,4 g de 1-heptanosulfonato de sodio en aproximadamente 30 ml de agua y diluir a 50 ml con el mismo solvente. Filtrar a través de un filtro de 0,5 µm o menor y transferir a un matraz aforado de 50 ml. Lavar el filtro con aproximadamente 10 ml de agua y combinar el filtrado con los lavados. Agregar 6,4 ml de ácido acético glacial al matraz, completar a volumen con agua y mezclar.

Fase móvil - Agua, acetonitrilo y *Solución de heptanosulfonato de sodio* (750:250:25). Desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 20,0 mg de Clorhidrato de Mitoxantrona SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en aproximadamente 40 ml de *Fase móvil*, sonicando si fuera necesario, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Clorhidrato de Mitoxantrona, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en aproximadamente 40 ml de *Fase móvil*, sonicando si fuera necesario, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

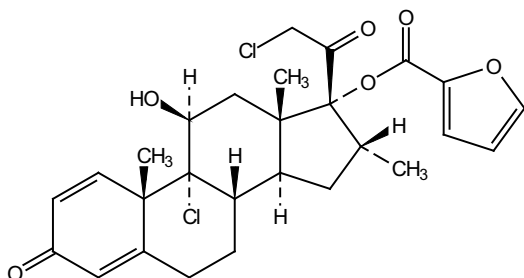
Solución de resolución - Disolver 2,0 mg de Impureza A de Mitoxantrona SR-FA en 1,0 ml de *Preparación estándar*.

Aptitud del sistema (ver *100. Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de mitoxantrona e impureza A de mitoxantrona no debe ser menor de 3,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la

cantidad de $C_{22}H_{30}Cl_2N_4O_6$ en la porción de Clorhidrato de Mitoxantrona en ensayo.

MOMETASONA, FUROATO DE



$C_{27}H_{30}Cl_2O_6$

PM: 521,4

83919-23-7

Definición - Furoato de Mometasona es (11 β ,16 α)-9,21-Dicloro-17-[(2-furanilcarbonyl)oxi]-11-hidroxi-16-metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{27}H_{30}Cl_2O_6$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Funde aproximadamente a 220 °C, con descomposición. Soluble en acetona y cloruro de metileno; poco soluble en alcohol; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Furoato de Mometasona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*, ambos relativos al estándar interno.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +56° y +62°.

Solución muestra: 5 mg por ml, en dioxano.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,003 %.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo y acetato de etilo (3:1).

Soluciones estándar - Preparar una solución de Furoato de Mometasona SR-FA en diclorometano de aproximadamente 10 mg por ml. Diluir esta solución con diclorometano para obtener cinco *Soluciones estándar* con las siguientes concentraciones:

Solución estándar	Concentración (mg por ml)	% con respecto a la muestra
A	0,5	5,0
B	0,2	2,0
C	0,1	1,0
D	0,02	0,2
E	0,01	0,1

Solución muestra - Preparar una solución de Furoato de Mometasona en diclorometano de aproximadamente 10 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 40 μ l de la *Solución muestra* y 40 μ l de las *Soluciones estándar A, B, C, D, y E*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y secar al aire. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: ninguna mancha secundaria del cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser mayor en tamaño o intensidad que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar C* (1 %); y la suma de las intensidades de todas las manchas secundarias en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar B* (2,0 %).

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas totalmente porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,7 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol y agua (65:35). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Metanol, agua y ácido acético (65:35:0,2).

Solución del estándar interno - Pesar exactamente alrededor de 40 mg de *Dipropionato de Beclometasona*, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver con *Diluyente*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

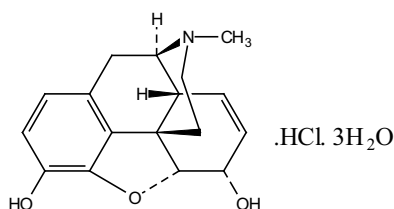
Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Furoato de Mometasona SR-FA en metanol y diluir cuantitativamente con *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml. Transferir volúmenes iguales de esta solución y de *Solución del estándar interno*, y diluir cuantitativamente con *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,02 mg por ml de Furoato de Mometasona y 0,08 mg por ml de dipropionato de beclometasona.

Preparación muestra - Disolver una cantidad exactamente pesada de Furoato de Mometasona en metanol y diluir cuantitativamente con *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml. Transferir 10,0 ml de esta solución y 10,0 ml de *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 1,6 para dipropionato de beclometasona y 1,0 para furoato de mometasona; la resolución *R* entre los picos de furoato de mometasona y dipropionato de beclometasona no debe ser menor de 4,0; el factor de asimetría para el pico de furoato de mometasona no debe ser mayor de 1,8; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{27}H_{30}Cl_2O_6$ en la porción de Furoato de Mometasona en ensayo.

MORFINA, CLORHIDRATO DE



C₁₇H₂₀ClNO₃ · 3H₂O PM: 375,8 52-26-6

Definición - Clorhidrato de Morfina es el Clorhidrato de (5 α ,6 α)-7,8-didehidro-4,5-epoxi-17-metilmorfinan-3,6-diol trihidrato. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de C₁₇H₂₀ClNO₃, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino, blanco o casi blanco, o agujas sedosas incoloras o en forma de masas cúbicas. Eflorescente en atmósfera seca. Soluble en agua y en glicerol; poco soluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Colocar 1 mg de Clorhidrato de Morfina pulverizado en un crisol de porcelana o cápsula pequeña y agregar 0,5 ml de ácido sulfúrico que contenga por cada ml, 1 gota de formaldehído (SR): se debe producir inmediatamente un color púrpura intenso, el cual rápidamente debe cambiar a violeta.

B - Disolver en un tubo de ensayo 5 mg de Clorhidrato de Morfina en 5 ml de agua. Agregar 3 gotas de una solución recientemente preparada de aproximadamente 10 g/l de ferricianuro de potasio (SR) y 1 gota de cloruro férrico (SR): se debe producir inmediatamente una coloración azul.

C - Una solución de Clorhidrato de Morfina 1 en 50 debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Acidez

Disolver 500 mg de Clorhidrato de Morfina en agua y diluir a 25 ml, agregar 1 gota de rojo de metilo (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,020 N: no debe consumir más de 0,20 ml para producir una coloración amarilla.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre - 110° y - 115°.

Solución muestra: 20 mg por ml, en agua.

Meconato

Disolver 500 mg de Clorhidrato de Morfina en agua y diluir hasta 25 ml. A 10 ml de esta solución agregar 1 ml de ácido clorhídrico y 0,1 ml de cloruro férrico (SR). Determinar la absorbancia de esta solución a 480 nm: no debe ser mayor de 0,2 %. Emplear una solución blanco preparada simultáneamente y del mismo modo empleando 10 ml de agua.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 % determinados sobre el residuo del ensayo de *Pérdida por secado*.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver *100. Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno, acetona, etanol, agua y amoníaco concentrado (35:32,5:24,5:10,5:2,5).

Diluyente - Alcohol y agua (50:50).

Solución muestra - Disolver 100 mg de Clorhidrato de Morfina en *Diluyente* y diluir hasta 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar - Disolver 50 mg de *Fosfato de Codeína* en 5 ml de la *Solución muestra*. Diluir 0,1 ml de esta solución hasta 10 ml con *Diluyente*.

Revelador 1 - Solución de iodobismutato de potasio (SR).

Revelador 2 - Solución de peróxido de hidrógeno (SR) 1 en 10.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Secar la placa con una corriente de aire. Pulverizar con *Revelador 1* y secar durante 15 minutos en una corriente de aire. Pulverizar con *Revelador 2*. La mancha correspondiente a la codeína en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser más intensa que la mancha correspondiente en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar* (1 %). A excepción de la mancha principal y la correspondiente a la codeína, en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar*, ninguna mancha debe ser más intensa a la mancha correspondiente a la Morfina (1 %). El ensayo solo es válido si el cromatograma obtenido con la *Solución estándar* presenta dos manchas completamente separadas.

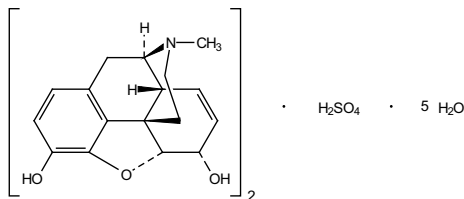
Pérdida por secado <680>

Secar 500 mg de Clorhidrato de Morfina en estufa a 130 °C: no debe perder más de 15 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 350 mg de Clorhidrato de Morfina, disolver en ácido acético anhidro, calentar si fuera necesario. Dejar enfriar y agregar 6 ml de una solución de acetato mercuríco (SR1). Titular con ácido perclórico 0,1 N empleando 0,1 ml de solución de cristal violeta como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 32,18 mg de $C_{17}H_{20}ClNO_3$.

MORFINA, SULFATO DE



$(C_{17}H_{19}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 5H_2O$ PM: 758,9
6211-15-0

Anhidro PM: 668,7
64-31-3

Definición - Sulfato de Morfina es Sulfato de $(5\alpha,6\alpha)$ -7,8-didehidro-4,5-epoxi-17-metilmorfinan-3,6-diol (2:1) (sal) pentahidrato. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $(C_{17}H_{19}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales blancos, sedosos, con aspecto de plumas o en forma de masas cúbicas, o polvo blanco cristalino. Inodoro. Cuando se expone al aire pierde gradualmente agua de hidratación. Se oscurece por exposición prolongada a la luz. Fácilmente soluble en agua caliente; soluble en agua; poco soluble en alcohol pero más soluble en alcohol caliente; insoluble en cloroformo y en éter.

Sustancia de referencia - Sulfato de Morfina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. [NOTA: Secar a 145 °C durante 1 hora].

B - Colocar 1 mg de Sulfato de Morfina en un crisol de porcelana o cápsula pequeña y agregar 0,5 ml de ácido sulfúrico que contenga, por cada ml, 1 gota de formaldehído (SR): se debe producir inmediatamente una coloración púrpura intensa, la cual rápidamente debe cambiar a azul-violeta profundo, a diferencia de codeína en que produce inmediatamente una coloración violeta-azul intensa y de hidromorfona en que produce al principio una coloración amarillo pardusca, que cambia a rosada y luego a rojo púrpura.

C - Disolver en un tubo de ensayo 5 mg de Sulfato de Morfina en 5 ml de ácido sulfúrico. Agregar 1 gota de cloruro férrico (SR), mezclar y

calentar en agua hirviendo durante 2 minutos: se debe producir una coloración azul y cuando se agrega 1 gota de ácido nítrico debe cambiar a rojo-pardusco oscuro (codeína y etilmorfina dan las mismas reacciones de coloración, pero hidromorfona y papaverina no producen este cambio de coloración).

D - Una solución de Sulfato de Morfina 1 en 50 debe responder a los ensayos para *Sulfato* <410>.

Acidez

Disolver 500 mg de Sulfato de Morfina en 15 ml de agua, agregar 1 gota de rojo de metilo (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,020 N: no debe consumir más de 0,50 ml para producir una coloración amarilla.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -107° y -109,5°.

Solución muestra: el equivalente a 20 mg por ml, en agua.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 10,4 y 13,4 %.

Cloruro

A 10 ml de una solución de Sulfato de Morfina 1 en 100 agregar 1 ml de ácido nítrico 2 N y 1 ml de nitrato de plata (SR): no se debe producir de inmediato ningún precipitado o turbidez.

Sales de amonio

Calentar en un baño de vapor 200 mg de Sulfato de Morfina con 5 ml de hidróxido de sodio 1 N durante 1 minuto: no se debe percibir olor a amoníaco.

Límite de alcaloides extraños

Disolver 1,0 g de Sulfato de Morfina en 10 ml de hidróxido de sodio 1 N en una ampolla de decantación y agitar la solución con tres porciones sucesivas de 15, 10 y 10 ml de cloroformo, pasar las soluciones clorofórmicas a través de un filtro pequeño previamente humedecido con cloroformo. Agitar las soluciones combinadas de cloroformo con 5 ml de agua, separar la capa clorofórmica y evaporar hasta sequedad cuidadosamente en un baño de vapor. Agregar al residuo 10 ml de ácido sulfúrico 0,020 N y calentar suavemente hasta disolver. Enfriar, agregar 2 gotas de rojo de metilo (SR) y titular el exceso de ácido con hidróxido de sodio 0,020 N: no debe consumir menos de 7,5 ml (1,5 %).

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %, determinado sobre 500 mg.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 284 nm y una columna de 30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser de aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 0,73 g de 1-heptanosulfonato de sodio en 720 ml de agua, agregar 280 ml de metanol y 10 ml de ácido acético glacial, mezclar. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad, exactamente pesada, de Sulfato de Morfina SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente y en etapas si fuera necesario, con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,24 mg por ml. [NOTA: preparar esta solución el día de su uso.]

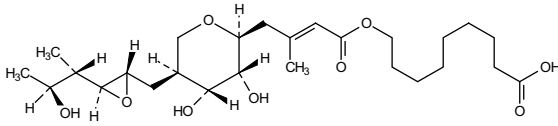
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 24 mg de Sulfato de Morfina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en *Fase móvil*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución de aptitud del sistema - Disolver cantidades adecuadas de Sulfato de Morfina SR-FA y fenol en *Fase móvil* hasta obtener una solución de aproximadamente 0,24 y 0,15 mg por ml, respectivamente.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y la *Solución de aptitud del sistema*. Registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,7 para fenol y 1,0 para sulfato de morfina; el factor de asimetría para el pico de sulfato de morfina no debe ser mayor de 2,0; la resolución *R* entre los picos de fenol y sulfato de morfina no debe ser menor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 25 μl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $(C_{17}H_{19}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4$ en la porción de Sulfato de Morfina en ensayo.

MUPIROCINA



C₂₆H₄₄O₉ PM:500,6 12650-69-0

Definición - Mupirocina es Ácido [2*S*-2*α*(*E*), 3*β*, 4*β*, 5*α* [2*R**, 3*R**(1*R**, 2*R**)]]-9-[3-metil-1-oxo-4-[tetrahidro-3,4-dihidroxi-5-[[3-(2-hidroxi-1-metil propil)oxiranil]metil]-2*H*-piran-2-il]-2-butenil] oxi] nonanoico. Debe contener no menos de 920 µg y no más de 1.020 µg de C₂₆H₄₄O₉ por mg, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en acetona, alcohol absoluto, cloroformo y metanol; poco soluble en éter; muy poco soluble en agua.

Sustancia de referencia - Mupirocina de Litio SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. Proceder según se indica en *Identificación por medio de espectros de referencia*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Cristalinidad

Colocar partículas de Mupirocina en aceite mineral, sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas deben presentar birrefringencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

Determinación del pH <250>

Entre 3,5 y 4,5, en solución acuosa saturada.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 1,0 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 229 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución reguladora de pH 6,3 - Preparar una solución de fosfato monobásico de sodio 0,05 M y ajustar a pH 6,3 ± 0,2 con hidróxido de sodio 10 N.

Fase móvil - *Solución reguladora de pH 6,3* y acetonitrilo (75:25). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 11 mg de Mupirocina de Litio SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 25 ml de acetonitrilo y agitar para disolver. Completar a volumen con *Solución reguladora de pH 6,3* y mezclar.

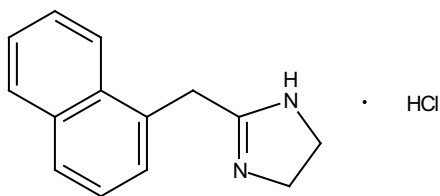
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 11 mg de Mupirocina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 25 ml de acetonitrilo y agitar para disolver. Completar a volumen con *Solución reguladora de pH 6,3* y mezclar.

Solución de resolución - A 10 ml de la *Preparación estándar* agregar ácido clorhídrico 6 N para ajustar a pH 2,0. Dejar reposar aproximadamente durante 2 horas y ajustar a pH 6,3 ± 0,2 con hidróxido de sodio 5 N.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser 0,9 para el producto de hidrólisis ácida de mupirocina y 1,0 para mupirocina; la resolución *R* no debe ser menor de 2,0. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la eficiencia de la columna no debe ser menor de 1.500 platos teóricos; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₂₆H₄₄O₉ en la porción de Mupirocina en ensayo.

NAFAZOLINA, CLORHIDRATO DE



$C_{14}H_{14}N_2 \cdot HCl$ PM: 246,7 550-99-2

Definición.- El Clorhidrato de Nafazolina es Clorhidrato de 2-(1-naftilmetil)imidazolina. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_{14}H_{14}N_2 \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco. Funde aproximadamente a 255 °C, con descomposición. Fácilmente soluble en agua y alcohol; muy poco soluble en cloroformo; prácticamente insoluble en éter.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Nafazolina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: metanol.

Concentración: 20 µg por ml.

Las absorptividades a 280 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

C - Una solución de Clorhidrato de Nafazolina 1 en 100 debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 5,0 y 6,6, determinado sobre una solución 1 en 100 en agua libre de dióxido de carbono: la solución debe ser transparente e incolora.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Impurezas comunes <510>

Solución muestra y Solución estándar: emplear metanol como solvente.

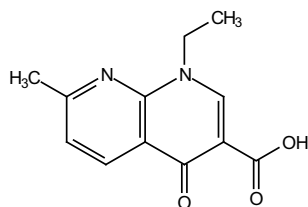
Fase móvil: Metanol, ácido acético glacial y agua (8:1:1).

Revelador: 2.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 300 mg de Clorhidrato de Nafazolina, disolver en 50 ml de ácido acético glacial, agregar 10 ml de acetato mercúrico (SR) y 1 gota de cristal violeta (SR). Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) hasta punto final verde azulado. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 24,67 mg de $C_{14}H_{14}N_2 \cdot HCl$.

NALIDÍXICO, ÁCIDO



$C_{12}H_{12}N_2O_3$ PM: 232,2 389-08-2

Definición - Ácido Nalidíxico es el Ácido 1-etil-1,4-dihidro-7-metil-4-oxo-1,8-naftiridina-3-carboxílico. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{12}H_{12}N_2O_3$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o amarillo muy pálido. Soluble en cloroformo, cloruro de metileno y soluciones de hidróxidos o carbonatos alcalinos; poco soluble en acetona, alcohol, metanol y tolueno; muy poco soluble en agua y éter.

Sustancia de referencia - Ácido Nalidíxico SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Disolver 12,5 mg de Ácido Nalidíxico en hidróxido de sodio 0,1 N y diluir a 50,0 ml con el mismo solvente. Transferir 2,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con hidróxido de sodio 0,1 N. Examinar entre 230 y 350 nm. La solución debe presentar dos máximos de absorción a 258 y 334 nm. La relación de absorbancias a 258 y 334 nm debe estar comprendida entre 2,2 y 2,4.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 225 y 231 °C.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Alcohol, cloroformo e hidróxido de amonio 5 M (70:20:10).

Solución estándar - Preparar una solución de Ácido Nalidíxico SR-FA en cloroformo de aproximadamente 1,0 mg por ml. Diluir cuantitativamente con cloroformo para obtener *Soluciones estándar* con las siguientes concentraciones:

Solución estándar	Dilución	Concentración (mg por ml)	% con respecto a la muestra
A	1 en 10	0,10	0,5
B	1 en 25	0,04	0,2
C	1 en 50	0,02	0,1

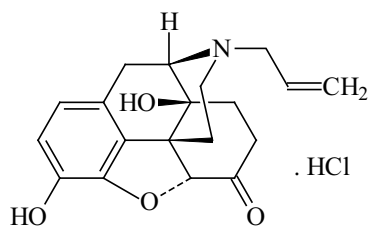
Solución muestra - Disolver una cantidad exactamente pesada de Ácido Nalidíxico en cloroformo para obtener una solución de aproximadamente 20 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de la *Solución muestra* y 10 µl de cada *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y secar bajo una corriente de aire caliente. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm. Comparar la intensidad de cualquier mancha secundaria obtenida en el cromatograma a partir de la *Solución muestra* con las intensidades de las manchas principales en los cromatogramas obtenidos con las *Soluciones estándar*: ninguna mancha secundaria debe ser más intensa que la mancha principal obtenida a partir de la *Solución estándar A* (0,5 %).

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Ácido Nalidíxico, disolver en 30 ml de dimetilformamida, previamente neutralizada frente a la timolftaleína (SR). Titular con metóxido de litio 0,1 N (SV), empleando un agitador magnético y evitando la absorción de dióxido de carbono atmosférico. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada ml de metóxido de litio 0,1 N equivale a 23,22 mg de $C_{12}H_{12}N_2O_3$.

NALOXONA, CLORHIDRATO DE



$C_{19}H_{21}NO_4 \cdot HCl$ PM: 363,8 357-08-4
Dihidrato PM: 399,9 51481-60-8

Definición - Clorhidrato de Naloxona es Clorhidrato de 17-alil-4,5- α -epoxi-3,14-dihidroxiomorfinan-6-ona. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_{19}H_{21}NO_4 \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Sus soluciones acuosas son ácidas. Soluble en agua, ácidos diluidos y álcalis fuertes; poco soluble en etanol; prácticamente insoluble en cloroformo y éter.

Sustancias de referencia - Naloxona SR-FA. Clorhidrato de Noroximorfona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. Disolver 150 mg de Clorhidrato de Naloxona en 25 ml de agua en una ampolla de decantación, agregar lentamente algunas gotas de hidróxido de amonio 6 N hasta que se forme un precipitado blanco. Extraer con tres porciones de 5 ml de cloroformo y filtrar los extractos a través de un filtro seco, recolectando el filtrado en un matraz. Evaporar el filtrado hasta sequedad en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -170° y -181°.

Solución muestra: 25 mg por ml, en agua.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C hasta peso constante: la forma anhidra no debe perder más de 0,5 % de su peso; la forma hidratada no debe perder más de 11,0 % de su peso.

Clorhidrato de noroximorfona [clorhidrato de (-) 4,5- α -epoxi-3,14-dihidroxiomorfinan-6-ona] y otras impurezas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor, previamente activada por calentamiento durante 15 minutos a 105 °C.

Solución de butanol amoniacal - Agitar 100 ml de alcohol butílico con 60 ml de solución de hidróxido de amonio 1 en 100, descartando la fase inferior.

Fase móvil - Emplear una solución 1 en 20 de metanol en *Solución de butanol amoniacal*.

Solución estándar A - Preparar una solución de Naloxona SR-FA en cloroformo de aproximadamente 7,6 mg por ml.

Solución estándar B - Preparar una solución de Clorhidrato de Noroximorfona SR-FA en metanol diluido 3 en 5 de aproximadamente 0,084 mg por ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 40 mg de Clorhidrato de Naloxona, transferir a un matraz aforado de 5 ml, disolver completamente en 2,0 ml de agua, completar a volumen con metanol y mezclar.

Revelador - [NOTA: preparar en el momento de su uso]. Disolver 100 mg de ferricianuro de potasio en 20 ml de una solución de cloruro férrico 1 en 10.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 μ l de la *Solución muestra* y 5 μ l de las *Soluciones estándar A* y *B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas, protegidos de la luz, hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y secarla perfectamente. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar al obtenido con la *Solución estándar A*; y a excepción de la mancha principal y la mancha en el origen (cloruro de amonio), ninguna mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser más intensa que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar B* (1,0 %).

Contenido de cloruro

Pesar exactamente alrededor de 300 mg de Clorhidrato de Naloxona y disolver en 50 ml de metanol en un erlenmeyer de 125 ml. Agregar 5 ml de ácido acético glacial y 2 gotas de eosina (SR) y titular con nitrato de plata 0,1 N (SV) hasta punto final de color rosado. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de nitrato de plata 0,1 N equivale a 3,545 mg de cloruro. No debe contener menos de

9,54 % ni más de 9,94 %, calculado sobre la sustancia seca.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 300 mg de Clorhidrato de Naloxona, previamente secados, y disolver en una mezcla de 40 ml de ácido acético glacial y 10 ml de anhídrido acético. Agregar 10 ml de acetato mercurico (SR) y 1 gota de violeta de metilo (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 36,38 mg de $C_{19}H_{21}NO_4 \cdot HCl$.

NEOMICINA, SULFATO DE

1405-10-3

Definición - Sulfato de Neomicina es el sulfato de una clase de neomicina o una mezcla de dos o más de sus sales. La neomicina es una sustancia antibacteriana producidas por el crecimiento de *Streptomyces fradiae* Waksman (Streptomycetaceae). Debe tener una potencia equivalente a no menos de 600 µg de neomicina por mg, calculada sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco a débilmente amarillento. Higroscópico. Sus soluciones son dextrorrotatorias. Fácilmente soluble en agua; muy poco soluble en alcohol; insoluble en acetona, cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Sulfato de Neomicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - [NOTA: preparar en el momento de su uso]. Agua, acetona e hidróxido de amonio (71,5:20:8,5).

Solución estándar - Preparar una solución de Sulfato de Neomicina SR-FA en agua de aproximadamente 20 mg por ml.

Solución muestra - Preparar una solución de Sulfato de Neomicina en agua de aproximadamente 20 mg por ml.

Revelador - Solución de ninhidrina en butanol 1 en 100.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 1 µl de la *Solución muestra* y 1 µl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente, secar al aire y calentar a 105 °C durante 1 hora. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*, calentar a 105 °C durante 5 minutos y examinar los cromatogramas: el valor de R_f de la mancha roja principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar al obtenido con la *Solución estándar*.

B - Disolver aproximadamente 10 mg de Sulfato de Neomicina en 1 ml de agua, agregar 5 ml de ácido sulfúrico 15 N y calentar a 100 °C durante 100 minutos. Dejar enfriar, agregar 10 ml de xileno y agitar durante 10 minutos. Dejar separar y decantar la fase de xileno. A la fase de xileno agregar 10 ml de *p*-bromoanilina (SR) y agitar: se debe producir un color rojo rosado intenso al dejar en reposo.

C - Una solución de Sulfato de Neomicina 1 en 20 debe responder a los ensayos para *Sulfato* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 5,0 y 7,5; determinado sobre una solución de aproximadamente 33 mg de neomicina por ml.

Pérdida por secado <680>

Secar aproximadamente 100 mg al vacío a una presión que no exceda de 5 mm Hg a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 8,0 % de su peso.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indica que el Sulfato de Neomicina es estéril o que debe someterse a un tratamiento adicional durante la preparación de formas farmacéuticas inyectables, no debe contener más de 1,30 Unidades de Endotoxina por mg de neomicina.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indica que el Sulfato de Neomicina es estéril, debe cumplir con los requisitos según se indica en *Método de filtración por membrana*.

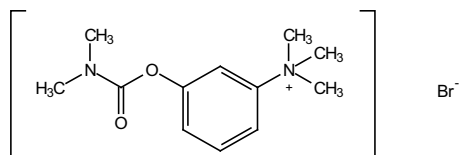
VALORACIÓN

Proceder con Sulfato de Neomicina según se indica en 770. *Valoración microbiológica de antibióticos*.

ROTULADO

Cuando el Sulfato de Neomicina esté destinado para la preparación de formas farmacéuticas inyectables, indicar en el rótulo que es estéril o que debe someterse a un tratamiento adicional durante la preparación de dichas formas farmacéuticas.

NEOSTIGMINA, BROMURO DE



$\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{BrN}_2\text{O}_2$ PM: 303,2 114-80-7

Definición - Bromuro de Neostigmina es Bromuro de 3-[[[(dimetilamino)carbonil]oxi]-*N,N,N*-trimetilbencenamónio. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{BrN}_2\text{O}_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o cristales incoloros, higroscópico. Muy soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol.

Sustancia de referencia - Bromuro de Neostigmina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Una solución de Bromuro de Neostigmina 1 en 50 debe responder a los ensayos para *Bromuro* <410>.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 171 y 176 °C, con descomposición.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 2,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,15 %.

Sulfato

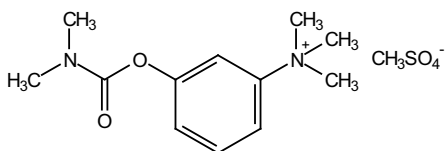
Disolver 250 mg de Bromuro de Neostigmina en 10 ml de agua y agregar 1 ml de ácido clorhídrico 3 N y 1 ml de cloruro de bario (SR): no se debe producir ninguna turbidez de inmediato.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 750 mg de Bromuro de Neostigmina, disolver en una mezcla de 70 ml de ácido acético glacial y 20 ml de acetato mercuríco (SR), agregar 4 gotas de cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV)

hasta punto final azul. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 30,32 mg de $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{BrN}_2\text{O}_2$.

NEOSTIGMINA, METILSULFATO DE



$C_{13}H_{22}N_2O_6S$

PM: 334,4

51-60-5

Definición - Metilsulfato de Neostigmina es Metil sulfato de 3-[[[(dimetilamino)carbonil]oxi]-*N,N,N*-trimetilbencenamónio. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{13}H_{22}N_2O_6S$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o cristales incoloros, higroscópicos. Muy soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol; prácticamente insoluble en éter.

Sustancia de referencia - Metilsulfato de Neostigmina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Transferir aproximadamente 1 mg de Metilsulfato de Neostigmina a una cápsula de porcelana, agregar 2 ml de agua y 0,5 ml de solución de hidróxido de sodio 2 en 5 y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Transferir el residuo a un tubo de ensayo y calentar rápidamente a 250 °C en un baño apropiado. Continuar a esa temperatura durante aproximadamente 30 segundos. Enfriar, disolver el residuo en 0,5 ml de agua, enfriar en agua helada y agregar 1 ml de ácido diazobencenosulfónico (SR): se debe producir color rojo cereza.

C - [Precaución - Realizar este ensayo bajo campana]. Mezclar aproximadamente 20 mg de Metilsulfato de Neostigmina con 500 mg de carbonato de sodio y calentar la mezcla hasta fusión en un crisol. Calentar a ebullición la masa fundida con 10 ml de agua hasta que se desintegre y filtrar. Agregar algunas gotas de bromo (SR) al filtrado, calentar a ebullición, acidificar con ácido clorhídrico y expulsar el bromo en exceso calentando a ebullición: la solución resultante debe responder a los ensayos para *Sulfato* <410>.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 144 y 149 °C, determinado luego de secar a 105 °C durante 3 horas.

Pérdida por secado <680>

Secar aproximadamente 300 mg de Metilsulfato de Neostigmina exactamente pesados a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de cloruro

A 10 ml de una solución de Metilsulfato de Neostigmina 1 en 50, agregar 1 ml de ácido nítrico 2 N y 1 ml de nitrato de plata (SR): no se debe producir opalescencia de inmediato.

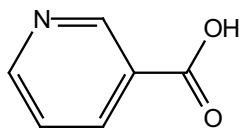
Límite de sulfato

A 10 ml de una solución de Metilsulfato de Neostigmina 1 en 50, agregar 1 ml de ácido clorhídrico 3 N y 1 ml de cloruro de bario (SR): no se debe producir turbidez de inmediato.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 300 mg de Metilsulfato de Neostigmina y disolver en 150 ml de agua. Agregar 100 ml de hidróxido de sodio al 8,5 % p/v y destilar. Recolectar el residuo sobre 40 ml de ácido bórico al 4 % p/v hasta obtener un volumen total de aproximadamente 250 ml. Titular con ácido clorhídrico 0,1 N (SV), empleando como indicador 0,25 ml de una solución preparada disolviendo 100 mg de rojo de metilo y 50 mg de azul de metileno en 100 ml de alcohol [NOTA: la zona de viraje de este indicador es de pH 5,2 a 5,6 y el cambio de color es de rojo-violeta a verde]. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido clorhídrico 0,1 N equivale a 33,44 mg de $C_{13}H_{22}N_2O_6S$.

NIACINA



$C_6H_5NO_2$ PM: 123,1 59-67-6

Sinonimia – Ácido Nicotínico.

Definición - Niacina es Ácido 3-piridincarboxílico. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_6H_5NO_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales blancos o polvo cristalino. Funde aproximadamente a 235 °C. Moderadamente soluble en agua; fácilmente soluble en agua a ebullición, en alcohol a ebullición y en soluciones de hidróxidos alcalinos y carbonatos; prácticamente insoluble en éter.

Sustancia de referencia - Niacina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: agua.

Concentración: 20 µg por ml.

La relación de absorbancias a 237 y 262 nm debe estar comprendida entre 0,35 y 0,39.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 1 hora: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Una porción de 0,50 g no debe presentar más cloruro que el que corresponde a 0,15 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,02 %).

Sulfato - Una porción de 0,50 g no debe presentar más sulfato que el correspondiente a 0,10 ml de ácido sulfúrico 0,020 N (0,02 %).

Límite de metales pesados <590>

Método I. Mezclar 1 g de Niacina con 4 ml de ácido acético 1 N, diluir con agua a 25 ml, calentar suavemente hasta disolución completa y enfriar: el límite es 0,002 %.

Impurezas comunes <510>

Solución muestra y **Solución estándar:** emplear agua como solvente.

Fase móvil: metanol y ácido clorhídrico 0,1 N (9:1).

Revelador: 1.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

Solución muestra - Transferir 100 mg de Niacina a un recipiente con tapa, agregar 5 ml de agua, tapar, sellar el mismo y calentar a 80 °C durante 60 minutos.

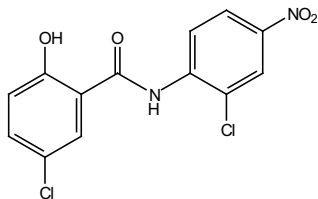
VALORACIÓN

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Niacina SR-FA en agua para obtener una solución de aproximadamente 20 µg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Niacina, transferir a un matraz aforado de 500 ml, agregar agua para disolver, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Determinar concomitantemente las absorbancias de la **Preparación estándar** y la **Preparación muestra** en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorción, 262 nm, con un espectrofotómetro, empleando agua como blanco. Calcular la cantidad de $C_6H_5NO_2$ en la porción de Niacina en ensayo.

NICLOSAMIDA



$C_{13}H_8Cl_2N_2O_4$

PM: 327,1

50-65-7

Definición - Niclosamida es 5-Cloro-N-(2-cloro-4-nitrofenil)-2-hidroxibenzamida. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{13}H_8Cl_2N_2O_4$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales finos, blanco-amarillentos o amarillentos. Moderadamente soluble en acetona; poco soluble en alcohol; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Niclosamida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Calentar una porción de Niclosamida sobre un hilo de cobre en una llama no luminosa: la llama se debe colorear de verde.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 227 y 232 °C.

Pérdida por secado <680>

Secar en estufa entre 100 y 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 230 nm y una columna de 12,5 cm × 4,0 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo y una solución de aproximadamente 2 g por litro de fosfato monobásico de potasio, 1 g por litro de fosfato dibásico

de sodio y 2 g por litro de sulfato ácido de tetrabutamonio (50:50). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Disolver 50 mg de Niclosamida en metanol, calentando suavemente. Enfriar y diluir a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar - Diluir 1,0 ml de la *Solución muestra* a 100 ml con acetonitrilo. Diluir 1,0 ml de esta solución a 20,0 ml con acetonitrilo.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: ajustar la sensibilidad del sistema de manera tal que la altura del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación estándar* sea al menos el 20 % de la escala completa del registrador.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*. Desarrollar los cromatogramas durante por lo menos dos veces el tiempo de retención de niclosamida. Si en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* aparecen picos distintos de los que corresponden a niclosamida y al solvente, la suma de sus respuestas no debe ser mayor que 4 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (0,2 %). Descartar cualquier pico con una respuesta 10 veces menor que la respuesta del pico de niclosamida obtenido con la *Solución estándar*.

Ácido 5-clorosalicílico

Solución muestra - A 1,0 g de Niclosamida, agregar 15 ml de agua y calentar a ebullición durante 2 minutos. Enfriar, filtrar y lavar el filtro. Recolectar el filtrado y los lavados, combinarlos y completar a 20,0 ml con agua.

Solución estándar - Disolver 30 mg de ácido 5-clorosalicílico con 20 ml de metanol y diluir a 100 ml con agua. Diluir 1,0 ml de esta solución a 100 ml con agua.

Procedimiento - A 10,0 ml de la *Solución muestra* y 10,0 ml de la *Solución estándar*, agregar por separado 0,1 ml de solución de cloruro férrico al 1,3 %: si la *Solución muestra* desarrolla un color violeta, éste no debe ser más intenso que el de la *Solución estándar* (60 ppm).

2-Cloro-4-nitroanilina

Solución muestra - A 250 mg de Niclosamida, agregar 5 ml de metanol, calentar a ebullición, enfriar y agregar 45 ml de ácido clorhídrico 1,0 M. Calentar nuevamente a ebullición, enfriar y filtrar. Diluir el filtrado a 50,0 ml con ácido clorhídrico 1,0 M.

Solución estándar - Disolver 50 mg de 2-cloro-4-nitroanilina en metanol y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Diluir 1,0 ml de esta solución a 100 ml con metanol. Diluir 2,0 ml de esta solución a 20,0 ml con ácido clorhídrico 1,0 M.

Procedimiento - A 10,0 ml de la *Solución muestra* y 10,0 ml de la *Solución estándar*, enfriados en un baño de hielo, agregar por separado 0,5 ml de una solución de nitrito de sodio al 0,5 % y dejar en reposo durante 3 minutos. Agregar 1 ml de una solución de sulfamato de amonio al 2 %, agitar, dejar en reposo durante 3 minutos y agregar 1 ml de una solución de diclorhidrato de *N*-(1-naftil)etilendiamina al 0,5 %: si la *Solución muestra* desarrolla un color violeta-rosado, éste no debe ser más intenso que el de la *Solución estándar* (100 ppm).

Cloruro

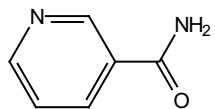
Solución muestra - Calentar a ebullición 2 g de Niclosamida en una mezcla de 1,2 ml de ácido acético y 40 ml de agua, durante 2 minutos. Enfriar y filtrar. Diluir 2 ml del filtrado a 15 ml con agua.

Procedimiento - A 15 ml de la *Solución muestra* agregar 1 ml de ácido nítrico al 12,5 % y transferir esta mezcla a un tubo de Nessler que contenga 1 ml de nitrato de plata (SR). Preparar una solución de comparación en las mismas condiciones, empleando una mezcla constituida por 10 ml de solución de cloruro (5 ppm) (SL) y 5 ml de agua. Examinar los tubos lateralmente sobre un fondo negro. Luego de 5 minutos, protegida de la luz, si la *Solución muestra* presenta opalescencia, ésta no debe ser más intensa que la de la solución de comparación (500 ppm).

VALORACIÓN

Disolver 300 mg de Niclosamida en 80 ml de una mezcla de acetona y metanol (50:50). Titular con hidróxido de tetrabutilamonio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de tetrabutilamonio 0,1 N equivale a 32,71 mg de $C_{13}H_8Cl_2N_2O_4$.

NICOTINAMIDA



$C_6H_6N_2O$ PM: 122,1 98-92-0

Sinonimia – Niacinamida.

Definición - Nicotinamida es 3-Piridincarboxamida. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,5 por ciento de $C_6H_6N_2O$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco, inodoro o prácticamente inodoro. Sus soluciones son neutras al tornasol. Fácilmente soluble en agua y alcohol; soluble en glicerina.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Nicotinamida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: agua.

Concentración: 20 μ g por ml.

Relación: A_{245}/A_{262} , entre 0,63 y 0,67.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 128 y 131 °C.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pérdida por secado <680>

Secar sobre gel de sílice durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,003 %.

Ensayo de sustancias fácilmente carbonizables <350>

Disolver 200 mg de Nicotinamida en 5 ml de ácido sulfúrico (SR): la solución no debe presentar más color que la *Solución de comparación A*.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm \times 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2 ml por minuto.

Fase móvil - 1-Heptanosulfonato de sodio 0,005 M y metanol (70:30). Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Nicotinamida SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en 3 ml de agua, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Transferir 4,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50,0 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

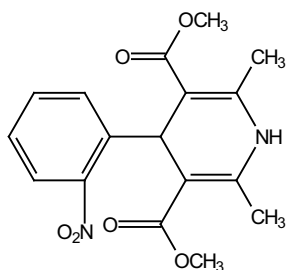
Preparación muestra - Proceder según se indica en *Preparación estándar*, excepto que se debe emplear Nicotinamida en lugar de Nicotinamida SR-FA.

Solución de resolución - Preparar una solución que contenga volúmenes iguales de *Preparación estándar* y de una solución de *Niacina* preparada en forma similar y con la misma concentración.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de niacina y nicotinamida no debe ser menor de 3,0. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_6H_6N_2O$ en la porción de Niacinamida en ensayo.

NIFEDIPINA



$C_{17}H_{18}N_2O_6$ PM: 346,3 21829-25-4

Definición - Nifedipina es Éster dimetílico del ácido 1,4-dihidro-2,6-dimetil-4-(2-nitrofenil)-3,5-piridindicarboxílico. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{17}H_{18}N_2O_6$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo amarillo. Inestable por exposición a la luz. Fácilmente soluble en acetona; prácticamente insoluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancias de referencia - Nifedipina SR-FA. Impureza A de Nifedipina SR-FA: 2,6-dimetil-4-(2-nitrofenil)piridina-3,5-dicarboxilato de dimetilo (Análogo Nitrofenilpiridínico de Nifedipina). Impureza B de Nifedipina SR-FA: 2,6-dimetil-4-(2-nitrosfenil)piridina-3,5-dicarboxilato de dimetilo (Análogo Nitrosfenilpiridínico de Nifedipina).

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

[NOTA: cuando se expone a la luz diurna y a ciertas longitudes de onda de luz artificial Nifedipina se transforma fácilmente en el derivado nitrosfenilpiridínico (impureza B). La exposición a la luz ultravioleta lleva a la formación del derivado nitrosfenilpiridínico (impureza A). Preparar las soluciones en el momento de su uso, en la oscuridad o bajo luz fluorescente u otra luz de longitud de onda superior a 420 nm. Emplear material de vidrio inactivo.]

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. [NOTA: no secar la muestra.]

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Pre-*

paración muestra se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Determinación del punto de fusión <260>

Método I. Calentar el baño hasta una temperatura de 10 °C por debajo del punto de fusión esperado y aumentar a razón de $1,0 \pm 0,5$ °C por minuto. Insertar el capilar cuando la temperatura sea aproximadamente 5 °C por debajo del límite inferior del intervalo de fusión y continuar el calentamiento hasta completar la fusión: entre 171 y 175 °C.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %, empleándose una temperatura de ignición de 600 °C.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C hasta peso constante: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Titulación con ácido perclórico

Transferir 4 g de Nifedipina exactamente pesados a un erlenmeyer de 250 ml y disolver en 160 ml de ácido acético glacial con la ayuda de un baño de ultrasonido. Agregar 3 gotas de *p*-naftolbenceína (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) hasta punto final color verde. No deben consumirse más de 0,12 ml de ácido perclórico 0,1 N por gramo de Nifedipina.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Transferir 5,0 g de Nifedipina a un vaso de precipitados de 150 ml y agregar 4,0 ml de ácido acético 6 N y 46 ml de agua. Calentar a ebullición cuidadosamente sobre una placa calefactora, enfriar y filtrar a través de papel libre de cloruro y sulfato. Emplear este filtrado para los ensayos de *Cloruro* y *Sulfato*.

Cloruro - Transferir 2,5 ml del filtrado a un tubo de Nessler de 50 ml y agregar 12,5 ml de agua. Transferir 10,0 ml de un control que contenga 8,2 µg de cloruro de sodio por ml (que corresponde a 5 µg de cloruro por ml) a otro tubo de Nessler, agregar 5,0 ml de agua y mezclar. Agregar a cada tubo 0,15 ml de ácido nítrico 0,3 M y 0,3 ml de nitrato de plata (SR) y mezclar: la opalescencia que presenta el filtrado no debe ser mayor que la del control (0,02 %).

Sulfato - A dos tubos de Nessler idénticos de 50 ml, transferir 1,5 ml de solución de sulfato que contenga suficiente sulfato de potasio disuelto en agua para obtener una concentración de 10 µg por ml de sulfato. Agregar a cada tubo, sucesivamente y con agitación constante, 0,75 ml de alcohol, 0,5 ml de una solución acuosa de cloruro de bario al

6,1 % y 0,25 ml de ácido acético 6 N. Agitar durante 30 segundos. Transferir a un tubo 15 ml de la solución de sulfato (*Control*). Transferir al otro tubo 3 ml del filtrado de Nifedipina y 12 ml de agua (*Solución muestra*): la turbidez que presenta la *Solución muestra* no debe ser mayor que la del *Control* (0,05 %).

Sustancias relacionadas

[NOTA: emplear material de vidrio inactínico. Realizar este ensayo rápidamente luego de preparar la *Solución estándar* y la *Solución muestra*.]

Sistema cromatográfico y Fase móvil - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar de Nifedipina - Disolver una cantidad exactamente pesada de Nifedipina SR-FA en metanol (aproximadamente 1 mg por ml) y diluir cuantitativamente con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,3 mg por ml.

Solución estándar A - Disolver una cantidad exactamente pesada de Impureza A de Nifedipina SR-FA en metanol (aproximadamente 1 mg por ml) y diluir cuantitativamente con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,6 µg por ml.

Solución estándar B - Disolver una cantidad exactamente pesada de Impureza B de Nifedipina SR-FA en metanol (aproximadamente 1 mg por ml) y diluir cuantitativamente con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,6 µg por ml.

Solución estándar - Transferir 5,0 ml de la *Solución estándar A* y 5 ml de la *Solución estándar B* a un recipiente apropiado, agregar 5,0 ml de *Fase móvil* y mezclar.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* obtenida en *Valoración*.

Solución de aptitud del sistema - Mezclar volúmenes iguales de la *Solución estándar de Nifedipina*, la *Solución estándar A* y la *Solución estándar B*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,8 para impureza A, 0,9 para impureza B y 1,0 para Nifedipina; la resolución *R* entre los picos de impureza A e impureza B no debe ser menor de 1,5; la resolución *R* entre los picos de impureza B y Nifedipina no debe ser menor de 1,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 10 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 25 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución*

muestra, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de cada impureza en la porción de Nifedipina en ensayo, a partir de las respuestas de los picos de la sustancia relacionada correspondiente obtenidas con la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. No debe contener más de 0,2 % de Impureza A y de Impureza B de Nifedipina.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

[NOTA: emplear material de vidrio inactínico. Realizar la *Valoración* rápidamente luego de preparar la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*.]

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 235 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, acetonitrilo y metanol (50:25:25). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

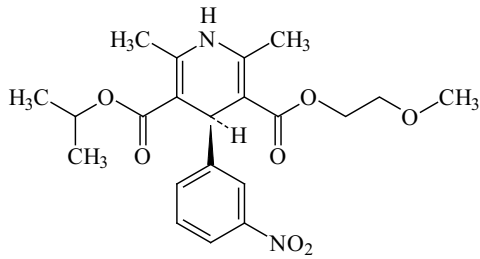
Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Nifedipina SR-FA en metanol (aproximadamente 1 mg por ml) y diluir cuantitativamente con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Nifedipina, transferir a un matraz aforado de 250 ml, disolver en 25 ml de metanol, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 4.000 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 1,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 25 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₁₇H₁₈N₂O₆ en la porción de Nifedipina en ensayo.

NIMODIPINA



C₂₁H₂₆N₂O₇

PM: 418,4

66085-59-4

Sinonimia - Nimodipino.

Definición - Nimodipina es el Éster 2-metoxietil 1-metiletil del ácido 1,4-dihidro-2,6-dimetil-4-(3-nitrofenil)-3,5-piridino dicarboxílico. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,5 por ciento de C₂₁H₂₆N₂O₇, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino amarillo o amarillo pálido. Fácilmente soluble en acetato de etilo; moderadamente soluble en alcohol; prácticamente insoluble en agua. Su exposición a la luz ultravioleta lleva a la formación del derivado nitro-piridina.

Presenta polimorfismo.

Sustancias de referencia - Nimodipina SR-FA. Impureza A de Nimodipina SR-FA: 2,6-dimetil-4-(3-nitrofenil)piridin-3,5-dicarboxilato de 2-metoxietil-1-metiletilo.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto, a 25 °C.

ENSAYOS

[NOTA: proteger la muestra, la *Sustancia de referencia* y las soluciones que las contengan de la luz, realizando todos los procedimientos inmediatamente luego de preparadas las soluciones y empleando material de vidrio inactínico].

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. [NOTA: si los espectros obtenidos presentan diferencias, registrarlos nuevamente a partir de soluciones al 2,0 % en cloruro de metileno, tanto de la muestra como de la *Sustancia de referencia*, empleando una celda de 0,2 mm de paso óptico].

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Sustancias relacionadas*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a

partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución estándar A*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -0,10° y +0,10°.

Solución muestra: 50 mg por ml en acetona.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 235 nm y una columna de 12,5 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. Mantener la columna a 40 °C. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, metanol y tetrahidrofurano (3:1:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 40 mg de Nimodipina y transferir a un matraz aforado de 25 ml. Disolver en 2,5 ml de tetrahidrofurano, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución estándar A - Pesar exactamente alrededor de 40 mg de Nimodipina SR-FA y transferir a un matraz aforado de 25 ml. Disolver en 2,5 ml de tetrahidrofurano, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Transferir 2,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Solución estándar B - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Impureza A de Nimodipina SR-FA y transferir a un matraz aforado de 25 ml. Disolver en 2,5 ml de tetrahidrofurano, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Solución estándar C - Transferir 2,5 ml de *Solución muestra* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución estándar D - Transferir 1,0 ml de *Solución estándar B* y 1,0 ml de *Solución estándar C* a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema - Cromatografiar la *Solución estándar D* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente

0,9 para impureza A de Nimodipina y 1,0 para Nimodipina; la resolución *R* entre los picos de impureza A de Nimodipina y Nimodipina no debe ser menor de 1,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser menor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución muestra*, la *Solución estándar A* y la *Solución estándar D*. Registrar el cromatograma de la *Solución muestra* durante al menos cuatro veces el tiempo de retención de Nimodipina y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de la impureza A de Nimodipina en la porción de Nimodipina en ensayo con respecto a la respuesta del pico de impureza A de Nimodipina en la *Solución estándar D*: no debe contener más de 0,1 % de impureza A de Nimodipina. Calcular el porcentaje de cualquier otra impureza de Nimodipina en la porción de Nimodipina en ensayo con respecto a la respuesta del pico de principal en la *Solución estándar A*: no debe contener más de 0,2 % de cualquier otra impureza individual y la sumatoria de impurezas totales no debe ser mayor de 0,5 %. Ignorar cualquier pico con una respuesta menor de 0,5 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar D*.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 180 mg de Nimodipina y transferir a un vaso de precipitados de 100 ml. Disolver, calentando suavemente y con agitación, en una mezcla de 25 ml de alcohol butílico terciario y 25 ml de ácido perclórico (SR). Agregar 0,1 ml de ferroína (SR) y titular con sulfato cérico 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de sulfato cérico 0,1 N equivale a 20,92 mg de $C_{21}H_{26}N_2O_7$.

NISTATINA

1400-61-9

Definición - Nistatina es una sustancia o una mezcla de dos o más sustancias producidas por el crecimiento de *Streptomyces noursei* (Streptomyce-taceae). Debe tener una potencia de no menos de 4.400 Unidades de Nistatina por mg o, cuando es destinada a la preparación extemporánea de suspen-siones orales, no menos de 5.000 Unidades de Nis-tatina por mg y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo de color amarillo a pardusco. Higroscópico. Se altera por exposición prolongada a la luz, al calor y al aire. Poco soluble a moderadamente soluble en metanol, alcohol *n*-propílico y alcohol *n*-butílico; prácticamente insoluble en agua y alcohol; insoluble en cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Nistatina SR-FA

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto y en un sitio fresco.

ENSAYOS

Identificación

Absorción ultravioleta <470>. Transferir 50 mg de Nistatina a un matraz aforado de 100 ml con tapón de vidrio. Agregar 25 ml de metanol y 5 ml de ácido acético glacial, completar a volumen con metanol y mezclar. Transferir 2 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volu-men con metanol y mezclar para obtener una solu-ción de aproximadamente 10 µg por ml.

Relación: la relación (A_{230}/A_{279}) debe estar com-prendida entre 0,9 y 1,25.

Determinación del pH <250>

Entre 6,0 y 8,0, determinado sobre una suspen-sión acuosa al 3 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 3,5 %.

Pérdida por secado <680>

Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Nis-tatina, secar en un pesafiltro provisto de tapa con perforación capilar, al vacío a una presión que no exceda los 5 mm Hg a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 5,0 % de su peso.

Ensayo de toxicidad anormal <360>

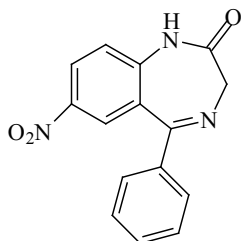
Cuando la Nistatina esté destinada a la prepara-ción de formas farmacéuticas de administración por vía oral debe cumplir con este ensayo. Inyectar a

cada ratón, por vía intraperitoneal, una cantidad de Nistatina equivalente a no menos de 600 Unidades de Nistatina, como suspensión en 0,5 ml de una solución de *Goma arábica* al 0,5 %.

VALORACIÓN

Proceder según se indica en 770. *Valoración microbiológica de antibióticos.*

NITRAZEPAM



$C_{15}H_{11}N_3O_3$ PM: 281,3 146-22-5

Definición - Nitrazepam es 1,3-Dihidro-7-nitro-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepin-2-ona. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{15}H_{11}N_3O_3$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino amarillo. Soluble en acetona; poco soluble en alcohol y éter; prácticamente insoluble en agua.

Sustancias de referencia - Nitrazepam SR-FA. Impureza A de Nitrazepam SR-FA: 3-Amino-6-nitro-4-fenilquinolin-2(1H)-ona.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - [NOTA: emplear recipientes de vidrio inactivo y medir las absorbancias de inmediato]. Disolver 25 mg de Nitrazepam en una solución al 0,5 % de ácido sulfúrico en metanol y diluir a 250 ml con el mismo solvente. Diluir 5 ml de esta solución a 100 ml con el mismo solvente y examinar bajo luz ultravioleta entre 230 y 350 nm (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*): esta solución debe presentar un máximo de absorción a 280 nm y el coeficiente de extinción específica $E(1\%, 1\text{ cm})$ a esta longitud de onda debe estar comprendido entre 890 y 950.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 226 y 230 °C.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Sustancias relacionadas

[NOTA: realizar el siguiente ensayo protegido de la luz].

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromato-*

grafía), recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Nitrometano y acetato de etilo (85:15).

Solución muestra - Disolver 200 mg de Nitrazepam en acetona y diluir a 10 ml con el mismo solvente. [NOTA: preparar esta solución en el momento de su uso].

Solución estándar A - Disolver 10 mg de aminonitrobenzofenona en acetona y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Diluir 10 ml de esta solución a 50 ml con acetona.

Solución estándar B - Disolver 10 mg de Impureza A de Nitrazepam SR-FA en acetona y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Diluir 10 ml de esta solución a 50 ml con acetona.

Solución estándar C - Diluir 1 ml de *Solución muestra* a 20 ml con acetona. Diluir 1 ml de esta solución a 50 ml con acetona.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μl de la *Solución muestra* y 10 μl de las *Soluciones estándar A, B y C*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, dejar secar al aire y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm: la mancha correspondiente a aminonitrobenzofenona en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar A* (0,1 %); la mancha correspondiente a impureza A de nitrazepam en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar B* (0,1 %); a excepción de la mancha principal y las manchas correspondientes a aminonitrobenzofenona y a impureza A de nitrazepam en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ninguna mancha debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar C* (0,1 %).

Límite de metales pesados <590>

Método VII. Preparar la *Solución muestra* a partir de 1,0 g de Nitrazepam y la *Solución estándar* empleando 2 ml de *Solución estándar de plomo* (10 ppm). No más de 0,002 %.

Pérdida por secado <680>

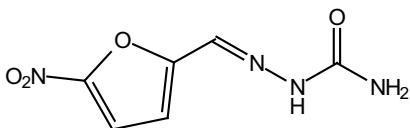
Secar entre 100 y 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Nitrazepam, disolver en 25 ml de anhídrido acético y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determi-

nando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 28,13 mg de $C_{15}H_{11}N_3O_3$.

NITROFURAL



$C_6H_6N_4O_4$ PM: 198,1 59-87-0

Sinonimia - Nitrofurazona.

Definición - Nitrofural es 2-[(5-Nitro-2-furil)metil]-hidrazincarboxamida. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_6H_6N_4O_4$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino amarillo. Se oscurece lentamente por exposición a la luz. Funde aproximadamente a 236 °C, con descomposición. Soluble en dimetilformamida; muy poco soluble en alcohol y agua; poco soluble en propilenglicol y mezclas de polietilenglicol; prácticamente insoluble en cloroformo y éter.

Sustancias de referencia - Nitrofural SR-FA. Impureza A de Nitrofural: 5-Nitro-2-furfuraldazina SR-FA

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto, evitando la exposición a la luz directa y al calor excesivo.

ENSAYOS

[NOTA: evitar exponer las soluciones de Nitrofural a la luz directa, al calor excesivo y a las sustancias alcalinas.]

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>.

Concentración: 8 µg por ml, preparada según se indica en *Valoración*.

Relación de absorbancias A_{306}/A_{375} : no debe ser mayor a 0,25.

C - Disolver 400 mg de hidróxido de potasio en 10 ml de alcohol. Inmediatamente antes de su uso, diluir esta solución a 100 ml con dimetilformamida. A 10 ml de la solución preparada agregar unos pocos cristales de Nitrofural: se debe producir una solución color púrpura.

Determinación del pH <250>

Suspender 1 g de Nitrofural en 100 ml de agua, agitar durante 15 minutos, dejar que la suspensión

sedimente y filtrar: el pH del filtrado debe estar comprendido entre 5,0 y 7,5.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 1 hora: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Impurezas comunes <510>

Solución muestra y Solución estándar: emplear dimetilformamida como solvente.

Volumen de aplicación: 10 µl.

Fase móvil: cloroformo, metanol e hidróxido de amonio (20:8:1), en una cámara no saturada.

Revelador: 1.

Límite de 5-nitro-2-furfuraldazina

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,5 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo y ciclohexano (4:1).

Solución estándar - Transferir 50,0 mg de 5-Nitro-2-furfuraldazina SR-FA a un matraz aforado de 100 ml, disolver en dimetilformamida, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 25 ml, agregar 10 ml de dimetilformamida, completar a volumen con acetona y mezclar.

Solución muestra - Transferir 2,0 g de Nitrofural a un matraz aforado de 100 ml. Disolver en 60 ml de dimetilformamida, completar a volumen con acetona y mezclar.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de la *Solución estándar* y 5 µl de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara y marcar el frente del solvente. Examinar la mancha producida por la *Solución estándar* y la mancha producida por la *Solución muestra*, con el mismo valor de R_f , con un densitómetro apropiado, equipado con un filtro cuya máxima transmitancia se encuentre a 254 nm. La integración de la intensidad de energía absorbida, barriendo el área de la mancha de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la correspondiente integración proveniente de la mancha de la *Solución estándar* (0,5 %).

VALORACIÓN

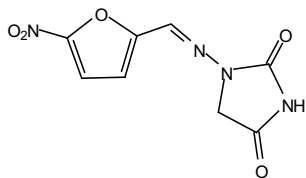
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Nitrofural, previamente seca-

dos, transferir a un matraz aforado de 250 ml, disolver en 50 ml de dimetilformamida, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 250 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación estándar - Preparar una solución de Nitrofural SR-FA de aproximadamente 8 µg por ml en el mismo medio empleado en la *Preparación muestra*.

Procedimiento - Determinar concomitantemente las absorbancias de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorción, a 375 nm, empleando agua como blanco (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*). Calcular la cantidad de $C_6H_6N_4O_4$ en la porción de Nitrofural en ensayo.

NITROFURANTOÍNA



$C_8H_6N_4O_5$ PM: 238,2 67-20-9
Monohidrato PM: 256,2 17140-81-7

Definición - Nitrofurantoina es 1-[[[(5-Nitro-2-furanyl)metil]amino]-2,4-imidazolidinodiona. Es anhidra o contiene una molécula de agua de hidratación. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_8H_6N_4O_5$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales amarillo limón o polvo fino. Inodoro. Soluble en dimetilformamida; muy poco soluble en agua y alcohol. Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Nitrofurantoina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

[NOTA: la Nitrofurantoina y sus soluciones se decoloran en presencia de álcalis y por exposición a la luz; se descompone en contacto con metales, a excepción de acero inoxidable y aluminio.]

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*. [NOTA: secar previamente la muestra a 140 °C durante 30 minutos.]

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con obtenido con la *Preparación estándar*.

Pérdida por secado <680>

Secar a 140 °C durante 30 minutos: la forma anhidra no debe perder más de 1,0 % de su peso y la forma hidratada entre 6,5 y 7,5 %.

Límite de diacetato de nitrofurfural

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo y metanol (9:1).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de diacetato de nitrofurfural en una mezcla de dimetilformamida y acetona (1 en 10) para obtener una solución con una concentración de aproximadamente 100 µg por ml.

Solución muestra - Transferir 100 mg de Nitrofurantoina a un matraz aforado de 10 ml, disolver en 1 ml de dimetilformamida, agregar acetona a volumen y mezclar.

Revelador - Emplear una solución preparada disolviendo 0,75 g de clorhidrato de fenilhidracina en 50 ml de agua. Decolorar con carbón activado, agregar 25 ml de ácido clorhídrico y mezclar con agua para obtener un volumen de 200 ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de la *Solución muestra* y 10 µl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente, dejar secar al aire durante 5 minutos y calentar la placa a 105 °C durante 5 minutos. Retirar la placa de la estufa y, mientras esté todavía caliente, pulverizar sobre la placa con *Revelador*: ninguna mancha con un R_f de aproximadamente 0,7 en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser mayor en tamaño o intensidad que la obtenida con la *Solución estándar* al mismo valor de R_f (1,0 % de diacetato de nitrofurfural).

Límite de nitrofurazona

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 375 nm y una columna de 30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,6 ml por minuto.

Solución reguladora de fosfato de pH 7,0 - Proceder según se indica en *Valoración*.

Fase móvil - *Solución reguladora de fosfato de pH 7,0* y tetrahidrofurano (9:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Preparar una solución de *nitrofurazona* en dimetilformamida para obtener una concentración de aproximadamente 5,0 µg por ml. Transferir 2 ml de esta solución a un matraz con tapón de vidrio, agregar 20,0 ml de agua y mezclar.

Solución muestra - Transferir 100 mg de Nitrofurantoina a un matraz de 25 ml con tapón de vidrio y disolver en 2,0 ml de dimetilformamida. Agregar

20,0 ml de agua, mezclar y dejar reposar durante 15 minutos para permitir que se forme un precipitado. Filtrar una porción de la solución a través de un filtro de membrana de nylon de 0,45 μm de porosidad y emplear el filtrado transparente.

Solución de resolución - Preparar una solución en dimetilformamida con concentraciones de aproximadamente 5,0 μg de nitrofurazona y nitrofurantoína por ml. Diluir 1 ml de esta solución con 10 ml de *Fase móvil*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el tiempo de retención del pico de nitrofurazona debe ser aproximadamente 10,5 minutos; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %. Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de nitrofurazona y nitrofurantoína no debe ser menor de 4,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (entre 60 y 100 μl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Si aparece un pico en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* con un tiempo de retención correspondiente al pico principal de la *Solución estándar* este no debe ser mayor que la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (0,01 %).

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm \times 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro.

Solución reguladora de fosfato de pH 7,0 - Disolver 6,8 g de fosfato monobásico de potasio en aproximadamente 500 ml de agua. Agregar suficiente hidróxido de sodio 1,0 N para ajustar a pH 7,0 (aproximadamente 30 ml), diluir con agua a 1 litro y mezclar.

Fase móvil - *Solución reguladora de fosfato de pH 7,0* y acetonitrilo (88:12). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución del estándar interno - Preparar una solución de acetanilida de aproximadamente 1 mg por ml.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Nitrofurantoína SR-FA, transferir a un matraz con tapón de vidrio, agregar

40,0 ml de dimetilformamida y disolver. Agregar 50,0 ml de *Solución del estándar interno* y mezclar.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Nitrofurantoína, transferir a un matraz con tapón de vidrio, agregar 40,0 ml de dimetilformamida y disolver. Agregar 50,0 ml de *Solución del estándar interno* y mezclar.

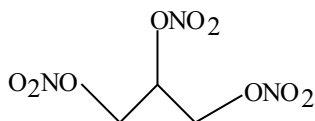
Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el tiempo de retención del pico de nitrofurantoína debe ser aproximadamente 8 minutos; la resolución *R* entre los picos de acetanilida y nitrofurantoína no debe ser menor de 3,0; la desviación estándar relativa del cociente de las respuestas de los picos para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (entre 5 y 10 μl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $\text{C}_8\text{H}_6\text{N}_4\text{O}_5$ en la porción de Nitrofurantoína en ensayo.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si es anhidra o monohidrato.

NITROGLICERINA DILUIDA



$C_3H_5N_3O_9$ PM: 227,1 55-63-0

Sinonimia - Trinitrato de Glicerilo.

Definición - Nitroglicerina Diluida es una mezcla de nitroglicerina (trinitrato de 1,2,3-propanotriol) con lactosa, dextrosa, alcohol, propilenglicol, u otros excipientes que permitan un tratamiento seguro. La mezcla generalmente contiene no más de 10,0 por ciento de Nitroglicerina ($C_3H_5N_3O_9$). Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_3H_5N_3O_9$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cuando se diluye con lactosa, es un polvo blanco inodoro. Si se diluye con propilenglicol o alcohol es un líquido límpido e incoloro o de color amarillo pálido. [NOTA: la nitroglicerina no diluida es un líquido denso, explosivo e inflamable, de un color entre blanco y amarillo pálido]. La Nitroglicerina no diluida es soluble en acetato de etilo, acetona, ácido acético glacial, alcohol, benceno cloroformo, cloruro de metileno, disulfuro de carbono, éter etílico, fenol, metanol, nitrobenzeno y tolueno; poco soluble en agua.

Sustancia de referencia - Nitroglicerina Diluida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto. Conservar a 25°C. Proteger de la exposición al calor excesivo.

Precaución - Considerar la concentración y cantidad de nitroglicerina ($C_3H_5N_3O_9$) presente en la Nitroglicerina Diluida, tomando las precauciones necesarias en el tratamiento de este material. La Nitroglicerina es un explosivo muy potente y puede detonar por percusión o calor excesivo. No debe ser aislada.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Pureza cromatográfica*. El valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir

de la *Solución muestra de identificación* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno y acetato de etilo (4:1).

Revelador - Preparar una solución de difenilamina en metanol (1 en 100).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Nitroglicerina Diluida SR-FA en metanol y diluir cuantitativamente con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 400 µg de nitroglicerina por ml.

Solución muestra de identificación - Preparar una solución límpida de Nitroglicerina Diluida en metanol, equivalente a 400 µg de nitroglicerina por ml.

Solución muestra - Transferir una porción exactamente pesada de Nitroglicerina Diluida, equivalente a 100 mg de nitroglicerina, a un matraz aforado de 5 ml, disolver en metanol, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Centrifugar, si fuera necesario, para obtener una solución límpida.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 20 µl de la *Solución muestra*, 5, 10, 15 y 20 µl de las *Solución estándar* y 20 µl de la *Solución muestra de identificación*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*. Irradiar la placa bajo luz ultravioleta, a 254 y 366 nm durante 15 minutos y examinar: ninguna mancha secundaria en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser más intensa que la mancha principal obtenida con la aplicación de 20 µl de *Solución estándar*. Comparar las intensidades de cualquier mancha secundaria observada en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* con las manchas principales obtenidas en los cromatogramas de la *Solución estándar* (correspondientes a 0,5, 1,0, 1,5 y 2,0 %, respectivamente): la suma de las intensidades de las manchas secundarias obtenidas a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor de

3 %. [NOTA: los valores de R_f para el mononitrato, dinitrato y trinitrato de glicerina son aproximadamente 0,21, 0,37, y 0,61, respectivamente.]

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 220 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro, y si fuera necesario, emplear una precolumna con la misma fase estacionaria. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol y agua (1:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Nitroglicerina Diluida SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 0,075 mg de nitroglicerina por ml.

Preparación muestra - Pesar una porción de Nitroglicerina Diluida, equivalente a 7,5 mg de nitroglicerina, transferir a un matraz aforado de 100 ml y disolver en 75 ml de *Fase móvil*. Sonicar durante 2 minutos o hasta dispersar por completo el sólido y agitar durante 30 minutos. Completar a volumen con *Fase móvil*, mezclar y filtrar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor que 3.000 platos teóricos; el factor de asimetría para el pico de Nitroglicerina Diluida no debe ser mayor de 2,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 3,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_3H_5N_3O_9$ en la porción de Nitroglicerina Diluida en ensayo.

NITROSO, ÓXIDO

PM 44,0

10024-97-2

Definición - Óxido Nitroso debe contener no menos de 98,0 por ciento, en volumen, de en la fase gaseosa, a temperatura de 20 °C y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

[NOTA: la presente monografía se aplica a Óxido Nitroso producido por descomposición térmica del nitrato de amonio.]

Caracteres generales - Gas incoloro, más denso que el aire; comburente. A la temperatura de 20 °C y bajo una presión de 101 kPa, un volumen de óxido nitroso medicinal se disuelve en 1,5 volúmenes de agua. Muy soluble en alcohol y éter etílico.

CONSERVACIÓN

En estado líquido, en equilibrio con su fase vapor, presurizado en cilindros metálicos de color azul. Sus conexiones y válvulas no deben ser engrasadas ni aceitadas. Almacenar en ambientes secos, ventilados, protegidos de condiciones climáticas adversas.

ENSAYOS

[NOTA: realizar los ensayos sobre la fase líquida o la fase gaseosa, según se indique en cada caso, reduciendo la presión del envase mediante un regulador. Antes de efectuar una toma de muestra de la fase gaseosa, debe mantenerse el cilindro en posición vertical, con la válvula de salida hacia arriba, a temperatura ambiente, durante al menos seis horas.]

Identificación

Realizar uno de los siguientes ensayos:

A - Absorción Infrarroja <460>. *En fase gaseosa.*

El espectro de Óxido Nitroso en ensayo se debe corresponder con el de Óxido Nitroso SR-FA.

B - Poder comburente.

Colocar una astilla de madera incandescente en una atmósfera de Óxido Nitroso. Debe inflamarse en forma instantánea.

Agitar aproximadamente 100 ml de Óxido Nitroso con 10 ml de pirogalol alcalino. El gas no debe ser absorbido y la solución no debe tornarse marrón (*descarta la presencia de oxígeno*).

C - Presión de Vapor.

Comparar la presión del cilindro que contiene el gas en ensayo con la de un cilindro de Óxido Nitroso SR-FA, a la misma temperatura, entre 15 y 25 °C. La diferencia de las lecturas debe ser menor

de 50 ± 1 psi. [NOTA: No se debe emplearse aquel cilindro de Óxido Nitroso SR-FA que contenga menos de la mitad de la masa de gas indicada en el rótulo.]

Pasar el Óxido Nitroso a través de un tubodetector de Dióxido de Carbono, al caudal especificado por el fabricante (ver *Tubos detectores* en 625. *Métodos de análisis para Gases Medicinales*). No se debe observar cambio de color (*descarta la presencia de dióxido de carbono*).

Monóxido de carbono

Debe contener no más de 5 ppm v/v.

Realizar uno de los siguientes ensayos:

A - Realizar el siguiente análisis cromatográfico (ver 100. *Cromatografía*)

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización de llama con metanizador y una columna de acero inoxidable de 2 m × 4 mm con fase estacionaria constituida por tamiz molecular de 0,5 nm de diámetro. Mantener el inyector y el detector a 130 °C y la columna a 50 °C. Se debe emplear helio como gas transportador y el caudal debe ser aproximadamente 60 ml por minuto.

Gas estándar - Emplear una mezcla que contenga 5 ppm v/v de Monóxido de Carbono SR-FA en Óxido Nitroso SR-FA (ver *Definiciones y Sustancias de referencia* en 625. *Métodos de análisis para Gases Medicinales*).

Gas muestra - Emplear el Óxido Nitroso en ensayo.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales de *Gas estándar* y *Gas muestra*, registrar los cromatogramas y medir la respuestas de todos los picos. Calcular el contenido de monóxido de carbono en la fase vapor de Óxido Nitroso en ensayo.

B - *Tubo detector* (ver *Tubos detectores* en 625. *Métodos de análisis para Gases Medicinales*).

Pasar un volumen apropiado de Óxido Nitroso en ensayo, proveniente de la fase vapor, a través de un tubo detector de Monóxido de Carbono al caudal especificado por el fabricante.

Amoníaco

Debe contener no más de 25 ppm v/v.

Pasar un volumen apropiado de Óxido Nitroso, proveniente de la fase vapor, a través de un tubo detector de amoníaco manteniendo el caudal especificado por el fabricante (ver *Tubos detectores* en 625. *Métodos de análisis para Gases Medicinales*).

Monóxido y dióxido de nitrógeno

Debe contener no más de 2 ppm v/v.

Preparación de la muestra - Conectar el cilindro con un tubo metálico de manera tal que al abrir la válvula pueda extraerse una porción del Óxido Nitroso líquido. El tamaño del tubo metálico debe permitir que la muestra líquida se vaporice totalmente para su análisis posterior, evitando el congelamiento de la misma.

Determinar el contenido total de monóxido y dióxido de nitrógeno en las fases gaseosa y líquida de Óxido Nitroso por uno de los siguientes métodos:

A - Analizador de quimioluminiscencia (ver 625. *Métodos de análisis para Gases Medicinales*).

Gas blanco - Óxido Nitroso SR-FA (ver *Definiciones y Sustancias de referencia* en 625. *Métodos de análisis para Gases Medicinales*).

Gas estándar - Nitrógeno SR-FA con un contenido total de Monóxido y de Dióxido de Nitrógeno de 2 ppm expresado como Monóxido de Nitrógeno SR-FA (ver *Definiciones y Sustancias de referencia* en 625. *Métodos de análisis para Gases Medicinales*).

Determinar el contenido total de Monóxido y de Dióxido de Nitrógeno en ambas fases del gas en ensayo.

B - Tubo detector para monóxido y dióxido de nitrógeno (ver *Tubos detectores* en 625. *Métodos de análisis para Gases Medicinales*).

Pasar un volumen apropiado de Óxido Nitroso a través de un tubo detector de Monóxido de Nitrógeno y Dióxido de Nitrógeno, al caudal especificado por el fabricante.

Halógenos

Debe contener no más de 1 ppm v/v.

Pasar el volumen indicado del gas bajo análisis proveniente de la fase vapor, a través de un tubo detector de cloro al caudal especificado por el fabricante (ver *Tubo detector de cloro* en *Tubos detectores* en 625. *Métodos de análisis para Gases Medicinales*).

Dióxido de carbono

Debe contener no más de 300 ppm v/v.

Realizar uno de los siguientes ensayos:

A - Realizar el siguiente análisis cromatográfico (ver 100. *Cromatografía*).

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de conductividad térmica y una columna de acero inoxidable de 3,5 m x 2 mm con fase estacionaria constituida por copolímero etilvinilbenceno-divinilbenceno. Mantener la columna y el detector a 40 y 90 °C, respectivamente. Se debe emplear helio como gas transportador y el caudal debe ser aproximadamente 15 ml por minuto.

Gas estándar - Emplear una mezcla que

contenga 300 ppm v/v de Dióxido de Carbono SR-FA en Óxido Nitroso SR-FA (ver *Definiciones y Sustancias de referencia* en 625. *Métodos de análisis para Gases Medicinales*).

Gas muestra - Emplear el Óxido Nitroso en ensayo.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales de *Gas estándar* y *Gas muestra*, registrar los cromatogramas y medir la respuestas de todos los picos. Calcular el contenido de dióxido de carbono en la fase vapor de Óxido Nitroso en ensayo.

B - Tubo detector de dióxido de carbono (ver *Tubos detectores* en 625. *Métodos de análisis para Gases Medicinales*).

Pasar un volumen apropiado de Óxido Nitroso en ensayo, proveniente de la fase vapor, a través de un tubo detector de Dióxido de Carbono al caudal especificado por el fabricante.

Agua

Debe contener no más de 67 ppm.

Realizar uno de los siguientes ensayos:

A - Higrometría (ver *Higrómetro Electrolítico* en 625. *Métodos de análisis para Gases Medicinales*).

Purgar continuamente el analizador con Óxido Nitroso en ensayo, estabilizado a temperatura ambiente, hasta obtener una lectura estable y medir el contenido de agua.

B - Tubo detector de vapor de agua (ver *Tubos detectores* en 625. *Métodos de análisis para Gases Medicinales*).

Pasar un volumen apropiado de Óxido Nitroso en ensayo a través de un tubo detector de vapor de agua manteniendo el caudal especificado por el fabricante.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de conductividad térmica y una columna de acero inoxidable de 2 m x 2 mm con fase estacionaria constituida por gel de sílice para cromatografía de 250 a 355 µm de espesor. Mantener la columna y el inyector a 60°C y el detector a 130 °C. Se debe emplear helio como gas transportador y el caudal debe ser aproximadamente 50 ml por minuto.

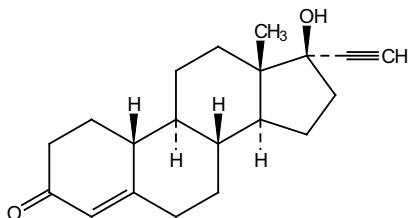
Gas estándar - Emplear Óxido Nitroso SR-FA (ver *Definiciones y Sustancias de referencia* en 625. *Métodos de análisis para Gases Medicinales*).

Gas muestra - Emplear el Óxido Nitroso en ensayo.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales de *Gas estándar* y *Gas muestra*, registrar los cromatogramas y medir

la respuestas de todos los picos. Calcular el contenido de Óxido Nitroso en el Óxido Nitroso en ensayo.

NORETISTERONA



C₂₀H₂₆O₂ PM: 298,4 68-22-4

Sinonimia - Noretindrona.

Definición - Noretisterona es (17 α)-17-Hidroxi-19-norpregn-4-en-20-in-3-ona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de C₂₀H₂₆O₂, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Inodoro. Estable al aire. Soluble en cloroformo y dioxano; moderadamente soluble en alcohol; poco soluble en éter; prácticamente insoluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Noretisterona SR-FA

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*
[NOTA: si los espectros obtenidos presentan diferencias, disolver la muestra y la *Sustancia de referencia* en cloroformo, evaporar a sequedad en un baño de agua y registrar nuevamente los espectros empleando los residuos obtenidos.]

B - Disolver aproximadamente 2 mg de Noretisterona en 2 ml de alcohol y agregar 1 ml de una solución de butilhidroxitolueno al 1 % en alcohol y 2 ml de hidróxido de sodio 1 M. Calentar en un baño de agua a 80 °C durante 30 minutos y enfriar a temperatura ambiente: se debe desarrollar una coloración rosa-amarillenta.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 202 y 208 °C.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre - 30° y - 38°.

Solución muestra: 20 mg por ml, en dioxano.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Límite de grupo etinilo

Disolver 200 mg de Noretisterona en aproximadamente 40 ml de tetrahidrofurano. Agregar 10 ml de solución de nitrato de plata 1 en 10 y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), empleando un sistema de electrodos de vidrio-calomel o plata-cloruro de plata conteniendo una solución de nitrato de potasio. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 2,503 mg de grupo etinilo (-C \equiv CH); debe contener no menos de 8,18 % y no más de 8,43 % de grupo etinilo.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo y metanol (95:5).

Solución madre del estándar - Preparar una solución de Noretisterona SR-FA en cloroformo de aproximadamente 10 mg por ml.

Soluciones estándar - Diluir un volumen exactamente medido de la *Solución madre del estándar* con cloroformo para obtener cuatro soluciones con las siguientes concentraciones:

Solución estándar	Concentración (μ g por ml)
A	150
B	50
C	30
D	10

Solución muestra - Preparar una solución de Noretisterona en cloroformo de aproximadamente 10 mg por ml.

Revelador - Metanol y ácido sulfúrico (7:3).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de las *Soluciones estándar A, B, C y D*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*, calentar a 100 °C durante 5 minutos: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar al obtenido con la *Solución estándar A*; ninguna mancha secundaria en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser mayor en tamaño o intensidad que la man-

cha principal obtenida con la *Solución estándar B* (0,5 %); y la suma de las intensidades de las manchas secundarias obtenidas a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la mancha principal en el cromatograma de la *Solución estándar A* (1,5 %).

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

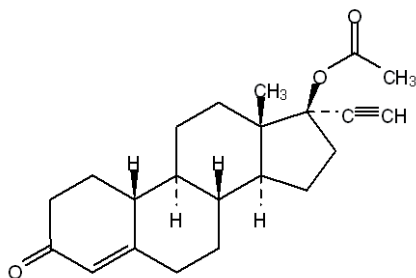
VALORACIÓN

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Noretisterona y disolver con alcohol para obtener una solución de aproximadamente 10 µg por ml.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Noretisterona SR-FA en alcohol y diluir con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 10 µg por ml.

Procedimiento - Determinar concomitantemente las absorbancias de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 240 nm, con un espectrofotómetro, empleando alcohol como blanco. Calcular la cantidad de $C_{20}H_{26}O_2$ en la porción de Noretisterona en ensayo.

NORETISTERONA, ACETATO DE



$C_{22}H_{28}O_3$

PM: 340,5

51-98-9

Definición - Acetato de Noretisterona es Acetato de (17 α)-17-hidroxi-19-norpregn-4-en-20-in-3-ona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_{22}H_{28}O_3$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Inodoro. Muy soluble en cloroformo; fácilmente soluble en dioxano; soluble en éter y alcohol; prácticamente insoluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Acetato de Noretisterona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. En fase sólida.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 162 y 165 °C.

Disolución completa <280>

La solución preparada para la determinación de la *Rotación específica* debe ser transparente y libre de sólidos no disueltos.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -32° y -38°.

Solución muestra: 20 mg por ml, en dioxano.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Límite de grupo etinilo

Disolver 200 mg de Acetato de Noretisterona en 40 ml de tetrahidrofurano. Agregar 10 ml de solu-

ción de nitrato de plata 1 en 10 y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), empleando electrodos de vidrio-calomel o plata-cloruro de plata conteniendo una solución de nitrato de potasio. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 2,503 mg de grupo etinilo (-C \equiv CH). No debe contener menos de 7,13 % ni más de 7,57 % de grupo etinilo.

Pureza cromatográfica

ENSAYO I

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno y acetato de etilo (1:1).

Solución madre del estándar - Preparar una solución de Acetato de Noretisterona SR-FA en cloroformo con una concentración de aproximadamente 10 mg por ml.

Solución estándar A - Diluir un volumen exactamente medido de la *Solución madre del estándar* con cloroformo para obtener una solución con una concentración de aproximadamente 150 μ g por ml.

Solución estándar B - Diluir un volumen exactamente medido de la *Solución madre del estándar* con cloroformo para obtener una solución con una concentración de aproximadamente 50 μ g por ml.

Solución estándar C - Diluir un volumen exactamente medido de la *Solución madre del estándar* con cloroformo para obtener una solución con una concentración de aproximadamente 30 μ g por ml.

Solución estándar D - Diluir un volumen exactamente medido de la *Solución madre del estándar* con cloroformo para obtener una solución con una concentración de aproximadamente 10 μ g por ml.

Solución muestra - Preparar una solución de Acetato de Noretisterona en cloroformo con una concentración de aproximadamente 10 mg por ml.

Revelador - Metanol y ácido sulfúrico (7:3).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l, en porciones de 5 μ l, de la *Solución muestra* y de cada una de las *Soluciones estándar A, B, C y D*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar evaporar. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar a 100 °C durante 5 minutos. El valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar al obtenido con la *Solución estándar A*. Ninguna mancha secundaria en el cromatograma obtenido a

partir de la *Solución muestra* debe ser más intensa que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar B* (0,5 %) y la suma de las intensidades de todas las manchas secundarias no debe ser mayor que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A* (1,5 %).

ENSAYO II

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo y agua (6:4). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 62,5 mg de Acetato de Noretisterona, transferir a un matraz aforado de 25 ml y disolver con *Fase móvil*. Completar a volumen y mezclar.

Solución muestra diluida - Transferir 1 ml de la *Solución muestra* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución de resolución - Disolver cantidades exactamente pesadas de *Acetato de Desoxicorticosterona* y de Acetato de Noretisterona SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución con una concentración de aproximadamente 80 µg por ml de cada una.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,83 para acetato de desoxicorticosterona y 1,0 para acetato de noretisterona; la resolución *R* entre los picos de acetato de desoxicorticosterona y acetato de noretisterona no debe ser menor de 3,5.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución muestra diluida* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas durante dos veces el tiempo de retención de acetato de noretisterona y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Acetato de Noretisterona en ensayo, en relación a la suma de las respuestas de todos los picos. [NOTA: excluir cualquier pico cuya respuesta sea menor de 0,025 % respecto a la respuesta del pico de acetato de noretisterona obtenido a partir de la *Solución muestra*]. No debe contener más de 0,5 % de cualquier impureza individual y no más de 1,0 % de impurezas totales.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

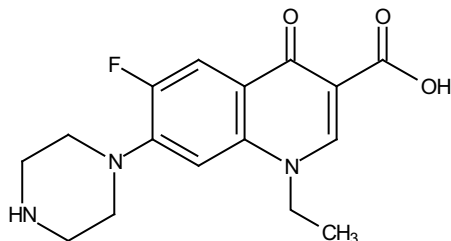
VALORACIÓN

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Acetato de Noretisterona SR-FA en alcohol y diluir, cuantitativamente y en etapas, con el mismo solvente para obtener una solución con una concentración de aproximadamente 10 µg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Acetato de Noretisterona, transferir a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con alcohol y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 250 ml, completar a volumen con alcohol y mezclar.

Procedimiento - Determinar concomitantemente las absorbancias de ambas soluciones en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 240 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando alcohol como blanco. Calcular la cantidad de C₂₂H₂₈O₃ en la porción de Acetato de Noretisterona en ensayo.

NORFLOXACINA



$C_{16}H_{18}FN_3O_3$ PM: 319,3 70458-96-7

Sinonimia - Norfloxacin.

Definición - Norfloxacin es Ácido 1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-7-(1-piperazinil)-3-quinolincarboxílico. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{16}H_{18}FN_3O_3$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o amarillo pálido. Sensible a la luz y la humedad. Fácilmente soluble en ácido acético; moderadamente soluble en cloroformo; poco soluble en acetona, agua y alcohol; muy poco soluble en metanol y acetato de etilo; insoluble en éter.

Sustancia de referencia - Norfloxacin SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>. [NOTA: emplear materiales de vidrio inactivo].

Solvente: hidróxido de sodio 0,1 N.

Concentración: 5 µg por ml.

Las absorbividades a 273 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a una presión no mayor de 5 mm Hg a 100 °C hasta peso constante: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %, empleando un crisol de platino.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,0015 %.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada de alto rendimiento (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor, previamente lavada con metanol y secada al aire.

Diluyente - Metanol y cloruro de metileno (1:1).

Fase móvil - Cloroformo, metanol, tolueno, dietilamina y agua (20:20:10:7:4).

Solución madre del estándar - Pesar exactamente alrededor de 1,0 mg de Norfloxacin SR-FA, disolver en 25 ml de *Diluyente* y mezclar.

Soluciones estándar - Preparar una serie de diluciones de la *Solución madre del estándar* en *Diluyente* para obtener las siguientes soluciones:

Soluciones estándar	Concentración (mg por ml)	% con respecto a la muestra
A	0,032	0,4
B	0,024	0,3
C	0,016	0,2
D	0,008	0,1

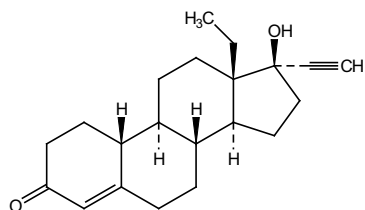
Solución muestra - Preparar una solución de Norfloxacin en *Diluyente* de aproximadamente 8,0 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de la *Solución muestra*, 5 µl de la *Solución madre del estándar* y 5 µl de *Soluciones estándar A, B, C y D*. Colocar la placa en una cámara cromatográfica revestida con papel, dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente las nueve décimas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente, dejar secar y examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 y 366 nm: la suma de las intensidades de las manchas secundarias obtenidas a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor de 0,5 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 240 mg de Norfloxacin y disolver en 80 ml de ácido acético glacial. Titular potenciométricamente con ácido perclórico 0,1 N (SV), empleando un sistema apropiado de electrodos (ver 780. *Volumetría*). [NOTA: retirar la solución acuosa de los electrodos, secar y llenar con perclorato de litio 0,1 N en anhídrido acético]. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 31,93 mg de $C_{16}H_{18}FN_3O_3$.

NORGESTREL



$C_{21}H_{28}O_2$ PM: 312,5 6533-00-2

Definición - Norgestrel es (\pm)-(17 α)-13-Etil-17-hidroxi-18,19-dinorpregn-4-en-20-in-3-ona. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{21}H_{28}O_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en cloroformo; moderadamente soluble en alcohol; insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Norgestrel SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

[NOTA: si aparecen diferencias, disolver porciones de la muestra y de la *Sustancia de referencia* en acetato de etilo, evaporar las soluciones en un baño de vapor hasta sequedad y repetir el ensayo sobre los residuos.]

Determinación del punto de fusión <260>

Método I. Entre 205 y 212 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 4 °C.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -0,1° y +0,1°.

Solución muestra: 50 mg por ml, en cloroformo.

[NOTA: secar previamente la muestra.]

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,3 %.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm

de espesor y previamente activada calentando a 100 °C durante 15 minutos.

Fase móvil - Cloroformo y alcohol (96:4).

Solución muestra - Preparar una solución de Norgestrel en cloroformo de aproximadamente 10,0 mg por ml.

Solución madre del estándar - Preparar una solución de Norgestrel SR-FA en cloroformo de aproximadamente 10 mg por ml.

Soluciones estándar - Diluir un volumen, exactamente medido, de la *Solución madre del estándar* con cloroformo para obtener las siguientes soluciones:

Solución estándar	Concentración (mg por ml)	% con respecto a la muestra
A	0,20	2,0
B	0,10	1,0
C	0,05	0,5
D	0,02	0,2
E	0,01	0,1

Revelador - Agregar 10 g de ácido fosfomolibdico a 100 ml de alcohol y agitar la mezcla durante no menos de 30 minutos. Filtrar antes de usar.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra*, 10 μ l de la *Solución madre del estándar* y 10 μ l de las *Soluciones estándar A, B, C, D y E*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar a 105 °C durante 10 a 15 minutos: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar al obtenido con la *Solución madre del estándar*. Si se observan manchas secundarias en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, estimar la concentración de cada una comparando con las *Soluciones estándar*: la suma de las impurezas en la *Solución muestra* no debe ser mayor de 2,0 %.

Límite de grupo etinilo

Disolver 200 mg de Norgestrel en aproximadamente 40 ml de tetrahidrofurano. Agregar 10 ml de solución de nitrato de plata 1 en 10 y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), empleando un sistema de electrodos de vidrio-calomel o plata-cloruro de plata, conteniendo una solución de nitrato de potasio. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 2,503 mg de grupo etinilo (-C \equiv CH). Debe contener entre 7,81 y 8,18 % de grupo etinilo.

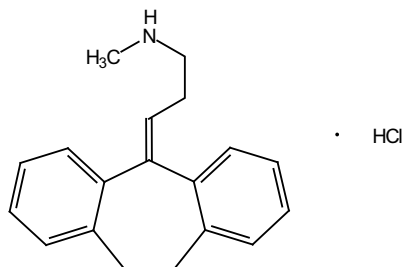
VALORACIÓN

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Norgestrel SR-FA en alcohol para obtener una solución de aproximadamente 10 µg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Norgestrel, disolver en alcohol y diluir cuantitativamente y en etapas con alcohol para obtener una solución de aproximadamente 10 µg de Norgestrel por ml.

Procedimiento - Determinar concomitantemente las absorbancias, en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorción, a 241 nm, empleando alcohol como blanco (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*). Calcular la cantidad de $C_{21}H_{28}O_2$ en la porción de Norgestrel en ensayo.

NORTRIPTILINA, CLORHIDRATO DE



C₁₉H₂₁N · HCl
894-71-3

PM: 299,8

Definición - Clorhidrato de Nortriptilina es Clorhidrato de 3-(10,11-dihidro-5H-dibenzo[a,d]ciclohepten-5-ilideno)-N-metil-1-propanamina. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 101,5 por ciento de C₁₉H₂₁N · HCl, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco, con olor característico. Una solución al 1 % tiene un pH de aproximadamente 5. Soluble en agua y cloroformo; moderadamente soluble en metanol; prácticamente insoluble en éter y en la mayoría de los solventes orgánicos.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Nortriptilina SR-FA.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En solución.*

Solvente: cloroformo.

Concentración: 50 mg por ml.

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: metanol.

Concentración: 10 µg por ml.

Las absorbividades a 239 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

C - Una solución de Clorhidrato de Nortriptilina debe responder a los ensayos para clorhidratos de alcaloides según se indica en *Cloruro* <410>.

Determinación del punto de fusión <260>

Método I. Entre 215 y 220 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 3 °C.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetonitrilo, metanol e hidróxido de amonio (10:1:1).

Solución madre del estándar - Preparar una solución de Clorhidrato de Nortriptilina SR-FA en metanol de aproximadamente 25 mg por ml. Diluir esta solución con metanol para obtener cinco *Soluciones estándar* con las siguientes concentraciones:

Solución estándar	Concentración (µg por ml)	% con respecto a la muestra
A	125	0,5
B	75	0,3
C	50	0,2
D	25	0,1
E	12,5	0,05

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Clorhidrato de Nortriptilina, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver y completar a volumen con metanol y mezclar.

Revelador 1 - Reactivo de Dragendorff (SR).

Revelador 2 - Peróxido de hidrógeno (SR).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de *Solución muestra* y 5 µl de las *Soluciones estándar A, B, C, D y E*. Secar las aplicaciones bajo una corriente de nitrógeno y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente, dejar secar al aire y examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 1*, secar con una corriente de nitrógeno y pulverizar sobre la placa con *Revelador 2*. Ninguna mancha secundaria con un valor de R_f de 0,78 respecto a la mancha de nortriptilina en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser más intensa que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar C*; ninguna otra mancha secundaria debe ser mayor de 0,1 % y la suma de las intensidades de todas las manchas secundarias no debe ser mayor de 0,5 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 600 mg de Clorhidrato de Nortriptilina, disolver en 50 ml de ácido acético glacial, agregar 10 ml de acetato mercúrico (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 29,98 mg de $C_{19}H_{21}N \cdot HCl$.

OLEICO, ÁCIDO

$C_{18}H_{34}O_2$ PM: 282,5 112-80-1

Definición - Ácido Oleico se obtiene a partir de grasas y aceites de fuentes comestibles, animales o vegetales y está constituido principalmente por ácido (Z)-9-octadecenoico [$CH_3(CH_2)_7CH:CH(CH_2)_7COOH$]. Ácido Oleico debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido oleoso, incoloro o amarillo pálido, cuando está recientemente preparado, por exposición al aire absorbe oxígeno gradualmente y se oscurece. Cuando se calienta al aire, se descompone con la producción de vapores acres. Miscible con alcohol, cloroformo, éter y con aceites fijos y volátiles. Prácticamente insoluble en agua.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Determinación de la densidad relativa <160>

Debe estar comprendida entre 0,889 y 0,895.

Determinación de la temperatura de solidificación <180>

Debe estar comprendido entre 3 y 10 °C para Ácido Oleico de origen animal y entre 10 y 16 °C para Ácido Oleico de origen vegetal.

Determinación del índice de acidez <480>

Debe estar comprendido entre 196 y 204, determinado sobre 2 g de Ácido Oleico exactamente pesado.

Determinación del índice de iodo <480>

Debe estar comprendido entre 85 y 95.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 1 mg (aproximadamente 0,01 %), determinado sobre 10 ml de Ácido Oleico.

Ácidos minerales

Agitar durante 2 minutos, 5 ml de Ácido Oleico con un volumen equivalente de agua a una temperatura de aproximadamente 25 °C, dejar separar las fases y filtrar la fase acuosa a través de un filtro de papel previamente humedecido con agua: la solución obtenida no debe colorearse de rojo frente al agregado de una gota de naranja de metilo (SR).

Grasas neutras o aceites minerales

Transferir 1 ml de Ácido Oleico a un recipiente apropiado de 250 ml, agregar 30 ml de agua que contengan aproximadamente 500 mg de carbonato de sodio y calentar a ebullición: la solución obteni-

da, mientras permanezca caliente, debe ser transparente o levemente opalescente.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

ROTULADO

Indicar en el rótulo cuando Ácido Oleico esté destinado sólo para uso externo, si es de origen vegetal o animal. Si tiene estabilizantes agregados, indicar su denominación y cantidad.

OLIVA, ACEITE DE

Definición - Aceite de Oliva es el aceite fijo obtenido del fruto maduro de *Olea europaea* Linné (Fam. *Oleaceae*) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido oleoso amarillo pálido o amarillo ligeramente verdoso. Miscible con cloroformo, disulfuro de carbono y éter. Poco soluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto. No exponer a altas temperaturas.

ENSAYOS

Determinación de la densidad relativa <160>
Entre 0,910 y 0,915.

Aceite de semillas de algodón

Debe cumplir con este requisito cuando se ensaya según se indica en *Aceite de semillas de algodón* en *Aceite de Almendra*.

Aceite de maní

Transferir 10 g de Aceite de Oliva a un balón, agregar 80 ml de hidróxido de potasio alcohólico (SR) y calentar a reflujo durante 1 hora para saponificar. Agregar fenoltaleína (SR), neutralizar con ácido acético 1 N y transferir la solución obtenida a un balón que contenga 120 ml de acetato de plomo (SR) en ebullición y calentar a ebullición durante 1 minuto. Enfriar sumergiendo en agua fría y agitar por rotación ocasionalmente para que el precipitado se adhiera a las paredes del balón. Decantar el líquido, lavar el precipitado obtenido con agua fría para remover el exceso de acetato de plomo (SR) y lavar con alcohol al 90 %. Agregar 100 ml de éter, tapar y dejar reposar hasta que el precipitado se separe de las paredes del vapor. Conectar a reflujo y calentar a ebullición durante 5 minutos. Enfriar a aproximadamente 15 °C y dejar reposar durante toda la noche. Filtrar, lavar el precipitado con éter y transferir el precipitado obtenido a una ampolla de decantación de 500 ml con la ayuda de éter [NOTA: si el precipitado se adhiere al papel de filtro, usar ácido clorhídrico 3 N]. Agregar aproximadamente 100 ml de ácido clorhídrico 3 N y 100 ml de éter, agitar durante varios minutos, dejar que las fases se separen, eliminar la fase ácida y lavar el éter con 50 ml de ácido clorhídrico 3 N por agitación y con varias porciones de agua hasta que la solución de lavado no sea ácida frente a naranja de metilo (SR). Transferir la solución etérea a un balón, evaporar el éter, agregar unos mililitros de alcohol absoluto y evaporar hasta sequedad en un baño de vapor. Disolver el residuo de ácidos grasos

secos obtenido en 60 ml de alcohol al 90 % mediante calentamiento, enfriar lentamente la solución a 15 °C agitando frecuentemente y mantener la solución a 15 °C durante 30 minutos: no se deben observar cristales en la solución.

Aceite de sésamo

Debe cumplir con este requisito cuando se ensaya según se indica en *Aceite de sésamo* en *Aceite de Almendra*.

Aceite de semilla de té

Transferir 0,8 ml de anhídrido acético, 1,5 ml de cloroformo y 0,2 ml de ácido sulfúrico a un tubo de ensayo de 15 cm × 18 mm, mezclar y enfriar en un baño de agua a 25 °C. Agregar 200 mg de Aceite de Oliva (aproximadamente 7 gotas), mezclar y enfriar a 25 °C. Si la solución presenta turbidez, agregar gota a gota anhídrido acético agitando después de cada agregado hasta que la solución sea transparente. Dejar reposar la mezcla en el baño de agua durante 5 minutos: se debe observar color verde a la luz reflejada y transmitida. Agregar 10 ml de éter absoluto y mezclar: la coloración verde inicial debe cambiar a gris pardo. [NOTA: antes de diluir con éter, la presencia de aceite de semilla de té produce color pardo cuando se observa con luz transmitida y después de diluir, produce color rojo transitorio.]

Determinación del índice de acidez <480>

No se debe consumir más de 5 ml de hidróxido de sodio 0,1 N.

Determinación del índice de iodo <480>

Entre 79 y 88.

Determinación del índice de saponificación <480>

Entre 190 y 195.

Temperatura de solidificación de ácidos grasos <480>

Entre 17 y 26 °C.

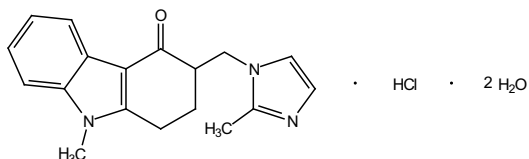
Límites de metales pesados <590>

Método II. No más de 10 ppm.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

ONDANSETRÓN, CLORHIDRATO DE



$\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O} \cdot \text{HCl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ PM: 365,9 99614-01-4

Definición - Clorhidrato de Ondansetrón es Monoclorhidrato de (\pm) 1,2,3,9-tetrahydro-9-metil-3-[(2-metil-1*H*-imidazol-1-il)metil]-4*H*-carbazol-4-ona, dihidrato. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O} \cdot \text{HCl}$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Soluble en metanol; moderadamente soluble en agua y alcohol; poco soluble en alcohol isopropílico y diclorometano; muy poco soluble en acetona, cloroformo y acetato de etilo.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Ondansetrón SR-FA. Impureza A de Ondansetrón SR-FA: 3[(dimetilamino)metil]-1,2,3,9-tetrahydro-9-metil-4*H*-carbazol-4-ona. Impureza B de Ondansetrón SR-FA: 6,6'-metilen bis[(1,2,3,9-tetrahydro-9-metil-3-[(2-metil-1*H*-imidazol-1-il)metil]-4*H*-carbazol-4-ona. Impureza C de Ondansetrón SR-FA: 1,2,3,9-tetrahydro-9-metil-4*H*-carbazol-4-ona. Impureza D de Ondansetrón SR-FA: 1,2,3,9-tetrahydro-9-metil-3-metilen-4*H*-carbazol-4-ona.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*.

B - Disolver 20 mg de Clorhidrato de Ondansetrón en 2 ml de agua, agregar 1 ml de ácido nítrico 2 M y filtrar: el filtrado debe responder al ensayo para *Cloruro* <410>.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 9,0 y 10,5 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de Impureza D de Ondansetrón

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 328 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por grupos nitrilo químicamente unidos a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Fosfato monobásico de potasio 0,02 M (previamente ajustado a pH 5,4 con hidróxido de sodio 1 M) y acetonitrilo (80:20). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Impureza D de Ondansetrón SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,4 μg por ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Clorhidrato de Ondansetrón, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución de aptitud del sistema - Disolver cantidades apropiadas de Impureza D de Ondansetrón SR-FA e Impureza C de Ondansetrón SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,6 y 1 μg por ml, respectivamente.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,8 para la impureza C y 1,0 para la impureza D; la resolución *R* entre los picos de impureza C e impureza D no debe ser menor de 1,5. Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna determinada para el pico del analito no debe ser menor de 400 platos teóricos; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el porcentaje de impureza D en la porción del Clorhidrato de Ondansetrón en ensayo, relacionando las respuestas de los picos de la impureza D en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* y el pico principal en el cromatograma obtenido a

partir de la *Solución estándar*. No debe contener más de 0,10 %.

Pureza cromatográfica

MÉTODO I

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, acetato de etilo, metanol e hidróxido de amonio (90:50:40:1).

Soluciones estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Ondansetrón SR-FA en metanol y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 0,25 mg por ml. Diluir esta solución cuantitativamente con metanol para obtener *Soluciones estándar* con las siguientes composiciones:

<i>Solución estándar</i>	Dilución	Concentración (µg por ml)	% con respecto a la muestra
A	1 en 5	50	0,4
B	1 en 10	25	0,2
C	1 en 20	12,5	0,1

Solución muestra - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Ondansetrón en metanol para obtener una solución de aproximadamente 12,5 mg por ml.

Solución de resolución - Disolver una cantidad exactamente pesada de Impureza A de Ondansetrón SR-FA en metanol y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con metanol para obtener una solución de aproximadamente 100 µg por ml.

Solución de identificación - Disolver una cantidad exactamente pesada de Impureza B de Ondansetrón SR-FA en metanol y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con metanol para obtener una solución de aproximadamente 100 µg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 20 µl de la *Solución muestra*, 20 µl de las *Soluciones estándar A, B y C* y 10 µl de la *Solución de identificación*. Sobre la misma placa aplicar 20 µl de la *Solución muestra* y sobre ésta aplicar 10 µl de la *Solución de resolución* y 10 µl de la *Solución de identificación*, para verificar la aptitud del sistema. Desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que se evapore. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm y comparar la intensidad de cualquier mancha secundaria obser-

vada en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* con la intensidad de las manchas principales en los cromatogramas de las *Soluciones estándar*: el ensayo sólo es válido si los tres componentes del cromatograma para verificar la aptitud del sistema se resuelven completamente; cualquier mancha secundaria en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* con valor de R_f correspondiente al de la mancha principal de la *Solución de identificación*, no debe ser mayor en tamaño e intensidad que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A* (0,4 %); ninguna otra mancha secundaria en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser mayor en tamaño e intensidad que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar B* (0,2 %); y la suma de las intensidades de las manchas secundarias obtenidas a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor de 1,0 %.

MÉTODO II

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Proceder según se indica en *Preparación muestra* en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 10 µl de la *Solución muestra*, registrar el cromatograma y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Clorhidrato de Ondansetrón en ensayo, en relación a la suma de las respuestas de todos los picos. No debe contener más de 0,2 % de cualquier impureza individual y la suma de todas las impurezas no debe ser mayor de 0,5 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 216 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por grupos nitrilo unidos químicamente a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Fosfato monobásico de potasio 0,02 M (previamente ajustado a pH 5,4 con hidróxido de sodio 1 M) y acetonitrilo (50:50). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Ondansetrón SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 90 µg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 45 mg de Clorhidrato de Ondansetrón, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver con *Fase móvil*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución en un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución de aptitud del sistema - Disolver cantidades de Clorhidrato de Ondansetrón SR-FA e Impureza A de Ondansetrón SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 90 y 50 µg por ml, respectivamente.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 1,0 para ondansetrón y 1,1 para impureza A de ondansetrón; la resolución *R* entre los picos de impureza A y ondansetrón no debe ser menor de 1,5. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,5 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{18}H_{19}N_3O \cdot HCl$ en la porción de Clorhidrato de Ondansetrón en ensayo.

ORTOFOSFÓRICO, ÁCIDO

H₃PO₄ PM: 98,0 7664-38-2

de H₃PO₄.

Definición - Ácido Fosfórico debe contener no menos de 85,0 por ciento y no más de 88,0 por ciento, en peso, de H₃PO₄ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido incoloro. Densidad relativa aproximadamente 1,71. Miscible con agua y alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

Precaución - Evitar el contacto, Ácido Ortosfosfórico destruye rápidamente los tejidos.

ENSAYOS

Identificación

Neutralizar cuidadosamente 1 ml de Ácido Fosfórico con hidróxido de sodio 1 N, usando fenolftaleína (SR) como indicador. Esta solución debe responder a los ensayos para *Fosfato* <410>.

Sulfato

Diluir 6 ml de Ácido Fosfórico con 90 ml de agua y agregar 1 ml de cloruro de bario (SR): no se debe formar precipitado.

Fosfatos alcalinos

Transferir 1 ml de Ácido Fosfórico a un recipiente apropiado y agregar 6 ml de éter y 2 ml de alcohol: no se debe producir turbidez.

Límite de metales pesados <590>

Método I. No más de 10 ppm.

Nitrato

A 6 ml de Ácido Fosfórico agregar 14 ml de agua, mezclar 5 ml de esta solución con aproximadamente 0,1 ml de índigo carmín (SR) y agregar 5 ml de ácido sulfúrico: el color azul debe permanecer por lo menos durante 1 minuto.

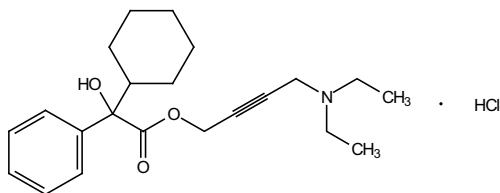
Ácido fosforoso o hipofosforoso

Calentar 5 ml de la solución preparada para el ensayo de *Nitrato* y agregar 2 ml de nitrato de plata (SR): la coloración resultante no debe cambiar a marrón.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Ácido Ortofosfórico, diluir con agua a aproximadamente 120 ml, agregar 0,5 ml de timolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 1 N (SV) hasta color azul. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 1 N equivale a 49,00 mg

OXIBUTININA, CLORHIDRATO DE



$C_{22}H_{31}NO_3 \cdot HCl$ PM: 394,0 1508-65-2

Definición - Clorhidrato de Oxibutinina es Clorhidrato de 4-(dietilamino)-2-butilil (\pm)- α -fenilciclohexanoglicolato. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{22}H_{31}NO_3 \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en agua y etanol; soluble en acetona; poco soluble en ciclohexano.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Oxibutinina SR-FA. Impureza A de Oxibutinina SR-FA: (*R,S*)-2-(ciclohex-3-enil)-2-ciclohexil-2-hidroxiacetato de 4-(dietilamino)but-2-inilo.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Metanol.

Solución muestra - Disolver 50 mg de Clorhidrato de Oxibutinina en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar - Disolver 10 mg de Clorhidrato de Oxibutinina SR-FA en metanol y diluir a 2 ml con el mismo solvente.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 μ l de la *Solución muestra* y 5 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la

placa de la cámara, marcar el frente del solvente, dejar secar al aire y exponer la placa a vapores de yodo durante 30 minutos. La mancha principal obtenida en el cromatograma a partir de la *Solución muestra* debe ser similar en valor de R_f , tamaño e intensidad a la obtenida con la *Solución estándar*.

C - Debe responder a los ensayos para Cloruros <410>.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 124 y 129 °C.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre - 0,10° y + 0,10°.

Solución muestra: 100 mg por ml, en agua.

Pérdida por secado <680>

Secar entre 100 y 105 °C: no debe perder más de 3 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Método IV. Emplear 12 ml de una solución de Clorhidrato de Oxibutinina de aproximadamente 100 mg por ml como *Solución muestra* y emplear 2 ml de *Solución estándar de plomo (10 ppm)* para preparar la *Solución estándar*. No más de 0,002 %.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 210 nm y una columna de 25 cm \times 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo y mezcla de fosfato dibásico de potasio al 0,34 % y fosfato monobásico de potasio al 0,436 % (51:49). Filtrar y degasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar A - Disolver 50 mg de Clorhidrato de Oxibutinina SR-FA y 50 mg de Impureza A de Oxibutinina SR-FA en *Fase móvil* y diluir hasta 100 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Transferir 1 ml de la *Solución muestra* a un matraz aforado de 200 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Solución muestra - Disolver 50 mg de Clorhidrato de Oxibutinina en *Fase móvil* y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar A* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de clorhidrato de oxibutinina y de impureza A no debe ser menor de 11,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Solución muestra* y las *Soluciones estándar A* y *B*, registrar los cromatogramas durante dos veces el tiempo de retención del pico principal y medir las respuestas de todos los picos; los tiempos de retención deben ser aproximadamente 15 minutos para clorhidrato de oxibutinina y 24 minutos para impureza A. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* la respuesta de cualquier pico correspondiente a la impureza A no debe ser mayor a 1,5 veces el obtenido con la *Solución estándar A* (1,5 %); a excepción de las respuestas correspondientes al pico principal y a la impureza A la suma de las respuestas de todos los picos no debe ser mayor que la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar B* (0,5 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor a 0,5 veces la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar B*.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Clorhidrato de Oxibutinina, disolver en 50 ml de ácido acético glacial y agregar 10 ml de acetato mercurico (SR) y unas gotas de cristal violeta (SR). Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) hasta punto final verde esmeralda. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 39,40 mg de $C_{22}H_{31}NO_3 \cdot HCl$.

OXÍGENO

PM: 32,0

7782-44-7

Definición - El Oxígeno producido por el proceso de licuefacción del aire y el Oxígeno extraído del aire mediante un proceso de tamizado molecular, debe contener no menos de 99,5 por ciento, en volumen, de y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Gas incoloro e inodoro, comburente. A la temperatura de 20 °C y bajo una presión de 101 kPa, un volumen de oxígeno medicinal se disuelve en aproximadamente 32 volúmenes de agua.

CONSERVACIÓN

En estado gaseoso presurizado en cilindros metálicos de color reglamentario, o en estado líquido en recipientes criogénicos de baja presión. Almacenar en ambientes secos, ventilados, protegidos de condiciones climáticas adversas.

[NOTA: Los recipientes utilizados para envasar Oxígeno no deben ser tratados con ningún compuesto tóxico, inductor del sueño o que produzca narcosis, o que pueda irritar el tracto respiratorio. Sus conexiones y válvulas no deben ser engrasadas ni aceitadas.]

ENSAYOS

[NOTA: en todos los casos, reducir la presión del envase mediante un regulador adecuado.]

Identificación

A - Poder comburente: colocar una astilla de madera incandescente en una atmósfera de Oxígeno. Debe inflamarse en forma instantánea.

B - Reacción con pirogalol: agitar con solución alcalina de pirogalol. El gas en ensayo debe ser absorbido y la solución se debe tornar marrón.

Olor

Abrir cuidadosamente la válvula del envase y, sin dirigir directamente la corriente de Oxígeno hacia el rostro, orientar una porción hacia la nariz. No debe percibirse olor.

Dióxido de carbono

Debe contener no más de 300 ppm v/v.

Realizar uno de los siguientes ensayos:

A - *Análisis infrarrojo* (ver *Analizador infrarrojo* en 625. *Métodos de análisis para Gases Medicinales*).

Gas blanco: Emplear Oxígeno SR-FA (ver *Definiciones y Sustancias de referencia* en 625. *Métodos de análisis para Gases Medicinales*).

Gas estándar: Emplear una mezcla que contenga 300 ppm (v/v) de Dióxido de Carbono

SR-FA en Nitrógeno SR-FA (ver *Definiciones y Sustancias de referencia* en 625. *Métodos de análisis para Gases Medicinales*).

B - *Tubo detector* (ver *Tubos detectores* en 625. *Métodos de análisis para Gases Medicinales*).

Pasar un volumen apropiado de Oxígeno en ensayo a través de un tubo detector de dióxido de carbono manteniendo el caudal especificado por el fabricante.

Monóxido de carbono

Debe contener no más de 5 ppm v/v.

Realizar uno de los siguientes ensayos:

A - *Análisis infrarrojo* (ver *Analizador infrarrojo* en 625. *Métodos de análisis para Gases Medicinales*).

Gas blanco: Emplear Oxígeno SR-FA (ver *Definiciones y Sustancias de referencia* en 625. *Métodos de análisis para Gases Medicinales*).

Gas estándar: Emplear una mezcla que contenga 5 ppm (v/v) de Monóxido de Carbono SR-FA en Nitrógeno SR-FA (ver *Definiciones y Sustancias de referencia* en 625. *Métodos de análisis para Gases Medicinales*).

B - *Tubo detector* (ver *Tubos detectores* en 625. *Métodos de análisis para Gases Medicinales*).

Pasar un volumen apropiado de Oxígeno en ensayo a través de un tubo detector de monóxido de carbono manteniendo el caudal especificado por el fabricante.

Agua

Debe contener no más de 67 ppm v/v.

Realizar uno de los siguientes ensayos:

A - *Higrometría* (ver *Higrómetro Eléctrico* en 625. *Métodos de análisis para Gases Medicinales*).

Procedimiento - Purgar continuamente el analizador con Oxígeno en ensayo, estabilizado a temperatura ambiente, hasta obtener una lectura estable y medir el contenido de agua.

B - *Tubo detector* (ver *Tubos detectores* en 625. *Métodos de análisis para Gases Medicinales*).

Pasar un volumen apropiado de Oxígeno en ensayo a través de un tubo detector de vapor de agua manteniendo el caudal especificado por el fabricante.

VALORACIÓN

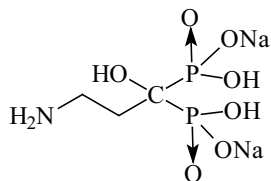
Realizar el ensayo por Análisis paramagnético (ver *Analizador paramagnético para oxígeno* en 625. *Métodos de análisis para Gases Medicinales*).

Gas blanco - Emplear Nitrógeno SR-FA (ver *Definiciones y Sustancias de referencia* en 625. *Métodos de análisis para Gases Medicinales*).

Gas estándar - Emplear Oxígeno SR-FA (ver *Definiciones y Sustancias de referencia* en 625. *Métodos de análisis para Gases Medicinales*).

Procedimiento - Proceder según se indica en *Analizador paramagnético para oxígeno en 625. Métodos de análisis para Gases Medicinales*. Determinar el contenido de oxígeno en el gas en ensayo.

PAMIDRONATO SÓDICO



$C_3H_9NNa_2O_7P_2 \cdot 5H_2O$ PM: 369,1 109552-15-0

Anhidro PM: 279,1 57248-88-1

Definición - Pamidronato Sódico es 3-Amino-1-hidroxipropiliden *bis*(fosfonato) de sodio, pentahidrato. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_3H_9NNa_2O_7P_2$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco. Soluble en agua y en hidróxido de sodio 2 N; moderadamente soluble en ácido clorhídrico 0,1 N; prácticamente insoluble en solventes orgánicos.

Sustancia de referencia - Pamidronato Disódico SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto. A una temperatura menor a 30 °C.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

C - Una solución de Pamidronato Sódico al 5 % debe responder a los ensayos de *Sodio* <410>.

Transparencia y color de la solución

Solución muestra A - Disolver 1,0 g de Pamidronato Sódico en 50 ml de agua, calentando suavemente. Dejar enfriar a temperatura ambiente.

Solución muestra B - Disolver 1,0 g de Pamidronato Sódico en 25 ml de hidróxido de sodio 2 N, calentando suavemente. Dejar enfriar a temperatura ambiente.

Procedimiento - Examinar visualmente las *Soluciones muestra A* y *B*: deben ser transparentes. Medir las absorbancias de cada una de las soluciones (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*), a 420 nm, en celdas de 4 cm, empleando

agua como blanco para la *Solución muestra A* e hidróxido de sodio 2 N como blanco para la *Solución muestra B*. La absorbancia de ninguna de las dos soluciones debe ser mayor de 0,10.

Determinación del pH <250>

Entre 7,8 y 8,8; determinado sobre una solución de aproximadamente 10 mg por ml.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 23,0 y 25,5 %.

Determinación de alcohol <130>

Método II. No más de 0,3 %.

Control higiénico de productos no obligatoriamente estériles <90>

El *Recuento de aerobios viables* no debe ser mayor de 1.000 ufc por gramo y el *Recuento de hongos y levaduras* no debe ser mayor de 100 ufc por gramo.

Límite de β -alanina

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en placa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Metanol, diisopropil éter y amoníaco (9:8:4).

Solución muestra - Disolver 30 mg de Pamidronato Sódico en agua y diluir a 10,0 ml con el mismo solvente.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de ácido aminopropiónico y diluir con agua, cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, para obtener una solución de aproximadamente 6 μ g por ml.

Revelador - Disolver 200 mg de ninhidrina en 100 ml de una mezcla de alcohol butílico y ácido acético 2 N (95:5).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Secar entre 100 y 105 °C hasta que el amoníaco desaparezca por completo, pulverizar sobre la placa con *Revelador* y secar entre 100 y 105 °C durante 15 minutos. Examinar la placa bajo luz blanca: la mancha obtenida en el cromatograma de la *Solución muestra* con un valor de R_f de aproximadamente 0,5, no debe ser mayor en tamaño e intensidad a la mancha al mismo valor de R_f obtenida con la *Solución estándar* (0,2 % de β -alanina). Examinar todas las manchas obtenidas en el cromatograma de la *Solución muestra* y determinar el contenido total de impurezas, excluyendo a la β -alanina.

Fosfato y fosfito

Sistema cromatográfico y Fase móvil - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución madre de fosfato - Transferir aproximadamente 300 mg de ácido fosfórico, exactamente pesados, a un matraz aforado de 1 litro, disolver, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución madre de fosfito - Transferir aproximadamente 250 mg de ácido fosforoso, exactamente pesados, a un matraz aforado de 1 litro, disolver, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución estándar - Transferir 2,0 ml de *Solución madre de fosfato* y 2,0 ml de *Solución madre de fosfito* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* según se indica en *Valoración*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el orden de elución es primero el pico de fosfato y luego el de fosfito; la resolución R entre los picos de fosfato y fosfito no debe ser menor de 2,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas, determinada para el pico de fosfato, no debe ser mayor de 10 %; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas, determinada para el pico de fosfito, no debe ser mayor de 20 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo, volúmenes iguales (aproximadamente 100 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos.

Calcular el porcentaje de fosfatos, como ácido fosfórico en la porción de Pamidronato Sódico en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$0,2(P_A/P_M)(r_M/r_{EA})$$

en la cual P_A es el peso en mg de ácido fosfórico empleado en la *Solución madre de fosfato*, P_M es el peso en mg de Pamidronato Sódico empleado para preparar la *Solución muestra*, y r_M y r_{EA} son las respuestas de los picos correspondientes al fosfato obtenidos a partir de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, respectivamente: no debe contener más de 0,5 % de fosfatos, determinado como ácido fosfórico.

Calcular el porcentaje de fosfitos, como ácido fosforoso en la porción de Pamidronato Sódico en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$0,2(P_B/P_M)(r_M/r_{EB})$$

en la cual P_B es el peso en mg de ácido fosforoso empleado en la *Solución madre de fosfito*, P_M es el peso en mg de Pamidronato Sódico empleado para preparar la *Solución muestra*, y r_M y r_{EB} son las

respuestas de los picos correspondientes al fosfito obtenidos a partir de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, respectivamente: no debe contener más de 0,5 % de fosfitos, determinado como ácido fosforoso; y la suma de fosfitos y fosfatos no debe ser mayor de 0,5 %.

Calcular el porcentaje de cualquier otra impureza en la porción de Pamidronato Sódico en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$0,2(P_A/P_M)(r_i/r_{EA})$$

en la cual P_A , P_M y r_{EA} son los términos definidos anteriormente y r_i es la respuesta del pico de cualquier otra impureza individual en el cromatograma de la *Solución muestra*: no debe contener más de 0,5 % del total de las demás impurezas, excluyendo a los picos correspondientes al fosfito y al fosfato y al valor obtenido para β -alanina en *Límite de β -alanina*.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 20 ppm.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector de índice de refracción y una columna de 10 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria rellena por una resina de intercambio aniónico constituida por gel de poliacrilato o polimetacrilato poroso con grupos amonio cuaternario, de 10 μ m. Mantener la columna a 35 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agregar 0,47 ml de ácido fórmico anhidro a 2,5 litros de agua. Ajustar a pH 3,5 con hidróxido de sodio 2 N. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*). [NOTA: pequeñas variaciones en la proporción de ácido fórmico anhidro agregado ejercen una fuerte variación en los tiempos de retención].

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Pamidronato Disódico SR-FA en agua y diluir con agua, y en etapas, si fuera necesario, para obtener una solución de aproximadamente 2 mg por ml.

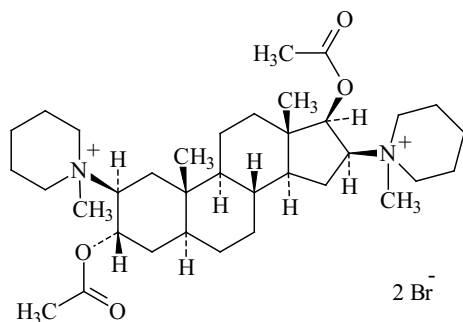
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 1.000 mg de Pamidronato Sódico, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver y completar a volumen con agua y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser menor de 0,3 ni mayor de 1,2; la desviación estándar rela-

tiva para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 100 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_3H_9NNa_2O_7P_2$ en la porción de Pamidronato Sódico.

PANCURONIO, BROMURO DE



$C_{35}H_{60}Br_2N_2O_4$

PM: 733,0

15500-66-0

Definición - Bromuro de Pancuronio es Dibromuro de 1,1'-[(2 β ,3 α ,5 α ,16 β ,17 β)-3,17-bis(acetoxi)androstan-2,16-diil]bis[1-metilpiperidino].

Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{35}H_{60}Br_2N_2O_4$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Higroscópico. Muy soluble a fácilmente soluble en agua; muy soluble en cloruro de metileno; fácilmente soluble en alcohol.

Sustancias de referencia - Bromuro de Pancuronio SR-FA. Bromuro de Vecuronio SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Sustancias relacionadas*. La mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder en tamaño, intensidad y valor de R_f con la mancha principal obtenida con la *Solución estándar B*.

C - Debe cumplir con los ensayos para *Bromuro* <410>.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +38° y +42°; determinada sobre la sustancia anhidra.

Solución muestra: Disolver 750 mg de Bromuro de Pancuronio en 25 ml de agua.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 8,0 %; determinado sobre 300 mg.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Sustancias relacionadas

[NOTA: preparar las soluciones en el momento de su uso].

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver *100. Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Alcohol isopropílico, acetonitrilo e ioduro de sodio al 40 % (85:10:5).

Solución muestra - Disolver 50 mg de Bromuro de Pancuronio en cloruro de metileno y diluir a 5 ml con el mismo solvente.

Solución muestra diluida - Diluir 1,0 ml de *Solución muestra* a 50 ml con cloruro de metileno y diluir 1,0 ml de esta solución a 20 ml con el mismo solvente.

Solución estándar A - Preparar una solución que contenga 0,1 mg de Bromuro de Vecuronio SR-FA y 10 mg de Bromuro de Pancuronio SR-FA en cloruro de metileno.

Solución estándar B - Preparar una solución de Bromuro de Pancuronio SR-FA que contenga 10 mg por ml.

Revelador 1 - Solución de nitrito de sodio al 2 %.

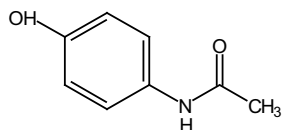
Revelador 2 - Reactivo de Dragendorff (SR).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 μ l de las *Soluciones estándar A* y *B* y 5 μ l de la *Solución muestra* y de la *Solución muestra diluida*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas en una cámara no saturada y sin recubrimiento interno hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 8 cm de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 1* y dejar secar durante 5 minutos. Pulverizar la placa con *Revelador 2* y cubrirla con una placa de vidrio. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, cualquier mancha correspondiente a bromuro de vecuronio no debe ser mayor en tamaño o intensidad a la mancha obtenida con la *Solución estándar A* (1,0 %) y, a excepción de la mancha principal y la correspondiente a bromuro de vecuronio, ninguna mancha debe ser mayor en tamaño o intensidad a la obtenida con la *Solución muestra diluida* (0,1 %). El ensayo solo es válido si el cromatograma obtenido con la *Solución estándar A* presenta dos manchas claramente separadas correspondientes a bromuro de pancuronio y bromuro de vecuronio con valores de R_f de 0,5 y 0,6 respectivamente.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 200,0 mg de Bromuro de Pancuronio y disolver en 50 ml de anhídrido acético, calentando si fuera necesario. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 36,63 mg de $C_{35}H_{60}Br_2N_2O_4$.

PARACETAMOL



$C_8H_9NO_2$ PM: 151,2 103-90-2

Sinonimia - Acetaminofeno.

Definición - Paracetamol es *N*-(4-Hidroxifenil)acetamida. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_8H_9NO_2$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco, inodoro. Fácilmente soluble en alcohol; soluble en agua hirviendo e hidróxido de sodio 1 N; moderadamente soluble en agua; muy poco soluble en cloruro de metileno y éter.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Paracetamol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: ácido clorhídrico 0,1 N en metanol 1 en 100.

Concentración: 5 μ g por ml.

C - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloruro de metileno y metanol (4:1).

Solución estándar - Preparar una solución de Paracetamol SR-FA en metanol de aproximadamente 1 mg por ml.

Solución muestra - Preparar una solución de Paracetamol en metanol de aproximadamente 1 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres

cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm. El valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar al obtenido con la *Solución estándar*.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 168 y 172 °C.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,5 %.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Agitar 1,0 g de Paracetamol con 25 ml de agua, filtrar y agregar 1 ml de ácido nítrico 2 N y 1 ml de nitrato de plata (SR): el filtrado no debe presentar más cloruro que el equivalente a 0,20 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,014 %).

Sulfato - Agitar 1,0 g de Paracetamol con 25 ml de agua, filtrar y agregar 2 ml de ácido acético 1 N. A continuación, agregar 2 ml de cloruro de bario (SR): la mezcla no debe presentar más sulfato que el equivalente a 0,20 ml de ácido sulfúrico 0,020 N (0,02 %).

Sulfuro

Transferir 2,5 g de Paracetamol a un vaso de precipitados de 50 ml. Agregar 5 ml de alcohol y 1 ml de ácido clorhídrico 3 N. Humedecer en agua una tira de papel indicador de acetato de plomo (ver *Papeles y Papeles indicadores en Reactivos y Soluciones*) y fijarla sobre la cara inferior de un vidrio de reloj. Cubrir el vaso de precipitados con el vidrio de reloj, de modo que parte del papel indicador de acetato de plomo quede suspendido cerca del pico vertedor del vaso de precipitados. Calentar el contenido del vaso de precipitados sobre una placa calefactora hasta ebullición. No deben aparecer manchas o coloración en el papel indicador.

p-Aminofenol libre

Diluyente - Agua y metanol (1:1).

Solución alcalina de nitroferricianuro de sodio - Disolver 1 g de nitroferricianuro de sodio y 1 g de carbonato de sodio anhidro en 100 ml de agua.

Solución muestra - Transferir 5,0 g de Paracetamol a un matraz aforado de 100 ml y disolver con aproximadamente 75 ml de *Diluyente*. Agregar 5,0 ml de *Solución alcalina de nitroferricianuro de sodio*, completar a volumen con *Diluyente*, mezclar y dejar en reposo durante 30 minutos.

Solución estándar - Emplear una solución recientemente preparada de *p*-aminofenol de aproximadamente 2,5 μ g por ml, preparada según se indica en *Solución muestra*.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y la *Solución estándar* en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente a 710 nm, con un espectrofotómetro, empleando 5,0 ml de *Solución alcalina de nitroferricianuro de sodio* diluida a 100 ml con *Diluyente* como blanco: la absorbancia de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la absorbancia de la *Solución estándar* (0,005 %).

Límite de p-Cloroacetanilida

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Éter de petróleo y acetona (75:25).

Solución estándar - Preparar una solución de p-cloroacetanilida en éter de aproximadamente 10 µg por ml.

Solución muestra - Transferir 1,0 g de Paracetamol a un tubo de centrifuga de 15 ml provisto de un tapón de vidrio y agregar 5,0 ml de éter. Agitar mecánicamente durante 30 minutos y centrifugar a 1.000 rpm durante 15 minutos o hasta obtener una separación neta, emplear la solución sobrenadante.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 200 µl de la *Solución muestra* (en porciones de 40 µl, de manera de obtener una única mancha de no más de 10 mm de diámetro) y 40 µl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas en una cámara no saturada hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar evaporar. Examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm: la mancha obtenida en el cromatograma de la *Solución muestra*, con valor de R_f correspondiente a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar*, no debe ser mayor en tamaño o intensidad a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar* (0,001 %).

Ensayo de sustancias fácilmente carbonizables <350>

Disolver 0,50 g de Paracetamol en 5 ml de ácido sulfúrico (SR): el color de la solución no debe ser más intenso que el de la *Solución de comparación A*.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

VALORACIÓN

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 120 mg de Paracetamol, transferir a un matraz aforado de 500 ml, disolver con 10 ml de metanol, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación estándar - Emplear una solución de Paracetamol SR-FA de aproximadamente 12 µg por ml, preparada según se indica en *Preparación muestra*.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 244 nm, con un espectrofotómetro, empleando agua como blanco. Calcular la cantidad de $C_8H_9NO_2$ en la porción de Paracetamol en ensayo.

PECTINA

9000-69-5

Definición - Pectina es obtenido del extracto ácido diluido de la porción interna de la corteza de los frutos cítricos o de la manzana y está constituida principalmente por ácidos poligalacturónicos parcialmente metoxilados. Debe contener no menos de 6,7 por ciento de grupos metoxilos (-OCH₃) y no menos de 74,0 por ciento de ácido galacturónico (C₆H₁₀O₇), calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo fino o áspero blanco amarillento. Moderadamente soluble en 20 partes de agua, forma una solución viscosa, coloidal, opalescente que fluye fácilmente y es ácida frente al papel tornasol; prácticamente insoluble en alcohol o alcohol diluido y solventes orgánicos. Se disuelve en agua con mayor facilidad si antes se la humedece con alcohol o glicerina.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Calentar 1 g de Pectina con 9 ml de agua en un baño de vapor hasta obtener una solución y reponer el agua perdida por evaporación: se debe formar un gel espeso al enfriarse.

B - A una solución de Pectina 1 en 100 agregar igual volumen de alcohol: se debe formar un precipitado gelatinoso, transparente.

C - A 5 ml de una solución de Pectina 1 en 100 agregar 1 ml de hidróxido de sodio 2 N y dejar reposar a temperatura ambiente durante 15 minutos: se debe formar un gel o semigel.

D - Acidificar el gel obtenido en el ensayo de *Identificación C* con ácido clorhídrico 3 N y agitar: debe formarse un precipitado voluminoso, gelatinoso. Calentar a ebullición: se debe formar un precipitado floculento de color blanco.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 10 % de su peso.

Límite de arsénico <540>

Método II. No más de 3 ppm.

Límite de plomo

Transferir 20 ml de ácido nítrico a un erlenmeyer de 250 ml, agregar 2 g de Pectina, mezclar y calentar cuidadosamente hasta disolución completa. Continuar el calentamiento hasta reducir el volumen a 7 ml. Enfriar la solución rápidamente a temperatura ambiente, transferir a un matraz aforado de

100 ml y completar a volumen con agua. Transferir 50 ml de la solución obtenida a una ampolla de decantación y proceder según se indica en *Límite de plomo <600>*, empleando 15 ml de *Solución de citrato de amonio*, 3 ml de *Solución de cianuro de potasio* y 500 µl de *Solución de clorhidrato de hidroxilamina*. Diluir la *Solución madre de nitrato de plomo* (ver 590. *Límite de metales pesados*), para obtener 50 ml de una solución que contenga 5 µg de plomo. El límite es 5 ppm.

Ácidos orgánicos y azúcares

Transferir 1 g de Pectina a un erlenmeyer de 500 ml, humedecer con 3 a 5 ml de alcohol, agregar rápidamente 100 ml de agua, agitar y dejar reposar hasta disolución completa. A esta solución, agregar 100 ml de alcohol que contengan 0,3 ml de ácido clorhídrico, mezclar y filtrar rápidamente. Transferir 25 ml del filtrado a una cápsula de porcelana previamente pesada, evaporar en un baño de vapor y secar el residuo al vacío a 50 °C durante dos horas: el peso del residuo no debe ser mayor de 20 mg.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos del ensayo para *Salmonella spp.*

VALORACIÓN

Grupos metoxilos - Pesar exactamente alrededor de 5,00 g de Pectina, transferir a un recipiente apropiado, agregar una mezcla de 5 ml de ácido clorhídrico y 100 ml alcohol al 60 % y agitar durante 10 minutos. Filtrar la solución a través de un filtro de vidrio sinterizado grueso y lavar el residuo con seis porciones de 15 ml cada una de la mezcla de ácido clorhídrico y alcohol al 60 %, hasta que el filtrado este libre de cloruros. Lavar con 20 ml de alcohol, secar a 105 °C durante 1 hora, enfriar y pesar. Transferir exactamente la décima parte del peso de la muestra seca (que representa 500 mg de la muestra original no lavada) a un erlenmeyer de 250 ml y humedecer con 2 ml de alcohol. Agregar 100 ml de agua libre de dióxido de carbono, tapar y agitar ocasionalmente hasta disolución completa. Agregar 5 gotas de fenolftaleína (SR), titular con hidróxido de sodio 0,5 N (SV) y registrar el resultado como *titulación inicial*. Agregar 20 ml de hidróxido de sodio 0,5 N (SV), tapar, agitar vigorosamente y dejar reposar durante 15 minutos. Agregar 20 ml de ácido clorhídrico 0,5 N (SV) y agitar hasta que el color rosado de la solución desaparezca, agregar 3 gotas de fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,5 N (SV) hasta la apari-

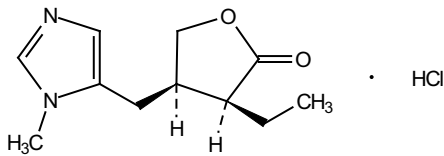
ción de color rosado tenue persistente. Registrar este valor como *índice de saponificación*. Cada ml de hidróxido de sodio 0,5 N empleado en la determinación del índice de saponificación equivale a 15,52 mg de $-OCH_3$.

Ácido galacturónico - Cada ml de hidróxido de sodio 0,5 N empleado en la titulación total en *Grupos metoxilos* (suma de la *titulación inicial* y del *índice de saponificación*) equivale a 97,07 mg de $C_6H_{10}O_7$.

ROTULADO

Indicar en el rotulo si el origen de Pectina es de manzana o de frutos cítricos.

PILOCARPINA, CLORHIDRATO DE



$C_{11}H_{16}N_2O_2 \cdot HCl$ PM: 244,7 54-71-7

Definición - Clorhidrato de Pilocarpina es Monoclorhidrato de (3S-cis)-3-etildihidro-4-[(1-metil-1H-imidazol-5-il)metil]-2(3H)-furanona. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{11}H_{16}N_2O_2 \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales incoloros, translúcidos, inodoros. Higroscópico y sensible a la luz. Sus soluciones son ácidas frente al tornasol. Muy soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol; poco soluble en cloroformo; insoluble en éter.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Pilocarpina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*.

B - Una solución 1 en 20 debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +88,5° y +91,5°.

Solución muestra: 20 mg por ml, en agua.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 199 y 205 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 3 °C.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 3,0 % de su peso.

Ensayo de sustancias fácilmente carbonizables <350>

Disolver 250 mg en 5 ml de ácido sulfúrico (SR); la solución no debe presentar más color que la *Solución de comparación B*.

Impurezas comunes <510>

Solución estándar y *Solución muestra*: emplear

alcohol absoluto como solvente.

Fase móvil: éter de petróleo, alcohol absoluto e hidróxido de amonio (70:30:1).

Revelador: 17.

Límite: no más de 1 %.

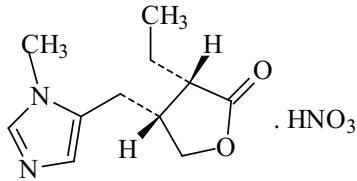
Otros alcaloides

Disolver 200 mg de Clorhidrato de Pilocarpina en 20 ml de agua y dividir la solución en dos porciones. A una de las porciones agregar algunas gotas de hidróxido de amonio 6 N y a la otra, agregar algunas gotas de dicromato de potasio (SR): no se debe producir turbidez en ninguna de las soluciones.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Clorhidrato de Pilocarpina, transferir a un erlenmeyer y disolver en 50 ml de etanol. Agregar 5 ml de ácido clorhídrico 0,01 N y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente (ver 780. *Volumetría*). Leer el volumen agregado entre los dos puntos de inflexión. Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 24,47 mg de $C_{11}H_{16}N_2O_2 \cdot HCl$.

PILOCARPINA, NITRATO DE



$C_{11}H_{16}N_2O_2 \cdot HNO_3$ PM: 271,3 148-72-1

Definición - Nitrato de Pilocarpina es Mononitrato de (3*S-cis*)-3-etildihidro-4-[(1-metil-1*H*-imidazol-5-il)metil]-2(3*H*)-furanona. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{11}H_{16}N_2O_2 \cdot HNO_3$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales blancos y brillantes. Sus soluciones son ácidas frente al tornasol. Fácilmente soluble en agua; moderadamente soluble en alcohol; insoluble en cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Nitrato de Pilocarpina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

[NOTA: es estable al aire y se altera por exposición a la luz.]

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Mezclar una solución de Nitrato de Pilocarpina 1 en 10 con un volumen igual de sulfato ferroso (SR) y superponer la mezcla sobre 5 ml de ácido sulfúrico contenido en un tubo de ensayo: la zona de contacto se debe tornar de color castaño.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 171 y 176 °C, con descomposición; con un intervalo de fusión no mayor de 3 °C.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +79,5° y +82,5°.

Solución muestra: 20 mg por ml, en agua.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 2,0 % de su peso.

Ensayo de sustancias fácilmente carbonizables <350>

Disolver 100 mg de Nitrato de Pilocarpina en 5 ml de ácido sulfúrico (SR): la solución no debe

presentar más color que la *Solución de comparación A*.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - A 5 ml de una solución de Nitrato de Pilocarpina 1 en 50, acidificada con ácido nítrico, agregar algunas gotas de nitrato de plata (SR): no debe producir opalescencia de inmediato.

Otros alcaloides

Disolver 200 mg de Nitrato de Pilocarpina en 20 ml de agua y dividir la solución en dos porciones. A una porción agregar algunas gotas de hidróxido de amonio 6 N y a la segunda agregar algunas gotas de dicromato de potasio (SR): no se debe producir turbidez en ninguna de las soluciones.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol y amoníaco concentrado (85:14:1)

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Nitrato de Pilocarpina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver en agua, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Solución estándar diluida - Transferir 3 ml de la *Solución estándar* a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución muestra - Disolver 300 mg de Nitrato de Pilocarpina en agua y diluir con el mismo solvente a 10 ml.

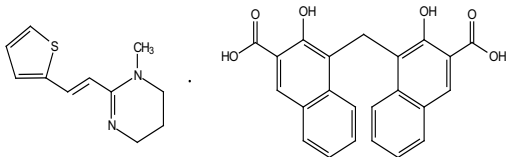
Revelador - Disolver 0,85 g de subnitrato de bismuto en 40 ml de una mezcla de agua y ácido acético glacial (4:1). Agregar 40 ml de solución de yoduro de potasio 2 en 5, luego agregar 120 ml de ácido acético glacial y 250 ml de agua.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de la *Solución estándar*, 10 µl de la *Solución estándar diluida* y 10 µl de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y secar la placa entre 100 y 105 °C durante 10 minutos. Dejar enfriar y pulverizar sobre la placa con *Revelador*: a excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ninguna mancha debe ser más intensa que la mancha obtenida con la *Solución estándar diluida* (1,0 %).

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 600 mg de Nitrato de Pilocarpina, disolver en 30 ml de ácido acético glacial, calentando suavemente para favorecer la disolución, enfriar a temperatura ambiente y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 27,13 mg de $C_{11}H_{16}N_2O_2 \cdot HNO_3$.

PIRANTEL, PAMOATO DE



$C_{11}H_{14}N_2S$ $C_{23}H_{16}O_6$ PM: 594,7 22204-24-6

Sinonimia - Emboato de Pirantel.

Definición - Pamoato de Pirantel es (*E*)-1,4,5,6-tetrahidro-1-metil-2-[2-(2-tienil)etenil] pirimidina, compuesto con 4,4'-metilenobis-[3-hidroxi-2-naftalencarboxílico] (1:1). Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{34}H_{30}N_2O_6S$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Sólido amarillo o pardo claro. Soluble en dimetilsulfóxido; poco soluble en dimetilformamida; prácticamente insoluble en agua y metanol.

Sustancias de referencia - Ácido Pamoico SR-FA. Pamoato de Pirantel SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Concentración: 16 μ g por ml.

Solvente: metanol.

C - Examinar los cromatogramas según se indica en *Valoración*. Los tiempos de retención de los picos principales de pirantel base y ácido pamoico obtenidos a partir de la *Preparación muestra* se deben corresponder con los obtenidos con la *Preparación estándar*.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 2,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,5 %, a partir de 1,33 g.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,005 %.

Límite de hierro <580>

Agregar 3 ml de ácido clorhídrico y 2 ml de ácido nítrico al residuo obtenido en el ensayo de *Determinación del residuo de ignición* y evaporar en

un baño de vapor hasta sequedad. Disolver el residuo en 2 ml de ácido clorhídrico con la ayuda de calor suave. Agregar 18 ml de ácido clorhídrico, diluir con agua hasta 50 ml y mezclar. Diluir 5 ml de esta solución hasta 47 ml con agua: el límite es 0,0075 %.

Sustancias relacionadas

MÉTODO I

Fase estacionaria - Impregnar un papel de filtro de 18 × 56 cm (Whatman N° 1 o equivalente) con una solución recientemente preparada mezclando 7 volúmenes de acetona y 3 volúmenes de solución reguladora de cloruro de sodio-glicina-ácido clorhídrico, preparada mezclando 3 volúmenes de una solución de glicina y cloruro de sodio 0,3 M para ambos compuestos con 7 volúmenes de ácido clorhídrico 0,3 M. Prensar uniformemente el papel impregnado entre dos hojas de papel absorbente blanco no fluorescente, para eliminar el exceso de solvente.

Fase móvil - Acetato de etilo, butanol y agua (10:1:1).

Diluyente - Cloroformo, metanol e hidróxido de amonio (10:10:1).

Soluciones estándar - Preparar dos soluciones de aproximadamente 0,2 y 20 mg por ml de Pamoato de Pirantel SR-FA en *Diluyente*.

Soluciones muestra - Preparar dos soluciones de aproximadamente 0,2 y 20 mg por ml de Pamoato de Pirantel en *Diluyente*.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre el papel 20 μ l de cada una de las *Soluciones estándar* y 20 μ l de las *Soluciones muestra*. Colocar el papel de inmediato en una cámara cromatográfica y desarrollar por cromatografía descendente (ver *100. Cromatografía*) durante 16 a 20 horas. Retirar de la cámara, dejar secar al aire durante 10 minutos, transferir a una estufa con circulación de aire y secar a 60 °C durante 30 minutos. Examinar los cromatogramas bajo luz ultravioleta a 254 nm: los valores de R_f de las manchas principales obtenidos a partir de las *Soluciones muestra* se deben corresponder con los obtenidos con las *Soluciones estándar*, y a excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* de mayor concentración, ninguna mancha debe ser mayor en tamaño o intensidad a la mancha principal en el cromatograma obtenido con la *Solución muestra* de menor concentración.

MÉTODO II

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver *100. Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo, agua y ácido acético glacial (3:1:1).

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Pamoato de Pirantel SR-FA, transferir a un matraz aforado de 5 ml, completar a volumen con dimetilformamida y mezclar.

Solución madre de la muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Pamoato de Pirantel, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver, completar a volumen con dimetilformamida y mezclar.

Solución muestra - Transferir 1 ml de la *Solución madre de la muestra* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con dimetilformamida y mezclar.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de la *Solución madre de la muestra*, 5 µl de la *Solución muestra* y 5 µl de la *Solución estándar*. Desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara y dejar secar al aire durante 10 minutos. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm. Los cromatogramas obtenidos para la *Solución madre de la muestra* y la *Solución muestra* deben presentar manchas separadas correspondientes al pirantel y al pamoato que se corresponden a las obtenidas con la *Solución estándar*: el valor de R_f del pirantel debe ser aproximadamente 0,3 y para el pamoato debe ser aproximadamente 0,8. A excepción de las dos manchas principales en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución madre de la muestra*, ninguna otra mancha debe ser mayor en tamaño o intensidad a la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*.

Contenido de ácido pamoico

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 288 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por partículas porosas de sílice de 5 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo, ácido acético, agua y dietilamina (92,8:3:3:1,2). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*). [NOTA: al aumentar la cantidad de acetonitrilo en la *Fase móvil* aumentan los tiempos de retención. Al aumentar la cantidad de ácido acético, agua y dietilamina reduce los tiempos de retención. Si es necesario realizar algún ajuste en la *Fase móvil*, mantener la proporción entre ácido acético, agua y dietilamina (1:1:0,4)].

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos para el ácido pamoico y para el pirantel deben ser de aproximadamente 0,6 y 1,0 respectivamente; la resolución R entre pirantel y ácido pamoico no debe ser menor de 10; el número de platos teóricos para el pico de pirantel no debe ser menor de 8.000; el factor de asimetría para el pico de pirantel no debe ser mayor de 1,3; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Ácido Pamoico SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,52 mg por ml. Transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

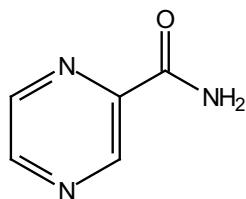
Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* según se indica en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se indica en *Valoración*. Calcular la cantidad de $C_{23}H_{16}O_6$ en la porción de Pamoato de Pirantel en ensayo, a partir de las respuestas de los picos de ácido pamoico obtenidas con la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. No debe contener menos de 63,4 % y no más de 67,3 % de ácido pamoico calculado sobre la sustancia seca.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 450 mg de Pamoato de Pirantel, transferir a un erlenmeyer, agregar 10 ml de anhídrido acético y 50 ml de ácido acético glacial. Calentar a 50 °C y agitar durante 10 minutos. Dejar enfriar a temperatura ambiente y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 59,47 mg de $C_{11}H_{14}N_2S$ $C_{23}H_{16}O_6$.

PIRAZINAMIDA



$C_5H_5N_3O$

PM: 123,1

98-96-4

Definición - Pirazinamida es Pirazinacarboxamida. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_5H_5N_3O$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Moderadamente soluble en agua; poco soluble en alcohol, cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Pirazinamida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: agua.

Concentración: 10 μ g por ml.

Las absorbancias a 268 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

C - Calentar a ebullición 20 mg de Pirazinamida con 5 ml de hidróxido de 5 N: se debe percibir olor a amoníaco.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 188 y 191 °C.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,5 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromato-*

grafía) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Butanol, agua y ácido acético glacial (60:20:20).

Diluyente - Cloruro de metileno y metanol (9:1).

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Pirazinamida, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver y completar a volumen con *Diluyente*.

Solución estándar A - Transferir 1 ml de *Solución muestra* a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con *Diluyente*. Transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con *Diluyente*.

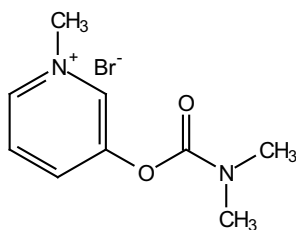
Solución estándar B - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de *Niacina*, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver con *Diluyente*, agregar 1 ml de *Solución muestra* y completar a volumen con *Diluyente*.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 20 μ l de las *Soluciones estándar A* y *B* y 20 μ l de la *Solución muestra*. Desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente, dejar secar al aire y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm: a excepción de la mancha principal, ninguna mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser más intensa que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A* (0,2 %). El ensayo sólo es válido si el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar B* presenta dos manchas completamente separadas.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Pirazinamida, disolver en 50 ml de anhídrido acético. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 12,31 mg de $C_5H_5N_3O$.

PIRIDOSTIGMINA, BROMURO DE



$C_9H_{13}BrN_2O_2$ PM: 261,1 101-26-8

Definición - Bromuro de Piridostigmina es Bromuro de 3-[[[(dimetilamino)-carbonil]oxi]-1-metilpiridinio. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_9H_{13}BrN_2O_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o prácticamente blanco. Higroscópico. Fácilmente soluble en agua, alcohol y cloroformo; poco soluble en éter de petróleo; prácticamente insoluble en éter.

Sustancia de referencia - Bromuro de Piridostigmina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: ácido clorhídrico 0,1 N.

Concentración: 35 μ g por ml.

Las absortividades a 269 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

C - Transferir 100 mg de Bromuro de Piridostigmina a un tubo de ensayo y agregar 0,6 ml de hidróxido de sodio 1 N: se debe desarrollar un color anaranjado. Cuando la mezcla se calienta, el color debe cambiar a amarillo y cuando se coloca una tira de papel de tornasol rojo humedecida sobre la parte superior del tubo de ensayo, la tira de papel debe cambiar a azul.

D - Una solución de Bromuro de Piridostigmina 1 en 50 debe responder a los ensayos para *Bromuro* <410>.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 154 y 157 °C, secando previamente la muestra.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío sobre pentóxido de fósforo a 100 °C durante 4 horas: no debe perder más de 2,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Impurezas comunes <510>

Solución muestra y Solución estándar: emplear metanol como solvente.

Fase móvil: metanol y agua (1:1); las placas para cromatografía en capa delgada están recubiertas con celulosa con indicador de fluorescencia.

Revelador: 1.

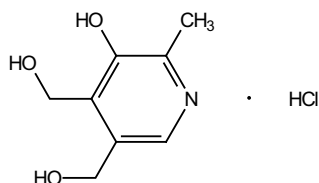
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método 1.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 230 mg de Bromuro de Piridostigmina, transferir a un erlenmeyer apropiado y disolver en 10 ml de anhídrido acético. Agregar 40 ml del mismo solvente y titular con ácido perclórico 0,1 N, determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 26,11 mg de $C_9H_{13}BrN_2O_2$.

PIRIDOXINA, CLORHIDRATO DE



$C_8H_{11}NO_3 \cdot HCl$ PM: 205,6 58-56-0

Sinonimia - Clorhidrato de la Vitamina B₆.

Definición - Clorhidrato de Piridoxina es Clorhidrato de 5-hidroxi-6-metil-3,4-piridindimetanol. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_8H_{11}NO_3 \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino o cristales blancos o casi blancos. Estable al aire. Afectado lentamente por la luz solar. Sus soluciones poseen un pH de aproximadamente 3. Fácilmente soluble en agua; poco soluble en alcohol; insoluble en éter.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Piridoxina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción Infrarroja <460>. *En suspensión.*

B - Debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío sobre gel de sílice durante 4 horas; no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,003 %.

Contenido de cloruro

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Clorhidrato de Piridoxina, transferir a un erlenmeyer con tapón de vidrio y disolver en 50 ml de metanol. Agregar 5 ml de ácido acético glacial, 2 a 3 gotas de eosina (SR) y titular con nitrato de plata 0,1 N (SV). Cada ml de nitrato de plata 0,1 N equivale a 3,545 mg de Cl. Debe contener no menos de 16,9 % y no más de 17,6 % de Cl, calculado sobre la sustancia seca.

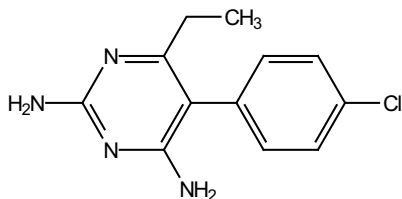
Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 150 mg de Clorhidrato de Piridoxina, transferir a un erlenmeyer, disolver en 5 ml de ácido fórmico anhídrido, agregar 50 ml de anhídrido acético y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación de un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 20,56 mg de $C_8H_{11}NO_3 \cdot HCl$.

PIRIMETAMINA



$C_{12}H_{13}ClN_4$ PM: 248,7 58-14-0

Definición - Pirimetamina es 5-(4-Clorofenil)-6-etil-2,4-pirimidinodiamina. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{12}H_{13}ClN_4$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco. Poco soluble en acetona, alcohol y cloroformo; prácticamente insoluble en agua

Sustancia de referencia - Pirimetamina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Sustancias relacionadas*, bajo luz ultravioleta a 254 nm. La mancha principal obtenida a partir de la *Solución muestra B* se debe corresponder en valor de R_f , tamaño e intensidad a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A*.

Impurezas comunes <510>

Solución estándar y Solución muestra: emplear una mezcla de metanol y cloroformo (1:1) como solvente.

Fase móvil: alcohol *n*-propílico, ácido acético glacial y agua (8:1:1).

Revelador: 2.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 238 y 242 °C.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Sustancias relacionadas

[NOTA: preparar las soluciones que contengan la muestra y la *Sustancia de referencia* en el momento de su uso].

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno, ácido acético glacial, propanol y cloroformo (76:12:8:4).

Diluyente - Cloroformo y metanol (9:1).

Solución muestra A - Disolver 250 mg de Pirimetamina en *Diluyente* y diluir a 25 ml con *Diluyente*.

Solución muestra B - Diluir 1 ml de *Solución muestra A* a 10 ml con *Diluyente*.

Solución estándar A - Disolver 100 mg de Pirimetamina SR-FA en *Diluyente* y diluir a 100 ml con *Diluyente*.

Solución estándar B - Diluir 2,5 ml de *Solución muestra A* a 100 ml con *Diluyente*. Diluir 1 ml de esta solución a 10 ml con *Diluyente*.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 20 µl de las *Soluciones muestra A* y *B* y 20 µl de las *Soluciones estándar A* y *B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: a excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra A*, ninguna mancha debe ser mayor en tamaño o intensidad que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar B* (0,25 %).

Límite de sulfato

Solución muestra - Agitar 1,0 g de Pirimetamina con 50 ml de agua durante 2 minutos y filtrar.

Solución de comparación - A

Procedimiento - A 1,5 ml de solución de sulfato (10 ppm) (SL1) agregar 1 ml de cloruro de bario al 25 %, agitar y dejar en reposo durante 1 minuto. Agregar 15 ml de *Solución muestra* y 0,5 ml ácido acético. Proceder del mismo modo con un control preparado a partir de 15 ml de una mezcla de 12,5 ml de agua y 2,5 ml de solución de sulfato (10 ppm) (SL). Luego de 5 minutos, si la *Solución muestra* presenta opalescencia, esta no debe ser más intensa que la del control (80 ppm).

Impurezas orgánicas volátiles <520>

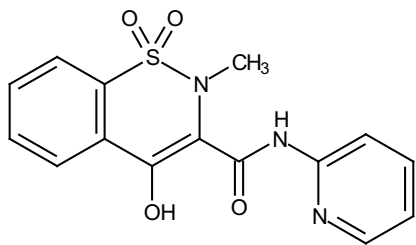
Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Pirimetamina, disolver en 25 ml de ácido acético glacial, calentando suavemente para disolver. Enfriar la solución a temperatura ambiente, agregar 4 gotas de rojo de quinaldina (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 24,87 mg de $C_{12}H_{13}ClN_4$.

PIROXICAM



$C_{15}H_{13}N_3O_4S$ PM: 331,4 36322-90-4

Definición - Piroxicam es 4-Hidroxi-2-metil-N-2-piridinil-2H-1,2-benzotiazina-3-carboxamida-1,1-dióxido. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_{15}H_{13}N_3O_4S$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o ligeramente amarillo. Inodoro. Poco soluble en alcohol y en soluciones alcalinas acuosas; muy poco soluble en agua, en ácidos diluidos y en la mayoría de los solventes orgánicos.

Sustancia de referencia - Piroxicam SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: ácido clorhídrico en metanol 1 en 1.200.

Concentración: 10 µg por ml.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,5 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,3 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,005 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un cromatógrafo de líquidos equipado con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida

por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,2 ml por minuto.

Solución reguladora - Disolver 7,72 g de ácido cítrico anhidro en 400 ml de agua y disolver por separado 5,35 g de fosfato dibásico de sodio en 100 ml de agua. Agregar la solución de fosfato a la solución de ácido cítrico, diluir con agua a 1 litro y mezclar.

Fase móvil - *Solución reguladora* y metanol (55:45). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Piroxicam SR-FA en ácido clorhídrico metanólico 0,01 N para obtener una solución de aproximadamente 0,25 mg por ml. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, agregar 25 ml de ácido clorhídrico metanólico 0,01 N y 10,0 ml de agua, diluir con ácido clorhídrico metanólico 0,01 N a volumen y mezclar.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Piroxicam, transferir a un matraz aforado de 100 ml, diluir con ácido clorhídrico metanólico 0,01 N a volumen y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, agregar 50 ml de ácido clorhídrico metanólico 0,01 N y 20,0 ml de agua. Diluir con ácido clorhídrico metanólico 0,01 N a volumen y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 500 platos teóricos, el factor de asimetría no debe ser mayor de 1,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 25 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad en mg de $C_{15}H_{13}N_3O_4S$ en la porción de Piroxicam en ensayo.

PLATA, NITRATO DE

AgNO₃ PM: 169,9 7761-88-8

Definición - Nitrato de Plata es la Sal de plata del ácido nítrico. El Nitrato de Plata pulverizado y secado en la oscuridad sobre gel de sílice durante 4 horas, debe contener no menos de 99,8 por ciento y no más de 100,5 por ciento de AgNO₃ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales incoloros o blancos que por exposición a la luz y en presencia de materia orgánica, se torna gris o negro grisáceo. El pH de sus soluciones acuosas es aproximadamente 5,5. Muy soluble en agua y aun más en agua a ebullición; fácilmente soluble en alcohol a ebullición; moderadamente soluble en alcohol; poco soluble en éter.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Una solución de Nitrato de Plata 1 en 50 debe responder a los ensayos para *Plata* <410>.

B - En un tubo de ensayo, mezclar una solución de Nitrato de Plata 1 en 10 con 1 gota de difenilamina (SR) y luego verter cuidadosamente sobre ácido sulfúrico: debe aparecer color azul profundo en la superficie de contacto.

Aspecto de la solución

Una solución de 2 g de Nitrato de Plata en 20 ml de agua debe ser límpida e incolora.

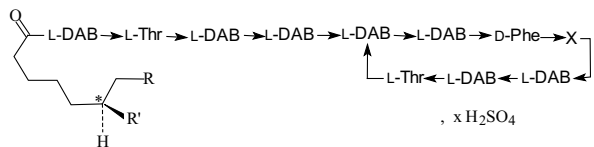
Cobre

A 5 ml de una solución de Nitrato de Plata 1 en 10 agregar hidróxido de amonio 6 N, gota a gota, hasta disolver el precipitado formado: no se debe producir color azul.

VALORACIÓN

Pulverizar aproximadamente 1 g de Nitrato de Plata y secar en la oscuridad sobre gel de sílice durante 4 horas. Pesar exactamente alrededor de 700 mg de la sal seca, disolver en 50 ml de agua, agregar 2 ml de ácido nítrico y 2 ml de sulfato férrico amónico (SR) y titular con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de tiocianato de amonio 0,1 N equivale a 16,99 mg de AgNO₃.

POLIMIXINA B, SULFATO DE



DAB = Ácido 2,4-diaminobutírico

Polimixina	R	R'	X	FM	PM
B ₁	CH ₃	CH ₃	L-Leu	C ₅₆ H ₉₈ N ₁₆ O ₁₃	1.204
B ₂	H	CH ₃	L-Leu	C ₅₅ H ₉₆ N ₁₆ O ₁₃	1.190
B ₃	CH ₃	H	L-Leu	C ₅₅ H ₉₆ N ₁₆ O ₁₃	1.190
B ₁₋₁	CH ₃	CH ₃	L-Ile	C ₅₆ H ₉₈ N ₁₆ O ₁₃	1.204

Definición - Sulfato de Polimixina B es una mezcla de sulfatos de polipéptidos producidos por el crecimiento de cepas de *Bacillus polymyxa* cuyo principal componente es Polimixina B₁. Debe tener una potencia equivalente a no menos de 6.500 Unidades de Polimixina B por mg, calculada con respecto a la sustancia seca. Polimixina B debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco, higroscópico. Soluble en agua; poco soluble en alcohol.

Sustancia de referencia - Sulfato de Polimixina B SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Sustancias relacionadas*. Los tiempos de retención de los picos correspondientes a Polimixina B₁, B₂, B₃ y B₁₋₁ en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se deben corresponder, respectivamente, con los obtenidos en la *Solución estándar*.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Fenol y agua (75:25).

Solución estándar A - Disolver 20 mg de leucina en agua y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 20 mg de treonina en agua y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar C - Disolver 20 mg de fenilalanina en agua y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar D - Disolver 20 mg de serina en agua y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución muestra - Disolver 5 mg de Sulfato de Polimixina B en 1 ml de una mezcla de volúmenes iguales de ácido clorhídrico y agua, calentar a 135 °C en un tubo sellado durante 5 horas y evaporar hasta sequedad en un baño de agua. Disolver el residuo en 0,5 ml de agua.

Revelador - Disolver 1,0 g de ninhidrina en 50 ml de alcohol y agregar 10 ml de ácido acético glacial.

Procedimiento - [NOTA: realizar las siguientes operaciones protegidas de la luz]. Aplicar por separado sobre la placa, en bandas de 10 mm, 5 µl de las *Soluciones estándar A, B, C y D* y 5 µl de la *Solución muestra*. Dejar que la placa se impregne con los vapores de la *Fase móvil*, pero sin estar en contacto con esta, durante al menos 12 horas. Desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y secar entre 100 y 105 °C. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar entre 100 y 105 °C durante 5 minutos: el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe presentar bandas cuyos valores de *R_f* se deben corresponder con los obtenidas con las *Soluciones estándar A, B y C*, pero no debe presentar una banda que se corresponda con la obtenida con la *Solución estándar D*. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe observar una banda con un valor de *R_f* muy bajo, correspondiente al ácido 2,4-diaminobutírico.

C - Debe cumplir con los ensayos para *Sulfatos* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 5,0 y 7,0; determinado sobre una solución preparada disolviendo 200 mg de Sulfato de Polimixina B en 10 ml de agua libre de dióxido de carbono.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre - 78° y - 90°, con respecto a la sustancia seca.

Solución muestra: disolver 500 mg de Sulfato de Polimixina B en 25 ml de agua.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 215 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano desactivado para bases y total-

mente recubierto químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. Mantener la columna aproximadamente a 30 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución de sulfato de sodio - Transferir 4,46 g de sulfato de sodio anhidro, exactamente pesados, a un matraz aforado de 1 litro y disolver en 900 ml de agua. Ajustar a pH 2,3 con ácido fosfórico diluido y completar a volumen con agua.

Fase móvil - Solución de sulfato de sodio y acetonitrilo (80:20). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Agua y acetonitrilo (80:20).

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Sulfato de Polimixina B SR-FA y transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a volumen con *Diluyente*.

Solución estándar diluida - Transferir 1 ml de la *Solución estándar* a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Diluyente*.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Sulfato de Polimixina B, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a volumen con *Diluyente*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el tiempo de retención para el pico correspondiente a Polimixina B₁ debe ser aproximadamente 35 minutos; los tiempos de retención relativos a Polimixina B₁ deben ser aproximadamente 0,5 para Polimixina B₂, 0,6 para Polimixina B₃ y 0,8 para Polimixina B₁₋₁; la resolución *R* entre los picos de Polimixina B₂ y Polimixina B₃ no debe ser menor de 3,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatografo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*. Cromatografiar la *Solución muestra* durante al menos 1,4 veces el tiempo de retención del pico de Polimixina B₁. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos: ninguna impureza individual debe ser mayor de 3,0 % de la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar* y la suma de todas las impurezas no debe ser mayor de 17,0 % de la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar*. Ignorar cualquier pico con una respuesta menor a 0,7 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar*.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,75 %.

Sulfatos

Disolver 250 mg de Sulfato de Polimixina B en 100 ml de agua y ajustar la solución a pH 11 con amoníaco concentrado. Agregar 10 ml de cloruro de bario 0,1 M (SV) y aproximadamente 0,5 mg de púrpura de ftaleína. Titular con edetato disódico 0,1 M (SV), agregando 50 ml de alcohol cuando la solución comience a cambiar de color y continuar la titulación hasta la desaparición del color azul-violeta. Cada ml de cloruro de bario 0,1 M equivale a 9,606 mg de sulfato. No debe contener menos de 15,5 y no más de 17,5 % de sulfato, calculado con respecto a la sustancia seca.

Pérdida por secado <680>

Secar a 60 °C durante 3 horas a una presión que no exceda los 5 mm Hg: no debe perder más de 6,0 % de su peso.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando el Sulfato de Polimixina B esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral, debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de pirogenos <340>

Cuando el Sulfato de Polimixina B esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral, debe cumplir con los requisitos cuando se inyecta 1 ml de una solución de Sulfato de Polimixina B de aproximadamente 1,5 mg por ml en *Agua para inyectables* por kg del peso corporal del conejo.

VALORACIÓN

Proceder con Sulfato de Polimixina B según se indica para *Sulfato de Polimixina B* en 770. *Valoración microbiológica de antibióticos*.

ROTULADO

Cuando Sulfato de Polimixina B esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral, indicar en el rótulo que es estéril y apirógena.

POLISORBATO 80

9005-65-6

Sinonimia - Sorbitan 80.

Definición - Polisorbato 80 es un éster oleato de sorbitol y sus anhídridos están copolimerizados con aproximadamente 20 moles de óxido de etileno para cada mol de sorbitol o anhídridos de sorbitol. Polisorbato 80 debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido aceitoso de color amarillo a ámbar. En agua produce una solución inodora y prácticamente incolora. Muy soluble en agua; soluble en acetato de etilo y alcohol; insoluble en aceite mineral.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - A 5 ml de una solución de Polisorbato 80 (1 en 20), agregar 5 ml de hidróxido de sodio (SR), calentar a ebullición durante unos minutos, enfriar y acidificar con ácido clorhídrico 3 N: la solución debe ser fuertemente opalescente.

B - A 2 ml de una solución de Polisorbato 80 (1 en 20) agregar gota a gota 0,5 ml de bromo (SR): se debe producir decoloración del bromo.

C - Una mezcla de Polisorbato 80 y agua (60:40) debe producir una masa gelatinosa, tanto a temperatura ambiente como a temperaturas inferiores.

Determinación de la densidad relativa <160>

Debe estar comprendida entre 1,06 y 1,09.

Determinación de la viscosidad <190>

Debe estar comprendida entre 300 y 500 centistokes, determinada a 25 °C.

Determinación del índice de acidez <480>

Pesar 10 g de Polisorbato 80, transferir a un erlenmeyer de 250 ml de boca ancha y agregar 50 ml de alcohol neutralizado. Calentar en un baño de vapor casi hasta ebullición agitando ocasionalmente. Colocar un vaso de precipitados invertido sobre la boca del erlenmeyer, enfriar bajo corriente de agua, agregar 5 gotas de fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV): no se debe consumir más de 4 ml de hidróxido de sodio 0,1 N, correspondientes a un índice de acidez de 2,2.

Determinación del índice de hidroxilo <480>

Debe estar comprendido entre 65 y 80.

Determinación del índice de saponificación <480>

Debe estar comprendido entre 45 y 55.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,25 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 10 ppm.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 3,0 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

POTASIO, CARBONATO DE

K_2CO_3 PM: 138,2 584-08-7

Definición - Carbonato de Potasio debe contener no menos de 99,5 por ciento y no más de 100,5 por ciento de K_2CO_3 , calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo granular blanco. Higroscópico. Fácilmente soluble en agua.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Una solución de Carbonato de Potasio 1 en 10 debe ser fuertemente alcalina frente a la fenolftaleína (SR).

B - Debe responder a los ensayos para *Potasio* <410>.

C - Debe responder a los ensayos para *Carbonato* <410>.

Pérdida por secado <680>

Secar a 180 °C durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Sustancias insolubles

Disolver 1 g de Carbonato de Potasio en 20 ml de agua: la solución obtenida debe ser transparente e incolora.

Límite de metales pesados <590>

Disolver 4,0 g de Carbonato de Potasio en 10 ml de agua, agregar 15 ml de ácido clorhídrico 3 N y calentar a ebullición. Agregar 1 gota de fenolftaleína (SR) y neutralizar con hidróxido de sodio 1 N hasta que la solución sea débilmente rosada. Enfriar y diluir a 25 ml con agua. El límite es 0,0005 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 2,5 g de Carbonato de Potasio, secar a 180 °C durante 4 horas y transferir a un erlenmeyer con la ayuda de 50 ml de agua, agregar 4 gotas de rojo de metilo (SR) y titular con ácido clorhídrico 1 N (SV) lentamente y con agitación constante hasta que la solución sea ligeramente rosada. Calentar a ebullición, dejar enfriar y continuar la titulación. Calentar a ebullición nuevamente y volver a titular, si fuera necesario, hasta que la coloración rosa pálido no cambie con la ebullición. Cada ml de ácido clorhídrico 1 N equivale a 69,11 mg de K_2CO_3 .

POTASIO, CLORURO DE

KCl

PM: 74,6

7447-40-7

Definición - Cloruro de Potasio debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de KCl, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o cristales incoloros. Estable al aire. Sus soluciones son neutras al tornasol. Muy soluble en agua a ebullición; fácilmente soluble en agua; insoluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Una solución de Cloruro de Potasio debe responder al ensayo para *Cloruro* <410>.

B - Transferir 10,0 g de Cloruro de Potasio a un matraz aforado de 100 ml, disolver en agua libre de dióxido de carbono y completar a volumen con el mismo solvente: esta solución debe responder al ensayo para *Potasio* <410>.

Acidez o alcalinidad

Disolver 5,0 g de Cloruro de Potasio en 50 ml de agua libre de dióxido de carbono, agregar 0,1 ml de azul de bromotimol (SR1): no se debe consumir más de 0,5 ml de ácido clorhídrico 0,01 N o hidróxido de sodio 0,01 N para virar el color de la solución.

Bario

Transferir 10,0 g de Cloruro de Potasio a un matraz aforado de 100 ml, disolver en agua libre de dióxido de carbono y completar a volumen con el mismo solvente. A 5 ml de esta solución agregar 1 ml de ácido sulfúrico 2 N y 5 ml de agua (*Solución muestra*) y a otra porción igual agregar 6 ml de agua (*Solución blanco*). Luego de 15 minutos, las soluciones deben ser igualmente claras.

Límite de bromuro

Solución de cloramina T - Preparar una solución de aproximadamente 0,1 mg de cloramina T por ml.

Solución estándar - Preparar una solución de 3 mg de bromuro de potasio por litro. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml, agregar 2,0 ml de rojo de fenol (SR1) y 1,0 ml de *Solución de cloramina T* y mezclar. Luego de 2 minutos agregar 0,15 ml de tiosulfato de sodio 0,1 M, completar a volumen y mezclar.

Solución muestra - Transferir 1,0 g de Cloruro de Potasio a un matraz aforado de 10 ml, diluir en agua libre de dióxido de carbono y completar a volumen con el mismo solvente. Transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con agua. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml agregar 2,0 ml de rojo de fenol (SR1) y 1,0 ml de *Solución de cloramina T* y mezclar inmediatamente. Luego de 2 minutos agregar 0,15 ml de tiosulfato de sodio 0,1 N, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Determinar la absorbancia de la *Solución estándar* y la *Solución muestra* con un espectrofotómetro a 590 nm empleando agua como blanco: la absorbancia de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la de la *Solución estándar*.

Ioduro

Humedecer 5,0 g de Cloruro de Potasio mediante el agregado, gota a gota, de 0,15 ml de una solución recientemente preparada de nitrito de sodio al 10 %, 2 ml de ácido sulfúrico 1 N, 25 ml de almidón libre de ioduro y 25 ml de agua. Dejar reposar durante 5 minutos y examinar a la luz natural: no debe observarse coloración azul.

Determinación de aluminio <140>

Cuando en el rótulo se indique que Cloruro de Potasio esté destinado a la preparación de soluciones para diálisis peritoneal, hemodiálisis o hemofiltración, proceder directamente empleando 2,0 g de Cloruro de Potasio para preparar la *Solución muestra*: el límite es de 1 µg por g.

Límite de magnesio y metales alcalinos térreos

Solución reguladora - Transferir 5,4 g de cloruro de amonio a un matraz aforado de 100 ml, disolver con 20 ml de agua, agregar 35 ml de hidróxido de amonio 10 M y completar a volumen con agua. El pH de la solución debe ser 10,0.

Procedimiento - A 200 ml de agua agregar 0,1 g de clorhidrato de hidroxilamina, 10 ml de *Solución reguladora*, 1 ml de sulfato de cinc 0,1 M y aproximadamente 0,2 g de negro de eriocromo T, calentar aproximadamente a 40 °C y titular con edetato disódico 0,01 M (SV) hasta que el color violeta vire al azul oscuro. Agregar 10,0 g de Cloruro de Potasio, previamente disuelto en 100 ml de agua y si el color de la solución vira a violeta, titular con edetato disódico 0,01 M (SV) hasta punto final color azul oscuro: no se deben consumir más de 5,0 ml de edetato disódico (0,02 %, calculado como calcio).

Límite de hierro

Solución muestra - Transferir 10,0 g de Cloruro de Potasio a un matraz aforado de 100 ml, disolver

en agua libre de dióxido de carbono y completar a volumen con el mismo solvente. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua.

Procedimiento - A 10 ml de *Solución muestra* agregar 2 ml de una solución de 0,2 g de ácido cítrico por ml y 0,1 ml de ácido tioglicólico. Mezclar, alcalinizar con amoníaco y diluir a 20 ml con agua. Proceder del mismo modo con 10 ml de *Solución estándar de hierro* (ver 580. *Límite de hierro*) 1 en 10 para obtener una solución control. Luego de 5 minutos, si la *Solución muestra* presenta color rosa, este no debe ser más intenso que el del control (20 µg por g).

Límite de sulfato

Solución muestra - Transferir 10,0 g de Cloruro de Potasio a un matraz aforado de 100 ml, disolver en agua libre de dióxido de carbono y completar a volumen con el mismo solvente. Diluir 5 ml de esta solución a 15 ml con agua.

Procedimiento - A 4,5 ml de Solución de sulfato (10 ppm) (SL1) agregar 3 ml de solución de cloruro de bario al 25 %, agitar y dejar reposar durante 1 minuto. A 2,5 ml de esta solución agregar 15 ml de *Solución muestra* y 0,5 ml de ácido acético 5 N y mezclar. Proceder de igual modo con 15 ml de Solución de sulfato (10 ppm) (SL) en lugar de *Solución muestra* para obtener una solución control. Luego de 5 minutos, si la solución muestra presenta opalescencia, esta no debe ser más intensa que la del control (300 ppm).

Límite de sodio

[NOTA: cuando en el rótulo se indique que Cloruro de Potasio esté destinado a la preparación de soluciones para diálisis de uso peritoneal, hemodiálisis o hemofiltración, debe cumplir con este requisito.]

Solución estándar - Disolver 0,5484 g de cloruro de sodio en agua, previamente secado entre 100 y 105 °C, durante 3 horas, diluir con el mismo solvente para obtener 1 litro y mezclar. Esta solución contiene aproximadamente 200 µg de sodio por ml. Diluir cuantitativamente para obtener no menos de tres soluciones de concentraciones que se encuentren en el orden de la concentración de la muestra.

Solución muestra - Transferir 1,0 g de Cloruro de Potasio a un matraz aforado de 100 ml, disolver en agua, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Procedimiento - Medir la intensidad de emisión de la *Solución estándar* y la *Solución muestra* al menos tres veces, en un espectrofotómetro de absorción atómica con corriente de aire de acetileno a 589 nm (ver 440. *Espectrofotometría de absorción*

y *emisión atómica*). Realizar una curva de calibración con las respuestas obtenidas a partir de la *Solución estándar*, trazar la recta que mejor se ajuste y determinar la concentración de sodio de la *Solución muestra*: no debe contener más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Método IV. Emplear 12 ml de una solución de Cloruro de Potasio de aproximadamente 100 mg por ml en agua libre de dióxido de carbono como *Solución muestra* y preparar la *Solución estándar* empleando *Solución estándar de plomo* (1 ppm). El límite es 10 ppm.

Pérdida por secado <680>

Secar entre 100 y 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que Cloruro de Potasio esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas inyectables, debe contener no más de 8,8 Unidades de Endotoxinas por miliequivalente.

VALORACIÓN

Transferir 1,300 g de Cloruro de Potasio a un matraz aforado de 100 ml, disolver en agua y completar a volumen con el mismo solvente. A 10 ml de esta solución agregar 50 ml de agua, 5 ml de ácido nítrico al 12,5 %, 25 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV), 2 ml de ftalato de dibutilo y agitar. Titular con tiocianato de amonio 0,1 N (SV) empleando 2 ml de sulfato férrico amónico al 10 % como indicador y agitando vigorosamente cerca del punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de nitrato de plata 0,1 N equivale a 7,46 mg de KCl.

ROTULADO

Indicar en el rótulo cuando Cloruro de Potasio esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas inyectables, soluciones para diálisis, hemodiálisis o hemofiltración.

POTASIO, FOSFATO DIBÁSICO DE

K_2HPO_4 PM: 174,2 7758-11-4

Definición - Fosfato Dibásico de Potasio debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de K_2HPO_4 , calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo granular incoloro o blanco, algo higroscópico. Fácilmente soluble en agua; muy poco soluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Una solución de Fosfato Dibásico de Potasio 1 en 20 debe responder a los ensayos para *Potasio* <410> y *Fosfato* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 8,5 y 9,6, determinado sobre una solución 1 en 20.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C hasta peso constante: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Sustancias insolubles

Disolver 10 g de Fosfato Dibásico de Potasio en 100 ml de agua caliente, filtrar a través de un crisol filtrante previamente pesado, lavar el residuo insoluble con agua caliente y secar a 105 °C durante 2 horas: el peso del residuo obtenido no debe ser mayor de 20 mg (0,2 %).

Carbonato

A 1 g de Fosfato Dibásico de Potasio, agregar 3 ml de agua y 2 ml de ácido clorhídrico 3 N: se deben producir solo unas pocas burbujas.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Una porción de 1,0 g de Fosfato Dibásico de Potasio no debe presentar más cloruro que el correspondiente a 0,40 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,03 %).

Sulfato - Una porción de 0,20 g de Fosfato Dibásico de Potasio no debe presentar más sulfato que el correspondiente a 0,20 ml de ácido sulfúrico 0,020 N (0,1 %).

Límite de Arsénico <540>

Método I. No más de 3 ppm.

Límite de hierro <580>

Disolver 0,33 g de Fosfato Dibásico de Potasio en 10 ml de agua, agregar 6 ml de solución de clorhidrato de hidroxilamina 1 en 10 y 4 ml de solución de ortofenantrolina, preparada mediante la disolución de 1 g de ortofenantrolina en 1 litro de agua que contenga 1 ml de ácido clorhídrico 3 N, y diluir con agua a 25 ml: todo color rojo producido dentro de 1 hora no debe ser más oscuro que el de un control preparado con 1 ml de *Solución estándar de hierro* (ver 580. *Límite de hierro*): no más de 0,003 %.

Sodio

Una solución de Fosfato Dibásico de Potasio 1 en 10 ensayada en un alambre de platino no debe impartir un color amarillo intenso a una llama no luminosa (ver *Sodio* en 410. *Ensayos generales de identificación*).

Límite de metales pesados <590>

Solución muestra - Disolver una porción equivalente a 4,2 g de K_2HPO_4 en cantidad suficiente de agua para obtener 50 ml. Transferir 12 ml de esta solución a un tubo de Nessler de 50 ml.

Solución estándar - Transferir 1,0 ml de la *Solución estándar de plomo (10 ppm)* y 11 ml de agua a un tubo de Nessler.

Solución control - Transferir 11 ml de la *Solución muestra* a un tubo de Nessler que contenga 1,0 ml de *Solución estándar de plomo (10 ppm)*.

Procedimiento - Proceder según se indica para *Método I*, omitiendo la dilución a 50 ml: el límite es 0,001 %.

Límite de fluoruro

Proceder según se indica en *Límite de fluoruro* en *Fosfato Dibásico de Calcio*. No más de 0,001 %.

Límite de sal tribásica

Disolver 3 g de Fosfato Dibásico de Potasio en 30 ml de agua, enfriar a 20 °C y agregar 3 gotas de azul de timol (SR): se debe producir color azul, el cual se debe tornar amarillo (con un tinte verdoso) al agregar no más de 0,4 ml de ácido clorhídrico 1 N.

VALORACIÓN

Transferir 40,0 ml de ácido clorhídrico 1 N a un vaso de precipitados de 250 ml, agregar 50 ml de agua y titular potenciométricamente con hidróxido de sodio 1 N (SV). Registrar el volumen del hidróxido de sodio consumido como blanco. Pesarse exactamente alrededor de 6,5 g de Fosfato Dibásico de Potasio, transferir a un vaso de precipitados de 250 ml, agregar 50 ml de agua y 50,0 ml de ácido clorhídrico 1 N (SV) y agitar hasta disolución. Titu-

lar el exceso de ácido potenciométricamente con hidróxido de sodio 1 N (SV) hasta el punto de inflexión aproximadamente a pH 4 y registrar la lectura de la bureta. Sustraer a esta lectura la lectura del blanco y designar el volumen de hidróxido de sodio 1 N resultante de esta resta como A . Continuar la titulación con hidróxido de sodio 1 N hasta el punto de inflexión aproximadamente a pH 8,8, registrar la lectura de la bureta y calcular el volumen (B) de hidróxido de sodio 1 N requerido en la titulación entre los dos puntos de inflexión (pH 4 a pH 8,8). Cuando A es igual o menor que B , cada ml de ácido clorhídrico 1 N equivale a 174,2 mg de K_2HPO_4 . Cuando A es mayor que B , cada ml del volumen $2B - A$ de hidróxido de sodio 1 N equivale a 174,2 mg de K_2HPO_4 .

POTASIO, HIDRÓXIDO DE

KOH

PM: 56,1

1310-58-3

Definición - Hidróxido de Potasio debe contener no menos de 85,0 por ciento de álcali total, calculado como KOH, y no más de 3,5 por ciento de K_2CO_3 y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Masas fusionadas blancas o casi blancas, presentadas en forma de varillas, lentes, cilindros o fragmentos irregulares. Duro y quebradizo. Presenta fractura cristalina. Delicuescente. Absorbe rápidamente dióxido de carbono y humedad en exposición al aire. Muy soluble en alcohol a ebullición, fácilmente soluble en agua, alcohol y glicerina.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Precaución - Manipular con sumo cuidado, ya que es altamente cáustico.

Identificación

Una solución de Hidróxido de Potasio (1 en 25) debe responder a los ensayos para *Potasio* <410>.

Sustancias insolubles

Disolver 1 g de Hidróxido de Potasio en 20 ml de agua: la solución debe ser transparente e incolora.

Límite de metales pesados <590>

Disolver 0,67 g de Hidróxido de Potasio en una mezcla de 5 ml de agua y 7 ml de ácido clorhídrico 3 N. Calentar a ebullición, enfriar y diluir con agua a 25 ml. El límite es 30 ppm (0,003 %).

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 1,5 g de Hidróxido de Potasio, disolver en 40 ml de agua libre de dióxido de carbono y enfriar a temperatura ambiente. Agregar fenolftaleína (SR) y titular con ácido sulfúrico 1 N (SV). Registrar el volumen de ácido consumido hasta la desaparición del color rosado del indicador, agregar naranja de metilo (SR) y continuar la titulación hasta color rosado persistente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido sulfúrico 1 N equivale a 56,11 mg de álcali total, calculado como KOH y cada ml de ácido consumido en la titulación con naranja de metilo equivale a 138,2 mg de K_2CO_3 .

POTASIO, IODURO DE

KI PM: 166,0 7681-11-0

Definición - Ioduro de Potasio debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,5 por ciento de KI, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales hexahédricos, transparentes e incoloros o algo opacos y blancos o polvo granular blanco. Higroscópico. Sus soluciones son neutras o alcalinas frente al tornasol. Muy soluble en agua; fácilmente soluble en glicerina; soluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Una solución de Ioduro de Potasio debe responder a los ensayos para *Potasio* <410> y *Ioduro* <410>.

Alcalinidad

Disolver 1,0 g de Ioduro de Potasio en 10 ml de agua, agregar 0,1 ml de ácido sulfúrico 0,1 N y 1 gota de fenoltaleína (SR): no se debe producir color rosado.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Iodato

Disolver 10 g de Ioduro de Potasio en cantidad suficiente de agua libre de dióxido de carbono para obtener 100 ml. Transferir 10 ml de esta solución a un tubo de Nessler y agregar 0,25 ml de una solución de almidón preparada del mismo modo que el almidón (SR) pero omitiendo el agregado de ioduro mercuríco rojo [NOTA: preparar la solución de almidón en el momento de su uso] y 0,2 ml de ácido sulfúrico diluido. Dejar reposar al resguardo de la luz durante 2 minutos: no se debe desarrollar color azul.

Nitrato, nitrito y amoníaco

A una solución de 1 g de Ioduro de Potasio diluida en 5 ml de agua contenida en un tubo de ensayo con una capacidad aproximada de 40 ml, agregar 5 ml de hidróxido de sodio 1 N y aproximadamente 200 mg de alambre de aluminio. Insertar una torunda de algodón purificado en la parte superior del tubo de ensayo y colocar una pieza de papel de tornasol rojo humedecido sobre la boca del tubo. Calentar el tubo de ensayo en un

baño de vapor durante 15 minutos: el papel de tornasol no debe adquirir color azul.

Tiosulfato

Disolver 10 g de Ioduro de Potasio en cantidad suficiente de agua libre de dióxido de carbono para obtener 100 ml. Agregar 0,1 ml de almidón (SR) y 0,1 ml de una solución de iodo 0,005 M: se debe desarrollar color azul.

Límite de metales pesados <590>

Disolver 2,0 g de Ioduro de Potasio en 25 ml de agua: el límite es 0,001 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Ioduro de Potasio y disolver en aproximadamente 10 ml de agua. Agregar 35 ml de ácido clorhídrico y titular con iodato de potasio 0,05 M (SV) hasta que la solución de color marrón oscuro que se produce se torne marrón claro. Agregar 2 ó 3 gotas de amaranto (SR) y continuar lentamente con la titulación hasta que el color rojo vire a amarillo. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de iodato de potasio 0,05 M equivale a 16,60 mg de ioduro de potasio.

POTASIO, PERMANGANATO DE

KMnO₄ PM: 158,03 7722-64-7

Definición - Permanganato de Potasio debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de KMnO₄, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales púrpura oscuro, casi opacos por transmisión de la luz y que por reflexión de la luz da un brillo azul metálico. Estable al aire. Fácilmente soluble en agua a ebullición; soluble en agua.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

Precaución - Manipular el Permanganato de Potasio con sumo cuidado, ya que se pueden producir explosiones peligrosas si entra en contacto con sustancias orgánicas o fácilmente oxidables, ya sea en solución o en estado sólido.

ENSAYOS

Identificación

Una solución concentrada de Permanganato de Potasio debe ser color violeta rojizo intenso y color rosado cuando es una solución diluida; además debe responder a los ensayos para *Permanganato* <410>.

Pérdida por secado <680>

Secar sobre gel de sílice durante 18 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Sustancias insolubles

Disolver 2,0 g de Permanganato de Potasio en 150 ml de agua, previamente calentada en un baño de vapor y filtrar de inmediato a través de un crisol filtrante, previamente pesado, de porosidad media. Lavar el filtro con tres porciones de 50 ml de agua caliente. Secar el crisol y el residuo a 105 °C durante 3 horas: no se debe obtener más de 4 mg de residuo (0,2 %).

VALORACIÓN

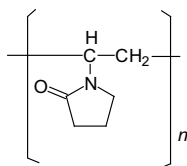
Pesar exactamente alrededor de 1.000 mg de Permanganato de Potasio y transferir a un erlenmeyer de 500 ml. Por cada mg de Permanganato de Potasio en ensayo, agregar 2,13 mg de oxalato de sodio exactamente pesado y previamente secado a 110 °C hasta peso constante. Agregar 150 ml de agua y 20 ml de ácido sulfúrico 7 N, calentar aproximadamente a 80 °C y titular el ácido oxálico en exceso con Permanganato de Potasio 0,03 N (SV). Calcular la cantidad en mg de

KMnO₄ en la porción de Permanganato de Potasio en ensayo por la fórmula siguiente:

$$0,4718P_E - 0,9482V$$

en la cual 0,4718 es el equivalente en mg de KMnO₄ por cada mg de oxalato de sodio, P_E es el peso en mg de oxalato de sodio empleado, 0,9482 es la cantidad en mg de KMnO₄ en cada ml de Permanganato de Potasio 0,03 N y V es el volumen en ml de permanganato de Potasio 0,03 N consumido.

POVIDONA



$(C_6H_9NO)_n$

9003-39-8

Definición - Povidona es un polímero sintético lineal que se obtiene por polimerización de 1-vinil-2-pirrolidinona y su grado de polimerización puede producir polímeros de diversos pesos moleculares. Las diferentes clases de Povidona se caracterizan por su viscosidad en soluciones acuosas, con respecto a la del agua, expresada como valor *K*. El valor *K* de Povidona, cuyo valor declarado es 15 o menor, debe ser no menos de 85,0 por ciento y no más de 115,0 por ciento del valor declarado. El valor *K* de Povidona, cuyo valor declarado o el promedio del intervalo declarado es más de 15, debe ser no menos de 90,0 por ciento ni más de 108,0 por ciento del valor declarado o del promedio del intervalo declarado. Povidona debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco a blanco amarillento. Higroscópico. Fácilmente soluble en agua, alcohol y metanol; poco soluble en acetona; prácticamente insoluble en éter.

CONSERVACIÓN

En envases herméticos.

Identificación

A - A 10 ml de una solución de Povidona (1 en 50), agregar 20 ml de ácido clorhídrico 1 N y 5 ml de dicromato de potasio (SR): se debe formar un precipitado amarillo anaranjado.

B - Disolver 75 mg de nitrato de cobalto y 300 mg de tiocianato de amonio en 2 ml de agua. A esta solución, agregar 5 ml de una solución de Povidona (1 en 50) y acidificar la solución obtenida mediante el agregado de ácido clorhídrico 3 N: se debe formar un precipitado azul pálido.

C - A 5 ml de una solución de Povidona (1 en 200) agregar unas gotas de yodo (SR): se debe producir un color rojo intenso.

Determinación del pH <250>

Debe estar comprendido entre 3,0 y 7,0; determinado en una solución de Povidona 1 en 20.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 5,0 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más del 0,1 %.

Límite de plomo <600>

Disolver 1,0 g de Povidona en 25 ml de agua: el límite es 10 ppm.

Límite de aldehídos

Solución reguladora de fosfato - Transferir 8,3 g de pirofosfato de potasio a un matraz aforado de 500 ml y disolver en 400 ml de agua. Ajustar el pH, si fuera necesario, con ácido clorhídrico 1 N hasta 9,0; completar a volumen con agua y mezclar.

Solución de aldehído deshidrogenasa - Transferir a un recipiente apropiado de vidrio, una cantidad de aldehído deshidrogenasa liofilizada equivalente a 70 unidades, disolver en 10 ml de agua y mezclar. [NOTA: esta solución es estable durante 8 horas a una temperatura de 4 °C].

Solución de NAD - Transferir 40 mg de nicotinamida adenina dinucleótido a un recipiente apropiado de vidrio, disolver en 10 ml de *Solución reguladora de fosfato* y mezclar. [NOTA: esta solución es estable durante 4 semanas a una temperatura de 4 °C].

Solución estándar - Agregar alrededor de 2 ml de agua a un pesafiltro de vidrio y pesar con exactitud. Agregar alrededor de 100 mg (aproximadamente 0,13 ml) de acetaldehído recientemente destilado y pesar con exactitud. Transferir esta solución a un matraz aforado de 100 ml, enjuagar el pesafiltro con varias porciones de agua, reuniéndolas en el matraz aforado, completar a volumen con agua y mezclar. Almacenar a 4 °C durante unas 20 horas. Tomar una alícuota de 1 ml de esta solución, transferirla a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 2 g de Povidona, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver con 50 ml de *Solución reguladora de fosfato*, completar a volumen con *Solución reguladora de fosfato* y mezclar. Tapar el matraz, calentar a 60 °C durante 1 hora y enfriar a temperatura ambiente.

Procedimiento - Transferir 0,5 ml de *Solución estándar*, *Solución muestra* y agua a sendas celdas de 1 cm. Agregar 2,5 ml de *Solución reguladora de fosfato* y 0,2 ml de *Solución de NAD* a cada una de las celdas. Tapar las celdas, mezclar por inversión y dejar reposar de 2 a 3 minutos a una temperatura de 22 ± 2 °C. Determinar las absorbancias de las soluciones a 340 nm, empleando agua como referencia. Agregar 0,05 ml de *Solución de aldehído deshidrogenasa* a cada celda. Tapar las celdas, mezclar por inversión y dejar reposar durante 5 minutos a una temperatura de 22 ± 2 °C. Determinar las absorbancias de las soluciones 340 nm, empleando agua como referencia. Calcular la cantidad en porcentaje de aldehídos, expresado como acetaldehído, en la por-

ción de Povidona en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$\frac{100000C}{P} \left[\frac{(A_{M2} - A_{M1}) - (A_{B2} - A_{B1})}{(A_{E2} - A_{E1}) - (A_{B2} - A_{B1})} \right]$$

en la cual C es la concentración, en mg por ml, de acetaldehído en la *Solución estándar*; P es el peso, en g, de Povidona tomada; A_{M1} , A_{E1} y A_{B1} son las absorbancias medidas de la *Solución muestra*, de la *Solución estándar* y del blanco, respectivamente, antes de agregar la *Solución de aldehído deshidrogenasa*; A_{M2} , A_{E2} y A_{B2} son las absorbancias medidas de la *Solución muestra*, de la *Solución estándar* y del blanco, respectivamente, después de agregar la *Solución de aldehído deshidrogenasa*. Debe contener no más de 500 ppm.

Límite de hidracina

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice dimetilsilanizada.

Fase móvil - Metanol y agua (2:1).

Solución muestra - Transferir 2,5 g de Povidona a un tubo de centrifuga de 50 ml, agregar 25 ml de agua y mezclar hasta disolver. Agregar 500 μ l de una solución de salicilaldehído al 0,5 % en metanol, agitar y calentar en un baño de agua a 60 °C durante 15 minutos. Dejar enfriar, agregar 2,0 ml de tolueno, tapar, agitar vigorosamente durante 2 minutos y centrifugar. Emplear la fase transparente superior de tolueno como solución muestra.

Solución estándar - Preparar una solución de salicilaldazina en tolueno que contenga 9,38 μ g por ml.

Procedimiento - Aplicar 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de la *Solución estándar* sobre la placa cromatográfica. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Examinar la placa con luz ultravioleta a 365 nm: la salicilaldazina aparece como una mancha fluorescente con un valor de R_f de aproximadamente 0,3. La fluorescencia de la mancha de salicilaldazina obtenida con la *Solución muestra* no debe ser más intensa que la obtenida a partir de la *Solución estándar* (1 ppm de hidracina).

Vinilpirrolidinona

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 235 nm, un guardacolumna de 3 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas de sílice totalmente porosas y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano quí-

micamente unido a partículas de sílice totalmente porosas de 5 μ m. Mantener la temperatura de la columna a 40 °C y ajustar el caudal de modo que el tiempo de retención de la vinilpirrolidinona sea aproximadamente 10 minutos.

Fase móvil - Agua y metanol (80:20).

Solución de aptitud del sistema - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de vinilpirrolidinona y 500 mg de acetato de vinilo, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver con metanol y completar a volumen con el mismo solvente. Transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de vinilpirrolidinona, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver con metanol y completar a volumen con el mismo solvente. Transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con metanol y mezclar. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Povidona, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución R entre los picos de vinilpirrolidinona y acetato de vinilo no debe ser menor de 2,0. Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar los cromatogramas según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 μ l) de *Solución estándar* y de *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos de vinilpirrolidinona. [NOTA: si fuera necesario, después de cada inyección de *Solución muestra*, lavar el material polimérico de Povidona del guardacolumna con *Fase móvil* en sentido contrario a través de la columna durante aproximadamente 30 minutos.] Calcular la cantidad en porcentaje de vinilpirrolidinona en la porción de Povidona en ensayo por la fórmula siguiente:

$$1.000(C/P)(r_M/r_E)$$

en la cual C es la concentración, en mg por ml, de vinilpirrolidinona en la *Solución estándar*; P es el peso, en mg, de Povidona tomado y r_M y r_E son las respuestas de los picos de vinilpirrolidinona obtenidos a partir de la *Solución muestra* y de la *Solución estándar*, respectivamente. Debe contener no más de 0,001 %.

Valor *K*

Pesar con exactitud una cantidad de Povidona equivalente a los pesos de povidona anhidra según la tabla siguiente:

Valor <i>K</i> nominal	g
≤ 18	5,00
18 ≤ 95	1,00
> 95	0,10

Transferir la cantidad correspondiente a un matraz aforado de 100 ml, disolver en 50 ml de agua, completar a volumen y mezclar. Dejar reposar durante 1 hora y determinar la viscosidad de esta solución empleando un viscosímetro de tubo capilar (ver 190. *Determinación de la viscosidad*) a $25 \pm 0,2$ °C. Calcular el valor *K* de Povidona, por la fórmula siguiente:

$$\frac{\sqrt{300c \log z + (c + 1,5c \log z)^2} + 1,5c \log z - c}{\sqrt[3]{15c + 0,003c^2}}$$

en la cual *c* es el peso de Povidona en g calculado sobre la sustancia anhidra, por cada 100 ml de solución, y *z* es la viscosidad de la solución con respecto a la del agua.

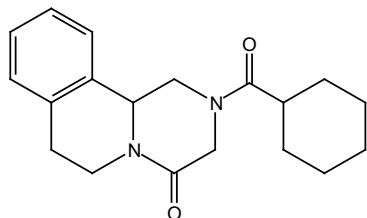
Determinación de nitrógeno <200>

Método II. Proceder según se indica en *Procedimiento* pero emplear exactamente alrededor de 0,1 g de Povidona y omitir el uso de peróxido de hidrógeno, usando 5 g de una mezcla pulverizada de sulfato de potasio, sulfato cúprico y dióxido de titanio (33:1:1), en lugar de sulfato de potasio y sulfato cúprico (10:1). Calentar hasta obtener una solución traslúcida de color verde claro y luego continuar el calentamiento durante 45 minutos. El contenido de nitrógeno, con respecto a la sustancia anhidra, no debe ser menor de 11,5 % y no debe ser mayor de 12,8 %.

ROTULADO

Indicar en el rótulo el valor *K* o intervalo de valores *K* de Povidona.

PRAZICUANTEL



$C_{19}H_{24}N_2O_2$ PM: 312, 4 55268-74-1

Definición - Prazicuantel es 2-(Ciclohexilcarbonyl)-1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4H-pirazino[2,1-a]isoquinolin-4-ona. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{19}H_{24}N_2O_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en alcohol y cloroformo; muy poco soluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancias de referencia - Prazicuantel SR-FA. Impureza A de Prazicuantel SR-FA: 2-benzoyl-1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4H-pirazino[2,1-a]isoquinolin-4-ona. Impureza B de Prazicuantel SR-FA: 2-(ciclohexilcarbonyl)-2,3,6,7-tetrahidro-4H-pirazino[2,1-a]isoquinolin-4-ona. Impureza C de Prazicuantel SR-FA: 2-(N-formilhexahidropuroil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-1-ona.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 136 y 142 °C.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a una presión que no exceda los 5 mm Hg, a 50 °C sobre pentóxido de fósforo durante 2 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Límite de fosfato

Solución de sulfato cúprico - Disolver 250 mg de sulfato cúprico y 4,5 g de acetato de amonio en ácido acético 2 N para obtener 100 ml de solución.

Solución de ácido 4-amino-3-hidroxi-1-naftalenosulfónico - [NOTA: emplear esta solución en el día de su preparación]. Triturar en un mortero 5 g de sulfito de sodio, 94,3 g de metabisulfito de sodio y 700 mg de ácido 4-amino-3-hidroxi-1-naftalenosulfónico. Disolver 1,5 g de esta mezcla en 10 ml de agua, calentando suavemente si fuera necesario.

Solución estándar - Disolver 143,3 mg de fosfato monobásico de potasio seco en agua para obtener 1 litro. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Esta solución contiene el equivalente a 5 µg de fosfato en cada ml.

Solución muestra - A 500 mg de Prazicuantel agregar 30 ml de agua y calentar a ebullición. Dejar enfriar y filtrar, recolectando el filtrado en un matraz aforado de 50 ml. Lavar el filtro con agua, recolectando los lavados en el mismo matraz, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Tratar 10 ml de *Solución muestra* y 10 ml de *Solución estándar* del siguiente modo. Agregar 5 ml de *Solución de sulfato cúprico*, 2 ml de solución de molibdato de amonio (3 en 100), 1 ml de *Solución de ácido 4-amino-3-hidroxi-1-naftalenosulfónico* y 1 ml de solución de ácido perclórico (3 en 100), mezclar y dejar reposar durante 15 minutos: la *Solución muestra* no debe presentar coloración azul más oscura que la *Solución estándar* (0,05 %).

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Disolver cantidades exactamente pesadas de Impureza A, Impureza B e Impureza C de Prazicuantel SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución con concentraciones de 0,04 mg de cada una por ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Prazicuantel, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver en *Fase móvil*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,8 para impureza A, 1,0 para prazicuantel, 1,8 para impureza B y 2,1 para impureza C. Calcular los porcentajes de Impureza A, Impureza B e Impureza C de Prazicuantel en la porción de Prazicuantel en ensa-

yo, a partir de las respuestas de los picos de la sustancia relacionada correspondiente obtenidas con la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. No debe contener más de 0,2 % de cada impureza individual.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 210 nm y una columna de 25 cm × 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo y agua (60:40). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

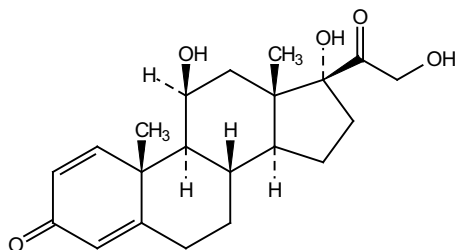
Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Prazicuantel SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,18 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 36 mg de Prazicuantel, transferir a un matraz aforado de 20 ml, disolver y completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría para el pico de prazicuantel no debe ser mayor de 1,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₁₉H₂₄N₂O₂ en la porción de Prazicuantel en ensayo.

PREDNISOLONA



C ₂₁ H ₂₈ O ₅	PM: 360,5	50-24-8
Sesquihidrato	PM: 387,5	52438-85-4

Definición - Prednisolona es (11 β)-11,17,21-Trihidroxipregna-1,4-dieno-3,20-diona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de C₂₁H₂₈O₅, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Funde aproximadamente a 235 °C, con descomposición. Soluble en metanol y dioxano; moderadamente soluble en acetona y alcohol; poco soluble en cloroformo; muy poco soluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Prednisolona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. [NOTA: si aparecen diferencias en los espectros, disolver porciones de la muestra y de la *Sustancia de referencia* en acetato de etilo, evaporar las soluciones hasta sequedad y repetir el ensayo con los residuos.]

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: metanol.

Concentración: 10 μ g por ml.

Las absorbancias a 242 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 2,5 %.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +97° y +103°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en dioxano.

Límite de selenio <610>

No más de 0,003 %, determinado sobre 200 mg.

Impurezas comunes <510>

Solución muestra y *Solución estándar*: emplear una mezcla de alcohol y agua (1:1) como solvente.

Fase móvil: tolueno y alcohol isopropílico (70:30), en una cámara no equilibrada.

Revelador: 1.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 105 °C durante 3 horas: la forma anhidra no debe perder más de 1,0 % y la forma hidratada no más de 7,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

Inapreciable, determinado sobre 100 mg.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm \times 4 mm con fase estacionaria constituida por partículas porosas de sílice de 5 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Cloruro de *n*-butilo, cloruro de *n*-butilo saturado con agua, tetrahidrofurano, metanol y ácido acético glacial (95:95:14:7:6). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución del estándar interno - Preparar una solución de *Betametasona* en tetrahidrofurano con una concentración de 5 mg por ml. Diluir esta solución con cloroformo saturado con agua y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg por ml.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Prednisolona SR-FA, disolver en 20,0 ml de *Solución del estándar interno*. Diluir con cloroformo saturado con agua a 100,0 ml y mezclar.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Prednisolona, disolver en 20,0 ml de *Solución del estándar interno*, diluir con cloroformo saturado con agua a 100,0 ml y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,7 para betametasona y 1,0 para prednisolona; la resolución *R* entre los picos de prednisolona y betametasona no debe ser menor de 3,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

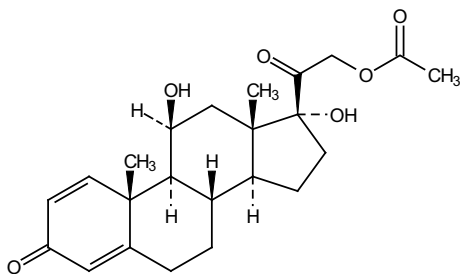
Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo, volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la

cantidad de $C_{21}H_{28}O_5$ en la porción de Prednisolona en ensayo, relacionando las respuestas de los picos de prednisolona y del estándar interno obtenidas en la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si la Prednisolona es anhidra o hidratada.

PREDNISOLONA, ACETATO DE



C₂₃H₃₀O₆

PM: 402,5

52-21-1

Definición - Acetato de Prednisolona es (11 β)-11,17-dihidroxi-pregna-21-(acetiloxi)-1,4-dieno-3,20-diona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de C₂₃H₃₀O₆, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Funde aproximadamente a 235 °C, con descomposición. Poco soluble en acetona, alcohol y cloroformo; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Acetato de Prednisolona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: metanol.

Concentración: 10 μ g por ml.

Las absorptividades a 242 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 2,5 %.

C - A aproximadamente 50 mg de Acetato de Prednisolona, contenidos en un tubo de ensayo, agregar 2 ml de alcohol y 2 ml de ácido sulfúrico diluido 1 en 3,5. Calentar suavemente a ebullición durante aproximadamente 1 minuto: se debe percibir olor a acetato de etilo.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +112° y +119°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en dioxano.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por partículas porosas de sílice de 5 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Mezclar 350 ml de acetonitrilo y 600 ml de agua en un matraz aforado de 1 litro. Completar a volumen con agua y mezclar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Acetato de Prednisolona, disolver en 10 ml de metanol y mezclar.

Solución estándar - Diluir 1 ml de la *Solución muestra* a 100 ml con *Fase móvil*.

Solución de resolución - Disolver 2 mg de Acetato de Prednisolona SR-FA y 2 mg de *Acetato de Hidrocortisona* en *Fase móvil* y diluir a 100 ml con el mismo solvente.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de acetato de prednisolona y acetato de hidrocortisona no debe ser menor de 2,5.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, registrar los cromatogramas durante 2,5 veces el tiempo de retención del pico principal de la *Solución muestra* y medir las respuestas de todos los picos. A excepción del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ningún pico debe tener una respuesta mayor que la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (1 %); no más de un pico debe ser mayor que la mitad del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (0,5 %); y a excepción del pico principal, la suma de todos los picos no debe ser mayor que dos veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar*. Descartar el pico correspondiente al solvente y cualquier pico con una respuesta menor a 0,05 % del pico principal de la *Solución estándar*.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico y Fase móvil - Proceder según se indica en *Valoración* en *Prednisolona*.

Solución del estándar interno - Preparar una solución de *Betametasona* en tetrahydrofurano de aproximadamente 10 mg por ml. Diluir esta solución con cloroformo saturado con agua y mezclar

para obtener una solución de aproximadamente 1 mg de betametasona por ml.

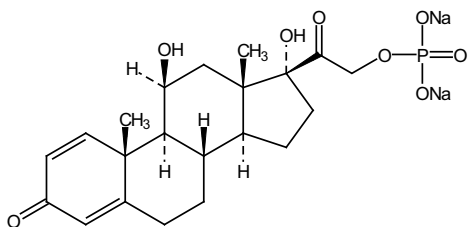
Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Acetato de Prednisolona SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml y agregar 20,0 ml de *Solución del estándar interno*. Disolver, sonicando si fuera necesario, completar a volumen con cloroformo saturado con agua y mezclar. Diluir 5 ml de esta solución a 20,0 ml con cloroformo saturado con agua para obtener una solución de aproximadamente 25 µg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Acetato de Prednisolona, transferir a un matraz aforado de 100 ml y agregar 20,0 ml de *Solución del estándar interno*. Disolver, sonicando si fuera necesario, completar a volumen con cloroformo saturado con agua y mezclar. Diluir 5 ml de esta solución a 20,0 ml con cloroformo saturado con agua.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 1,6 para betametasona y 1,0 para acetato de prednisolona; la resolución *R* entre los picos de acetato de prednisolona y betametasona no debe ser menor de 3,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad en $C_{23}H_{30}O_6$ en la porción de Acetato de Prednisolona en ensayo, relacionando las respuestas de los picos de acetato de Prednisolona y del estándar interno obtenidas en la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*.

PREDNISOLONA, FOSFATO SÓDICO DE



$C_{21}H_{27}Na_2O_8P$

PM: 484,4

125-02-0

Definición - Fosfato Sódico de Prednisolona es 21-Fosfato disódico de 11 β ,17,21-trihidroxipregna-1,4-dieno-3,20-diona. Debe contener no menos de 96,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_{21}H_{27}Na_2O_8P$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Gránulos friables o polvo blanco o amarillento. Levemente higroscópico. Fácilmente soluble en agua; soluble en metanol; poco soluble en alcohol y cloroformo; muy poco soluble en acetona y dioxano.

Presenta polimorfismo.

Sustancias de referencia - Prednisolona SR-FA. Fosfato Sódico de Prednisolona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. [NOTA: si los espectros obtenidos presentan diferencias, disolver la muestra y la *Sustancia de referencia* en un mínimo volumen de alcohol, evaporar a sequedad en un baño de agua y registrar nuevamente los espectros empleando los residuos obtenidos.]

B - El residuo de ignición de aproximadamente 20 mg debe responder a los ensayos para *Sodio* <410> y para *Fosfato* <410>.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre + 95° y + 102°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en una mezcla de solución reguladora de fosfato de pH 7,0 y agua libre de dióxido de carbono (9:1).

Determinación del pH <250>

Entre 7,5 y 10,5; determinado sobre una solución al 1 %.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 6,5 %.

Fosfato

Solución estándar de fosfato - Disolver 143,3 mg de fosfato monobásico de potasio seco, KH_2PO_4 , en agua para obtener 1 litro. Esta solución contiene aproximadamente 0,10 mg de fosfato (PO_4) por ml.

Reactivo para fosfato A - Disolver 5 g de molibdato de amonio en ácido sulfúrico 1 N para obtener 100 ml.

Reactivo para fosfato B - Disolver 350 mg de sulfato de *p*-metilaminofenol en 50 ml de agua, agregar 20 g de bisulfito de sodio, mezclar y diluir con agua a 100 ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Fosfato Sódico de Prednisolona, transferir a un matraz aforado de 25 ml, agregar 10 ml de agua y 5 ml de ácido sulfúrico 2 N, mezclar hasta disolución calentando si fuera necesario. Agregar 1 ml de *Reactivo para fosfato A* y 1 ml de *Reactivo para fosfato B*, completar a volumen con agua, mezclar y dejar reposar a temperatura ambiente durante 30 minutos.

Solución estándar - Transferir 5,0 ml de *Solución estándar de fosfato* a un matraz aforado de 25 ml. Proceder según se indica en *Solución muestra* comenzando donde dice "agregar 10 ml de agua y 5 ml...".

Procedimiento - Determinar concomitantemente las absorbancias de la *Solución muestra* y la *Solución estándar* en celdas de 1 cm, a 730 nm, con un espectrofotómetro, empleando agua como blanco. La absorbancia de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la de la *Solución estándar*. No debe contener más de 1,0 % de fosfato (PO_4).

Límite de Selenio <610>

No más de 0,003 %; determinado sobre 200 mg.

Prednisolona libre

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 50,0 mg de Fosfato Sódico de Prednisolona, transferir a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 5 ml de esta solución a un tubo de 50 ml con tapón de vidrio, agregar 25,0 ml de cloruro de metileno, tapar, mezclar agitando suavemente y dejar reposar hasta que la fase de cloruro de metileno sea transparente (aproximadamente 20 minutos).

Solución estándar - Disolver una a cantidad exactamente pesada de Prednisolona SR-FA en cloruro de metileno y diluir cuantitativamente con cloruro de metileno para obtener una solución de

aproximadamente 16 µg de Prednisolona SR-FA por ml.

Procedimiento - Determinar concomitantemente las absorbancias de la *Solución muestra* y la *Solución estándar* en celdas de 1 cm, a 241 nm, con un espectrofotómetro, empleando cloruro de metileno como blanco. Calcular la cantidad en mg de prednisolona libre en la porción de Fosfato Sódico de Prednisolona en ensayo: no debe contener más de 0,5 mg (1,0 %).

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 15 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Transferir 1,360 g de fosfato monobásico de potasio y 0,600 g de hexilamina a un erlenmeyer de 250 ml, mezclar, dejar en reposo durante 10 minutos y luego disolver en 185 ml de agua. Agregar 65 ml de acetonitrilo y mezclar. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Disolver 62,5 mg de Fosfato Sódico de Prednisolona en *Fase móvil* y diluir a 25 ml con *Fase móvil*.

Solución estándar - Diluir 1 ml de *Solución muestra* a 50 ml con *Fase móvil*.

Solución de Resolución - Disolver 25 mg de Fosfato Sódico de Prednisolona SR-FA y 25 mg de Prednisolona SR-FA en *Fase móvil* y diluir a 25 ml con *Fase móvil*. Diluir 1 ml de esta solución a 25 ml con *Fase móvil*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de Resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de fosfato sódico de prednisolona y prednisolona no debe ser menor de 4,5.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas durante tres veces el tiempo de retención del pico principal y medir las respuestas de todos los picos. A excepción del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta de ningún pico debe ser mayor que la del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (2,0 %) y no más de uno de estos picos debe presentar una respuesta mayor a la mitad del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (1,0 %); la suma de las respuestas de todos los picos, a excepción del pico principal, no debe ser

mayor que 1,5 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (3,0 %). Descartar cualquier pico debido al solvente o con una respuesta menor de 0,025 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar*.

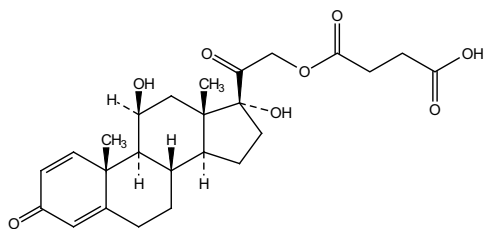
VALORACIÓN

Preparación muestra - Pesarse exactamente alrededor de 100 mg de Fosfato Sódico de Prednisolona, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a volumen con agua. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 250 ml y completar a volumen con agua.

Preparación estándar - Proceder del mismo modo que con la *Preparación muestra*, pero empleando Fosfato Sódico de Prednisolona SR-FA.

Procedimiento - Determinar la absorbancia de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 247 nm, con un espectrofotómetro y calcular el contenido $C_{21}H_{27}Na_2O_8P$ en la porción de Fosfato Sódico de Prednisolona en ensayo.

PREDNISOLONA, HEMISUCCINATO DE



$C_{25}H_{32}O_8$ PM: 460,5 2920-86-7

Definición - Hemisuccinato de Prednisolona es (11 β)-21-(3-Carboxi-1-oxopropoxi)-11,17-dihidroxi-pregna-1,4-dieno-3,20-diona. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{25}H_{32}O_8$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo fino, casi blanco con terrones friables. Funde aproximadamente a 205 °C, con descomposición. Fácilmente soluble en alcohol; soluble en acetona; muy poco soluble en agua.

Sustancia de referencia - Hemisuccinato de Prednisolona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: metanol.

Concentración: 20 μ g por ml.

Las absorbividades a 243 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre + 99° y + 104°.

Solución muestra: 6,7 mg por ml, en dioxano.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 65 °C durante 3 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

Inapreciable; determinado sobre 100 mg.

VALORACIÓN

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromato-*

grafía) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor, previamente activada por calentamiento a 105 °C durante 1 hora.

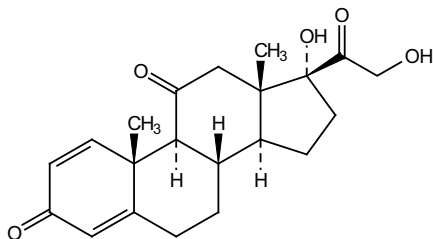
Fase móvil - Alcohol butílico, ácido acético y agua (5:4:1).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Hemisuccinato de Prednisolona SR-FA en una mezcla de alcohol y cloroformo (50:50) para obtener una solución de aproximadamente 8 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 80 mg de Hemisuccinato de Prednisolona previamente secados, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver y completar a volumen con una mezcla de alcohol y cloroformo (50:50).

Procedimiento - Proceder según se indica para *Procedimiento en Valoración de un esteroide aislado previamente en <750>*. *Valoración de esteroides*, finalizando donde dice: “*Centrifugar durante 5 minutos,*” excepto que se deben aplicar 50 μ l en lugar de 200 μ l de las soluciones sobre la placa. Determinar en sucesión inmediata las absorbancias de las soluciones en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 243 nm, con un espectrofotómetro, contra el blanco. Calcular la cantidad de $C_{25}H_{32}O_8$ en la porción de Hemisuccinato de Prednisolona en ensayo.

PREDNISONA



$C_{21}H_{26}O_5$ PM: 358,4 53-03-2
Monohidrato PM: 376,5

Definición - Prednisona es 17,21-Dihidroxi-pregna-1,4-dieno-3,11,20-triona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{21}H_{26}O_5$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco, inodoro. Funde aproximadamente a 230 °C, con descomposición. Poco soluble en alcohol, cloroformo, dioxano y metanol; muy poco soluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Prednisona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción Infrarroja <460>. *En fase sólida.* [NOTA: si aparecen diferencias, disolver porciones de la muestra y la *Sustancia de referencia* en metanol, evaporar las soluciones hasta sequedad y repetir el ensayo.]

B - Disolver aproximadamente 6 mg de Prednisona en 2 ml de ácido sulfúrico y dejar reposar durante 5 minutos: se debe producir un color anaranjado. Verter esta solución en 10 ml de agua: el color debe cambiar primero a amarillo y luego gradualmente a verde azulado.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +167° y +175°.

Solución muestra: 5 mg por ml, en dioxano.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 1,0 % para la forma anhidra y no más de 5,0 % para el monohidrato.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,0 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1 ml por minuto.

Fase móvil - Cloroformo y metanol (98:2). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Prednisona y transferir a un matraz aforado de 20 ml. Disolver en *Fase móvil*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución muestra* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 5 µl de la *Solución muestra*, registrar el cromatograma y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza individual en la porción de Prednisona en ensayo, en relación a las respuestas de todos los picos. No debe contener más de 1,5 % de cualquier impureza individual y no más de 2,0 % de impurezas totales.

Determinación del residuo de ignición <270>

Inapreciable; determinado sobre 100 mg.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, tetrahidrofurano libre de peróxido y metanol (688:250:62). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Metanol diluido 1 en 2.

Solución del estándar interno - Preparar una solución de acetanilida en *Diluyente* de aproximadamente 110 µg por ml.

Preparación estándar - [NOTA: preparar esta solución en el momento de su uso]. Preparar una solución de Prednisona SR-FA en *Diluyente* de aproximadamente 0,2 mg por ml. Transferir 5,0 ml de esta solución y 5,0 ml de *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 50 ml, completar a

volumen con *Diluyente* y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 20 µg de Prednisona por ml.

Preparación muestra - [NOTA: preparar esta solución en el momento de su uso]. Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Prednisona, transferir a un matraz aforado de 250 ml y disolver en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,2 mg por ml. Transferir 5,0 ml de esta solución y 5,0 ml de *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 20 µg de Prednisona por ml.

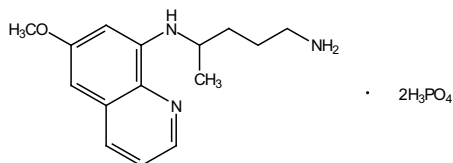
Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre prednisona y acetanilida no debe ser menor de 3; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₂₁H₂₆O₅ en la porción de Prednisona en ensayo, relacionando las respuestas de los picos de prednisona y del estándar interno obtenidas con la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si la Prednisolona es anhidra o monohidrato.

PRIMAQUINA, FOSFATO DE



$\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O} \cdot 2\text{H}_3\text{PO}_4$ PM: 455,3 63-45-6

Definición - Fosfato de Primaquina es Fosfato de (\pm)-*N*^d-(6-metoxi-8-quinolinil)-1,4-pentanodiamina. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,5 por ciento de $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O} \cdot 2\text{H}_3\text{PO}_4$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino rojo anaranjado, inodoro. Sus soluciones son ácidas frente al tornasol. Funde aproximadamente a 200 °C. Soluble en agua; insoluble en cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Fosfato de Primaquina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*.

B - El residuo obtenido por ignición debe responder al ensayo para *Pirofosfato* según se indica en *Fosfato* <410>.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 261 nm y una columna de 20 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por gel de sílice para cromatografía de 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 3,0 ml por minuto.

Fase móvil - Hexano, cloruro de metileno, metanol y amoníaco concentrado (45:45:10:0,1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Fosfato de Primaquina, transferir a un matraz aforado de 5 ml, disolver con agua, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. A 1 ml de esta solución agregar 0,2 ml de amoníaco

concentrado y agitar con 10 ml de *Fase móvil*. Emplear la fase inferior transparente.

Solución estándar A - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Fosfato de Primaquina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 5 ml, disolver con agua, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. A 1 ml de esta solución agregar 0,2 ml de amoníaco concentrado y agitar con 10 ml de *Fase móvil*. Emplear la fase inferior transparente.

Solución estándar B - Transferir 3,0 ml de *Solución muestra* a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Solución estándar C - Transferir 1,0 ml de *Solución muestra* a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con *Fase móvil*. Transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar A* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el ensayo sólo es válido si el cromatograma obtenido presenta, inmediatamente antes del pico principal, un pico cuya respuesta sea aproximadamente 6 % de la respuesta del pico principal; la resolución *R* entre estos dos picos no debe ser menor de 2,0. Cromatografiar la *Solución estándar C* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la relación señal-ruido para el pico principal no debe ser menor de 5.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μl) de la *Solución muestra* y las *Soluciones estándar B* y *C*, continuar la cromatografía durante al menos dos veces el tiempo de retención del pico principal, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. A excepción del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la suma de las respuestas de todos los picos, no debe ser mayor que la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar B* (3,0 %). Ignorar el pico obtenido debido al solvente y cualquier pico cuya respuesta sea inferior a la del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar C*.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

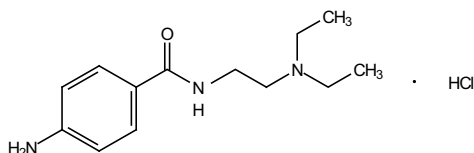
Método I.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Fosfato de Primaquina, disolver en 40 ml de ácido acético anhidro, calentando suavemente. Dejar enfriar y titular con ácido perclórico 0,1 M (SV),

determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 M equivale a 22,77 mg de $C_{15}H_{21}N_3O \cdot 2H_3PO_4$.

PROCAINAMIDA, CLORHIDRATO DE



$C_{13}H_{21}N_3O \cdot HCl$ PM: 271,8 614-39-1

Definición - Clorhidrato de Procainamida es Monoclorhidrato de 4-amino-*N*-[2-(dietilamino)etil]-benzamida. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{13}H_{21}N_3O \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o ligeramente amarillo. Sus soluciones 1 en 10 poseen un pH entre 5 y 6,5. Muy soluble en agua; soluble en alcohol; poco soluble en cloroformo; muy poco soluble en benceno y en éter.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Procainamida SR-FA. Ácido Aminobenzoico SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol e hidróxido de amonio (70:30:0,7).

Solución estándar - Preparar una solución de Clorhidrato de Procainamida SR-FA en metanol de aproximadamente 0,2 mg por ml.

Solución muestra - Preparar una solución de Clorhidrato de Procainamida en metanol de aproximadamente 0,2 mg por ml.

Revelador - Solución de fluorescamina en acetona 1 en 2.000.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 20 μ l de la *Solución muestra* y 20 μ l de la *Solución estándar*. Secar las aplicaciones bajo una corriente de nitrógeno y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de

la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm. Pulverizar la placa con *Revelador* y examinar a 366 nm: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar al obtenido con la *Solución estándar*.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 165 y 169 °C.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 0,3 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Límite de ácido *p*-aminobenzoico libre

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Solución de resolución - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Pesar exactamente una cantidad de Ácido Aminobenzoico SR-FA y disolver en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,25 μ g por ml.

Solución muestra - Transferir 25 ml de la *Preparación estándar* empleada en *Valoración* a un matraz aforado de 50 ml. Completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 0,25 mg por ml.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría para el pico de ácido *p*-aminobenzoico no debe ser mayor de 2,0. Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 3,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el porcentaje de ácido *p*-aminobenzoico en la porción de Clorhidrato de Procainamida en ensayo, relacionando las respuestas de los picos del ácido *p*-aminobenzoico obtenidas con la *Solución muestra* y la *Solución estándar*.

Impurezas comunes <510>

Solución estándar y Solución muestra: emplear metanol como solvente.

Fase estacionaria: gel de sílice para cromatografía.

Fase móvil: cloroformo, metanol e hidróxido de

amonio (70:30:0,7).

Revelador: 1, luego pulverizar sobre la placa con una solución 1 en 2.000 de fluorescamina en acetona y examinar bajo luz ultravioleta a 366 nm.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, metanol y trietilamina (140:60:1), ajustar a pH 7,5 ± 0,1 con ácido fosfórico. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad de Clorhidrato de Procainamida SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg por ml.

Preparación estándar - Diluir cuantitativamente un volumen exactamente medido de la *Solución madre del estándar* con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,05 mg por ml.

Solución de resolución - Disolver una cantidad de ácido *p*-aminobenzoico en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml. Transferir 10 ml de esta solución y 10 ml de la *Solución madre del estándar* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

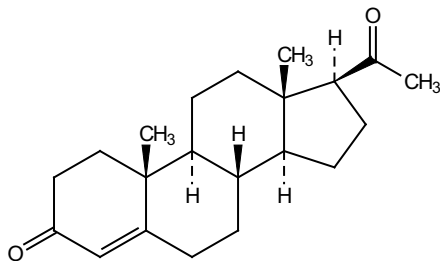
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Clorhidrato de Procainamida y transferir a un matraz aforado de 100 ml. Disolver, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un segundo matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de ácido *p*-aminobenzoico y de procainamida no debe ser menor de 5,0; los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,5 para ácido *p*-aminobenzoico y 1,0 para clorhidrato de procainamida. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cro-

matógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₁₃H₂₁N₃O · HCl en la porción de Clorhidrato de Procainamida en ensayo.

PROGESTERONA



$C_{21}H_{30}O_2$ PM: 314,5 57-83-0

Definición - Progesterona es Pregn-4-eno-3,20-diona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_{21}H_{30}O_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Es estable al aire. Soluble en alcohol, acetona y dioxano; moderadamente soluble en aceites vegetales; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Progesterona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción Ultravioleta <470>

Solvente: metanol.

Concentración: 10 μ g por ml.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +175° y +183°.

Solución muestra: 20 mg por ml, en dioxano.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 126 y 131 °C.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío sobre gel de sílice durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm \times 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Agua y alcohol isopropílico (72:28). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Alcohol diluido 85 en 100.

Solución del estándar interno - Pesar exactamente alrededor de 66 mg de metiltestosterona, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver en *Diluyente*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

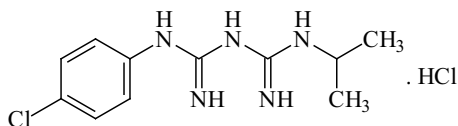
Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Progesterona SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 2,5 mg por ml. Transferir 4,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml, agregar 1,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 1 mg de Progesterona SR-FA por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Progesterona, transferir a un matraz aforado de 25 ml, agregar 1,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 2,0 para progesterona y 1,0 para metiltestosterona; la resolución *R* entre los picos de progesterona y de metiltestosterona no debe ser menor de 3,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,5 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 5 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{21}H_{30}O_2$ en la porción de Progesterona en ensayo.

PROGUANIL, CLORHIDRATO DE



$C_{11}H_{16}ClN_5 \cdot HCl$ PM: 290,2 637-32-1

Sinonimia - Clorhidrato de Clorguanida.

Definición - Clorhidrato de Proguanil es Clorhidrato de 1-(*p*-clorofenil)-5-isopropilbiguanida. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{11}H_{16}ClN_5 \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco. Moderadamente soluble en alcohol; poco soluble en agua pero más soluble en agua caliente; insoluble en cloroformo y éter.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. Proceder según se indica en *Identificación por medio de espectros de referencia*.

B - Debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación del punto de fusión <260>

A 15 ml de una solución saturada de Clorhidrato de Proguanil, agregar 2 ml de hidróxido de sodio 5 N y extraer con 20 ml de éter. Lavar el extracto etéreo con agua y evaporar hasta sequedad a 105 °C. El punto de fusión del residuo debe ser aproximadamente 131 °C.

Acidez o alcalinidad

Mantener 35 ml de agua entre 60 y 65 °C, agregar 0,2 ml de rojo de metilo-azul de metileno (SR), neutralizar con hidróxido de sodio 0,01 N o ácido clorhídrico 0,01 N, agregar 0,4 g de Clorhidrato de Proguanil y agitar hasta disolución: la solución resultante no debe ser ácida y debe requerir para la neutralización no más de 0,2 ml de ácido clorhídrico 0,01 N.

4-Cloroanilina

Disolver 0,1 g de Clorhidrato de Proguanil en 1 ml de ácido clorhídrico 2 N, diluir con agua a 20 ml y enfriar a 5 °C. Agregar 1 ml de nitrito de sodio 0,05 N, mezclar y dejar en reposo durante

5 minutos a 5 °C. Agregar 2 ml de una solución de sulfamato de amonio al 5 %, mezclar y dejar en reposo durante 10 minutos. Agregar 2 ml de una solución de clorhidrato de *N*-(1-naftil)etilendiamina al 0,1 %, diluir a 50 ml con agua, mezclar y dejar en reposo durante 30 minutos: se debe producir un color magenta que no debe ser más intenso que producido por un control preparado a partir de 20 ml de una solución de 4-cloroanilina de aproximadamente 1,25 µg por ml, tratada del mismo modo (250 ppm).

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 10 cm × 5 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - 1-Hexanosulfonato de sodio 0,01 M en una mezcla de metanol, agua y ácido acético glacial (120:80:1). Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del Sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra A - Preparar una solución de Clorhidrato de Proguanil al 0,00010 %.

Solución muestra B - Preparar una solución de Clorhidrato de Proguanil al 0,010 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Solución muestra A* y la *Solución muestra B*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. La suma de las respuestas de los picos secundarios en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra B* no debe ser mayor a la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra A* (1,0 %).

Pérdida por secado <680>

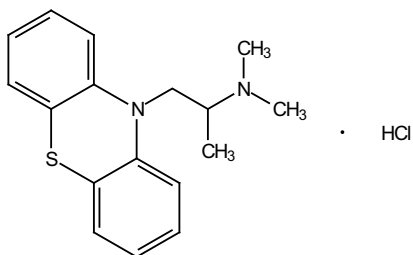
Secar a 105 °C hasta peso constante: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 300 mg de Clorhidrato de Proguanil y disolver en un volumen exactamente medido de anhídrido acético, previamente neutralizado con anhídrido acético. Agregar 15 ml de acetato de mercurio (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido

perclórico 0,1 N equivale a 14,51 mg de
 $C_{11}H_{16}ClN_5 \cdot HCl$.

PROMETAZINA, CLORHIDRATO DE



$C_{17}H_{20}N_2S \cdot HCl$ PM: 320,9 58-33-3

Definición - Clorhidrato de Prometazina es Monoclorhidrato de (\pm) *N,N,\alpha*-trimetil-10*H*-fenotiazin-10-etanamina. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{17}H_{20}N_2S \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco a amarillo claro. Se oxida lentamente por exposición prolongada al aire, adquiriendo una coloración azul. Fácilmente soluble en agua, alcohol absoluto caliente y cloroformo; prácticamente insoluble en éter, acetona y acetato de etilo.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Prometazina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

[NOTA: en todos los procedimientos siguientes, proteger las muestras, la *Sustancia de referencia* y sus soluciones de la luz. Realizar los procedimientos rápidamente, empleando material de vidrio inactínico.]

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*.

B - Debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Claridad de la solución

Preparar por separado sendas soluciones 1 en 10 de Clorhidrato de Prometazina en agua y en cloroformo: las soluciones deben ser prácticamente transparentes y presentar una coloración no más intensa que amarillo pálido.

Determinación del pH <250>

Entre 4,0 y 5,0, determinado sobre una solución 1 en 20.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo, acetona, alcohol e hidróxido de amonio (90:45:2:1).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Prometazina SR-FA en cloruro de metileno para obtener una solución de aproximadamente 10,0 mg por ml.

Soluciones estándar diluidas - Preparar una serie de diluciones cuantitativas de la *Solución estándar* en cloruro de metileno de aproximadamente 0,2; 0,1; 0,05 y 0,025 mg por ml, las cuales corresponden a 2,0; 1,0; 0,5 y 0,25 % de impurezas, respectivamente.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Clorhidrato de Prometazina y disolver en 10,0 ml de cloruro de metileno.

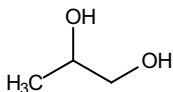
Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra*, 10 μ l de la *Solución estándar* y 10 μ l de cada una de las *Soluciones estándar diluidas*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar evaporar. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar al obtenido con la *Solución estándar*. Estimar la concentración de cualquier mancha secundaria en el cromatograma de la *Solución muestra* por comparación con las *Soluciones estándar diluidas*: ninguna impureza individual debe ser mayor de 1,0 % y la suma de todas las impurezas no debe ser mayor de 2,0 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Clorhidrato de Prometazina y disolver en una mezcla de 5 ml de ácido clorhídrico 0,01 N (SV) y 50 ml de etanol. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente (ver 780. *Volumetría*). Leer el volumen agregado entre los dos puntos de inflexión.

Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a
32,09 mg de $C_{17}H_{20}N_2S \cdot HCl$.

PROPILENGLICOL



C₃H₈O₂

PM: 76,1

57-55-6

Definición - Propilenglicol es 1,2-Propanodiol y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido viscoso, incoloro, transparente. Higroscópico. Miscible con agua y alcohol.

Sustancia de referencia - Propilenglicol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

A - Absorción infrarroja <460>. *En película fina.*

B - A 0,5 ml de Propilenglicol agregar 5 ml de piridina y mezclar. Agregar 2 g de cloruro de nitrógeno finamente pulverizado, calentar a ebullición durante 1 minuto y agregar agitando a 15 ml de agua fría. Filtrar, lavar el precipitado con 20 ml de solución saturada de bicarbonato de sodio, luego con agua y secar. Disolver el residuo en alcohol al 80 % v/v en ebullición y filtrar en caliente. Enfriar y secar entre 100 y 105 °C. Se deben formar cristales que funden entre 123 y 128 °C (ver *Método II* en 260. *Determinación del punto de fusión*).

Acidez

A 10 ml de Propilenglicol, agregar 40 ml de agua y 0,1 ml de azul de bromotimol (SR1). La solución debe presentar color amarillo-verdoso y no se deben consumir más de 0,05 ml de hidróxido de sodio 0,1 M para hacer virar el color del indicador a azul.

Determinación de la densidad relativa <160>

Entre 1,035 y 1,040.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,2 %.

Determinación del índice de refracción <230>

Entre 1,431 y 1,433 a 20 °C.

Determinación del residuo de ignición <270>

Someter a ignición 50 g de Propilenglicol. Dejar enfriar, humedecer el residuo con ácido sulfúrico y someter a ignición. Repetir esta operación. El residuo no debe pesar más de 5 mg (0,01 %).

Sustancias oxidables

A 10 ml de Propilenglicol agregar 5 ml de agua, 2 ml de una solución de 166 mg de yoduro de potasio por ml y 2 ml de ácido sulfúrico diluido. Proteger de la luz y dejar reposar durante 15 minutos. Titular con tiosulfato de sodio 0,05 M (SV) empleando 1 ml de almidón (SR) como indicador. No se deben consumir más de 0,2 ml de tiosulfato de sodio 0,05 M (SV).

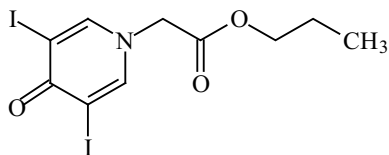
Sustancias reductoras

A 1 ml de Propilenglicol agregar 1 ml de amoníaco diluido y calentar en un baño de agua a 60 °C durante 5 minutos. La solución no debe desarrollar color amarillo. Agregar inmediatamente 0,15 ml de nitrato de plata 0,1 M y dejar reposar durante 5 minutos. La solución no debe cambiar su apariencia.

Límite de metales pesados <590>

Método IV. Emplear 12 ml de una mezcla de 4 ml de Propilenglicol y 16 ml de agua como *Solución muestra* y preparar la *Solución estándar* empleando 2 ml de *Solución estándar de plomo (1 ppm)*. El límite es 5 ppm.

PROPIIODONA



$C_{10}H_{11}I_2NO_3$

PM: 447,0

587-61-1

Definición - Propiliodona es el éster propílico de 3,5-diiodo-4-oxo-1(4H)-piridinacético. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{10}H_{11}I_2NO_3$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Soluble en acetona, alcohol y éter; prácticamente insoluble en agua.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos y herméticos.

ENSAYOS

Identificación

A - Calentar 100 mg de Propiliodona con algunas gotas de ácido sulfúrico: se deben producir vapores de color violeta.

B - Calentar a reflujo 1 g de Propiliodona con 10 ml de hidróxido de sodio 1 M durante 30 minutos, agregar 10 ml de agua y acidificar frente al tornasol con ácido clorhídrico: el precipitado de ácido 3,5-diiodo-4-oxo-1(4H)-piridinacético, después de ser lavado con agua y secado a 105 °C, funde aproximadamente a 245 °C.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 187 y 190 °C.

Acidez

Disolver 1,0 g de Propiliodona en 40 ml de alcohol *n*-propílico caliente previamente neutralizado con fenoltaleína SR, enfriar y dejar reposar en un baño de hielo durante 15 minutos agitando con frecuencia. Filtrar, lavar el residuo con alcohol *n*-propílico neutralizado, combinar el filtrado con los lavados, agregar fenoltaleína SR y valorar con hidróxido de sodio 0,050 M hasta un color rosado que persista durante 15 segundos: no deben consumirse más de 0,15 ml de hidróxido de sodio 0,050 M para la neutralización (0,0075 mmol).

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 1 hora: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Iodo y yoduro

Agitar 2,4 g de Propiliodona con 30 ml de agua durante 15 minutos y filtrar. A 10 ml de filtrado, agregar 1 ml de ácido nítrico 2 M, 1 ml de solución de nitrito de sodio (0,2 % p/v) y 2 ml de cloroformo. Agitar y centrifugar: cualquier color púrpura en la capa clorofórmica no debe ser más oscuro que el obtenido con una mezcla de 6 ml de agua y 4 ml de solución de yoduro de potasio (2,6 mg en 100 ml) tratada del mismo modo (0,01 %).

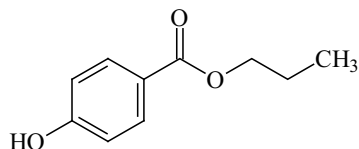
Límite de metales pesados <590>

Método II: No más de 0,002 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente 15 mg de Propiliodona y proceder según se indica en 60. *Combustión en erlenmeyer con oxígeno*, empleando una mezcla de 10 ml de solución de hidróxido de sodio 1 % p/v y 1 ml de solución de bisulfito de sodio 1 % p/v, recientemente preparada, como líquido de absorción. Cuando la combustión haya terminado agregar agua alrededor del tapón del matraz y aflojarlo. Luego enjuagar el tapón, el portamuestras y las paredes del matraz con aproximadamente 20 ml de agua, añadidos en porciones pequeñas. Añadir 1 ml de una solución oxidante preparada mediante el agregado de 5 ml de bromo a 100 ml de una solución 10 % p/v de acetato de sodio en ácido acético glacial. Insertar el tapón en el matraz y agitar vigorosamente durante 1 minuto. Añadir 0,5 ml de ácido fórmico, volver a colocar el tapón y agitar vigorosamente durante 1 minuto. Retirar y enjuagar el tapón, el portamuestras y las paredes del matraz con varias porciones pequeñas de agua. Hacer burbujear nitrógeno en el matraz para eliminar el oxígeno y el exceso de bromo, agregar 500 mg de yoduro de potasio, agitar por rotación moderada para disolver, agregar 3 ml de ácido sulfúrico 1 M, mezclar por rotación moderada y dejar en reposo durante 2 minutos. Valorar con tiosulfato de sodio 0,02 M (SV), agregando 3 ml de almidón cerca del punto final. Cada ml de tiosulfato de sodio 0,02 M equivale a 0,7450 mg de $C_{10}H_{11}I_2NO_3$.

PROPILPARABENO



$C_{10}H_{12}O_3$

PM: 180,2

94-13-3

Sinonimia - Nipasol.

Definición - Propilparabeno es el Éster propílico del ácido 4-hidroxibenzoico. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{10}H_{12}O_3$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o cristales pequeños incoloros. Fácilmente soluble en alcohol y metanol; poco soluble en agua caliente; muy poco soluble en agua.

Sustancia de referencia - Propilparabeno SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Pureza Cromatográfica*. La mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra B* debe ser similar en tamaño y valor de R_f a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar B*.

Acidez

Debe cumplir con los requisitos cuando se ensaya según se indica en *Acidez en Metilparabeno*.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,05 %.

Pérdida por secado <680>

Secar sobre gel de sílice durante 5 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 95 y 98 °C.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

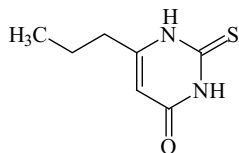
Pureza cromatográfica

Proceder según se indica en *Pureza cromatográfica en Metilparabeno*.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 2 g de Propilparabeno, transferir a un recipiente adecuado, agregar 20,0 ml de hidróxido de sodio 1 N (SV) y calentar a reflujo durante 1 hora. Enfriar a temperatura ambiente y enjuagar el refrigerante con agua. Titular a temperatura ambiente el exceso de hidróxido de sodio con ácido sulfúrico 1 N (SV), continuando la titulación hasta el segundo punto de inflexión y determinar el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver *Titulación residual en 780. Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 1 N equivale a 180,2 mg de $C_{10}H_{12}O_3$.

PROPILTIOURACILO



C₇H₁₀N₂OS

PM: 170,2

51-52-5

Definición - Propiltiouracilo es 2,3-Dihidro-6-propil-2-tioxo-4(1*H*) pirimidinona. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de C₇H₁₀N₂OS, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino o cristales blancos o casi blancos. Muy soluble en alcohol; soluble en soluciones de hidróxidos alcalinos; muy poco soluble en agua y en éter.

Sustancia de referencia - Propiltiouracilo SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en el ensayo para *Tiourea y sustancias relacionadas* bajo luz ultravioleta a 254 nm, antes de exponer la placa a vapores de yodo: el valor de *R_f* de la mancha principal obtenido a partir de la *Solución muestra B* debe ser similar al obtenido con la *Solución estándar A*.

C - Pesar alrededor de 20 mg de Propiltiouracilo, agregar 8 ml de bromo (SR) y agitar durante unos minutos. Calentar a ebullición hasta decoloración, dejar enfriar y filtrar. Agregar al filtrado 2 ml de solución de cloruro de bario de aproximadamente 6,1 mg por ml: se debe formar un precipitado blanco. Agregar 1 ml de solución de hidróxido de sodio de aproximadamente 8,5 mg por ml: el precipitado no debe presentar color violeta.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 217 y 221 °C.

Tiourea y sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, 2-propanol y ácido acético glacial (50:6:0,1).

Solución muestra A - Disolver 100 mg de Propiltiouracilo en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución muestra B - Diluir 1 ml de la *Solución muestra A* a 10 ml con metanol.

Solución estándar A - Disolver 10 mg de Propiltiouracilo SR-FA en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 200 mg de tiourea y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Diluir 1 ml de esta solución a 100 ml con metanol.

Solución estándar C - Diluir 1 ml de la *Solución muestra A* a 100 ml con metanol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de las *Soluciones muestra A y B* y 10 µl de las *Soluciones estándar A y B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente, dejar secar al aire y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm. Exponer la placa a vapores de yodo durante 10 minutos. Cualquier mancha correspondiente a la tiourea en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra A* no debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar B* (0,05 %); y a excepción de la mancha principal y la mancha correspondiente a la *Impureza A*, ninguna mancha debe ser más intensa a la obtenida en el cromatograma con la *Solución estándar C* (1,0 %).

Límite de metales pesados <590>

Método III. Preparar la *Solución estándar* empleando *Solución estándar de plomo de 10 ppm*. El límite es 0,002 %.

Pérdida por secado <680>

Secar entre 100 y 105 °C: no debe perder más de 5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

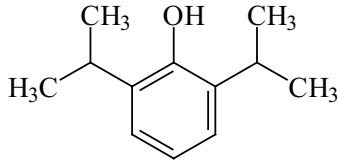
No más de 0,1 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 300 mg de Propiltiouracilo, agregar 30 ml de agua y 30 ml de hidróxido de sodio 0,1 N (SV). Calentar a ebullición y agitar hasta que la disolución sea completa. Agregar agitando 50 ml de nitrato de plata 0,1 N, mantener a ebullición suave durante 5 minutos y enfriar. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). El volumen de hidróxido de sodio 0,1 N empleado

es la suma del volumen agregado inicialmente y el volumen empleado en la valoración final. Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 8,51 mg de $C_7H_{10}N_2OS$.

PROPOFOL



$C_{12}H_{18}O$

PM: 178,3

2078-54-8

Definición - Propofol es 2,6-Bis(1-metiletil)fenol. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{12}H_{18}O$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido límpido, incoloro o ligeramente amarillo. Muy poco soluble en agua. Miscible con hexano y metanol.

Sustancias de referencia - Propofol SR-FA. Impureza J de Propofol SR-FA: 2,6-Bis(1-metiletil)-1,4-benzoquinona. Propofol para la aptitud del sistema SR-FA (contiene Impureza E y G de Propofol).

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto, bajo atmósfera de gas inerte.

ENSAYOS

[NOTA: preparar las soluciones inmediatamente antes de ser empleadas y proteger en todo momento de la luz].

Identificación

Absorción infrarroja <460>. En película fina.

Determinación del índice de refracción <230>

Entre 1,5125 y 1,5145.

Límite de Impureza J

[NOTA: preparar todas las soluciones inmediatamente antes de su uso y protegerlas de la luz].

Sistema cromatográfico - Proceder según se indica en *Valoración*, excepto que se debe emplear un detector ultravioleta ajustado a 254 nm en lugar de a 275 nm.

Fase móvil y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Disolver 500 mg de Propofol en hexano y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar - Disolver 5 μ l de Impureza J de Propofol SR-FA (correspondiente a 5 mg) en hexano y diluir a 50 ml con el mismo solvente. Diluir 5 ml de esta solución a 100 ml con hexano.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. Continuar la cromatografía durante aproximadamente siete veces el tiempo de retención del propofol, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos: en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* la respuesta del pico correspondiente a Impureza J de Propofol no debe ser mayor que cinco veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar* (0,05 %).

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución de resolución, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Propofol y transferir a un matraz aforado de 10 ml. Disolver y completar a volumen con hexano y mezclar.

Solución estándar - Transferir 1,0 ml de *Solución muestra* a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con hexano. Transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con hexano.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. Continuar la cromatografía durante aproximadamente siete veces el tiempo de retención del propofol, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos: en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, cinco veces la respuesta del pico correspondiente a 2-(1-metiletoxi)-1,3-bis(1-metiletil)benceno (Impureza G) no debe ser mayor que dos veces la respuesta del pico de propofol obtenido con la *Solución estándar* (0,2 %) y 0,25 veces la respuesta del pico correspondiente a 3,3',5,5'-tetrakis(1-metiletil)bifenil-4,4'-diol (Impureza E) no debe ser mayor que 0,1 veces la respuesta del pico de propofol obtenido con la *Solución estándar* (0,01 %). A excepción del pico correspondiente a propofol y los picos correspondientes a las impurezas G y E en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta de ningún pico debe ser mayor que 0,5 veces la respuesta del pico de propofol obtenido con la *Solución estándar* (0,05 %). La suma de todas las impurezas, incluyendo las Impurezas G y E, no debe ser mayor que tres veces la respuesta del pico de propofol obtenido con la *Solución estándar* (0,3 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor que 0,3 veces la respuesta del pico corres-

pondiente a propofol en la *Solución estándar* (0,03 %), excepto para la Impureza E.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 10 ppm.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 275 nm y una columna de 20 cm × 5,0 mm con fase estacionaria constituida por gel de sílice para cromatografía de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Hexano, acetonitrilo y alcohol absoluto (990:7,5:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de resolución - Disolver 5 µl de Propofol y 15 µl de Impureza J de Propofol SR-FA en hexano. Transferir a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con hexano.

Solución de aptitud del sistema - Transferir 0,1 ml de Propofol para la aptitud del sistema SR-FA a un matraz aforado de 1 ml y completar a volumen con hexano.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 240 mg de Propofol y transferir a un matraz aforado de 100 ml. Disolver y completar a volumen con hexano y mezclar.

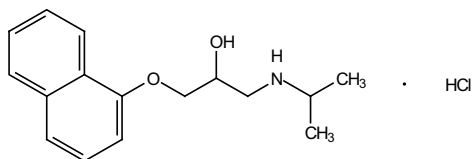
Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 240 mg de Propofol SR-FA y transferir a un matraz aforado de 100 ml. Disolver y completar a volumen con hexano y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución*, continuar la cromatografía durante aproximadamente siete veces el tiempo de retención del pico correspondiente a propofol y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de impureza J y propofol no debe ser menor de 4,0. Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos al propofol para 2-(1-metiletoxi)-1,3-bis(1-metiletil)benzoceno (Impureza G) y 3,3',5,5'-tetrakis(1-metiletil)bifenil-4,4'-diol (Impureza E) deben ser aproximadamente 0,5 y 4, respectivamente.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*. Registrar los cromatogramas y medir las

respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₁₂H₁₈O en la porción de Propofol en ensayo.

PROPRANOLOL, CLORHIDRATO DE



$C_{16}H_{21}NO_2 \cdot HCl$ PM: 295,8 318-98-9

Definición - Clorhidrato de Propranolol es Clorhidrato de (\pm) 1-[(1-metiletil)amino]-3-(1-naftaleniloxi)-2-propanol. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,5 por ciento de $C_{16}H_{21}NO_2 \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Soluble en agua y alcohol; poco soluble en cloroformo; prácticamente insoluble en éter.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Propranolol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

C - Debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación del punto de fusión <260>

Método I. Entre 162 y 165 °C.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre $-1,0^\circ$ y $+1,0^\circ$.

Solución muestra: 40 mg por ml, en agua.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 290 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas totalmente porosas de sílice de 5 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 0,5 g de dodecil sulfato de sodio en 18 ml de ácido fosfórico 0,15 M, agregar 90 ml de acetonitrilo y 90 ml de metanol, diluir con agua hasta 250 ml, mezclar y filtrar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación madre del estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Propranolol SR-FA en metanol para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml.

Preparación estándar - Transferir 5,0 ml de la *Preparación madre del estándar* a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con metanol y mezclar. Esta solución debe contener aproximadamente 0,2 mg de Clorhidrato de Propranolol SR-FA por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Clorhidrato de Propranolol, transferir a un matraz aforado de 50 ml, agregar 45 ml de metanol, agitar y sonicar durante 5 minutos. Completar a volumen con metanol y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 25 ml completar a volumen con metanol y mezclar.

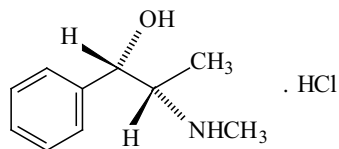
Solución de resolución - Preparar una solución de *Clorhidrato de Procainamida* en metanol de aproximadamente 0,25 mg por ml. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 25 ml y agregar 5 ml de la *Preparación madre del estándar*. Completar a volumen con metanol y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,6 para procainamida y 1,0 para propranolol; la resolución *R* entre los picos de procainamida y propranolol no debe ser menor de 2,0. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría para el pico de propranolol no debe ser mayor de 3,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación*

muestra, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{16}H_{21}NO_2 \cdot HCl$ en la porción de Clorhidrato de Propranolol en ensayo.

PSEUDOEFEDRINA, CLORHIDRATO DE



$C_{10}H_{16}ClNO$ PM: 201,7 345-78-8

Definición - Clorhidrato de Pseudoefedrina es Clorhidrato de (1S, 2S)-2-(metilamino)-1-fenilpropan-1-ol. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{10}H_{16}ClNO$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales incoloros o polvo cristalino blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en agua, alcohol; y moderadamente soluble en cloruro de metileno.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Pseudoefedrina SR-FA. Clorhidrato de Efedrina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre $+61,0^\circ$ y $+62,5^\circ$, respecto a la sustancia seca.

Solución muestra: 50 mg por ml, en agua.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 182 y $186^\circ C$. El intervalo de fusión entre el comienzo y final del punto de fusión no debe exceder de $2^\circ C$.

Aspecto de la solución

Transferir 1,25 g de Clorhidrato de Pseudoefedrina a un matraz aforado de 25 ml, disolver en agua libre de dióxido de carbono, completar a volumen con el mismo solvente, mezclar y examinar inmediatamente: la solución debe ser límpida e incolora.

Acidez o alcalinidad

Transferir 100 mg de Clorhidrato de Pseudoefedrina a un matraz aforado de 10 ml, disolver en agua libre de dióxido de carbono, completar a volumen con

el mismo solvente y mezclar. Agregar 0,1 ml rojo de metilo (SR) y 0,1 ml de hidróxido de sodio 0,01 N: la solución debe ser amarilla. Agregar 0,2 ml de ácido clorhídrico 0,01 N (SV): la solución debe ser roja.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 257 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por grupos fenilo químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución de acetato de amonio - Pesar exactamente alrededor de 11,6 g de acetato de amonio, transferir a un matraz aforado de 1 litro, disolver con agua. Ajustar, si fuera necesario, a pH 4,0 con ácido acético glacial, completar a volumen con agua y mezclar.

Fase móvil - Solución de acetato de amonio y metanol (94:6). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 g de Clorhidrato de Pseudoefedrina, transferir a un matraz aforado de 25 ml, disolver y completar a volumen con *Fase móvil*.

Solución estándar A - Preparar una solución de Clorhidrato de Efedrina SR-FA en *Fase móvil* de aproximadamente 0,02 mg por ml.

Solución estándar B - Transferir 1 ml de la *Solución muestra* a un matraz aforado de 200 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Solución estándar C - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Clorhidrato de Efedrina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en 5 ml de *Solución muestra*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar C* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de clorhidrato de efedrina y clorhidrato de pseudoefedrina no debe ser menor de 2,0, si fuera necesario reducir el contenido de metanol en la fase móvil.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μl) de la *Solución muestra*, la *Solución estándar A* y la *Solución estándar B*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* la respuesta del pico de clorhidrato de efedrina no debe ser mayor a la respuesta del pico principal obtenida con la *Solución estándar A* (1,0 %); ninguna otra impureza individual debe ser mayor a la respuesta del

pico principal obtenido con la *Solución Estándar B* (0,5 %); y la suma de las respuestas de todos los picos excepto el pico de clorhidrato de efedrina no debe ser mayor a dos veces la respuesta del pico principal obtenida con la *Solución estándar B* (1 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor de 0,1 veces la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar B* (0,05 %).

Pérdida por secado <680>

Secar a 105° C durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

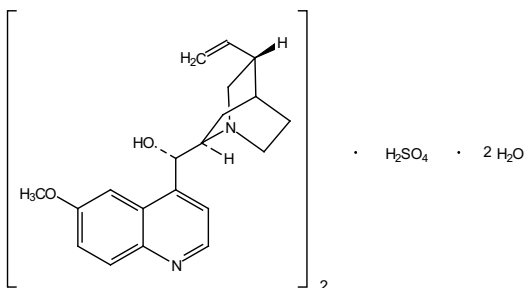
Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 0,17 g de Clorhidrato de Pseudoefedrina, transferir a un erlenmeyer, disolver en 30,0 ml de etanol. Agregar 5,0 ml de ácido clorhídrico 0,01 N (SR), titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) continuando la titulación hasta el segundo punto de inflexión y determinar el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 20,17 mg de $C_{10}H_{16}ClNO$.

QUINIDINA, SULFATO DE



$(\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ PM: 783,0 6591-63-5

Anhidro PM: 746,9 50-54-4

Definición - Sulfato de Quinidina es Sulfato de (9S)-6'-metoxicinchonon-9-ol, dihidrato. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $\text{C}_{40}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales blancos, finos, en forma de agujas o polvo blanco. Inodoro. Se oscurece por exposición a la luz. Sus soluciones son neutras o alcalinas frente al tornasol. Soluble en alcohol; moderadamente soluble en cloroformo; poco soluble en agua; insoluble en éter.

Sustancias de referencia - Sulfato de Quinidina SR-FA. Quininona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Disolver 100 mg de Sulfato de Quinidina en 3 ml de ácido sulfúrico diluido y diluir a 100 ml con agua. Examinar la solución obtenida a 366 nm: debe presentar fluorescencia azul intensa, la cual debe desaparecer con el agregado de 1 ml de ácido clorhídrico.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Pureza cromatográfica*. El valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución estándar*.

C - Una solución de Sulfato de Quinidina 1 en 50 obtenida con la ayuda de unas pocas gotas de ácido clorhídrico debe responder a los ensayos para *Sulfato* <410>.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre $+275^\circ$ y $+290^\circ$, calculada sobre la sustancia anhidra.

Solución muestra: 20 mg por ml, en ácido clorhídrico 0,1 N.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 4,0 y 5,5 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Sustancias insolubles en cloroformo - alcohol

Calentar 2 g de Sulfato de Quinidina con 15 ml de una mezcla de cloroformo y alcohol absoluto (2:1) aproximadamente a 50°C durante 10 minutos. Filtrar a través de un filtro de vidrio sinterizado, previamente pesado, aplicando vacío. Lavar el filtro con cinco porciones de 10 ml de la mezcla de cloroformo - alcohol, secar a 105°C durante 1 hora y pesar: el peso del residuo no debe ser mayor de 2 mg (0,1 %).

Límite de sulfato de dihidroquinidina

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 235 nm y una columna de 30 cm \times 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro.

Solución de ácido metanosulfónico - Agregar 35,0 ml de ácido metanosulfónico a 20,0 ml de ácido acético glacial, diluir a 500 ml con agua y mezclar.

Solución de dietilamina - Disolver 10,0 ml de dietilamina en agua para obtener 100 ml.

Fase móvil - Agua, acetonitrilo, *Solución de ácido metanosulfónico* y *Solución de dietilamina* (86:10:2:2). Filtrar y desgasificar. Ajustar a pH 2,6 con *Solución de dietilamina* (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Sulfato de Quinidina, transferir a un matraz aforado de 100 ml. Disolver, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución de aptitud del sistema - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Sulfato de Quinidina y 10 mg de clorhidrato de dihidroquinidina, transferir a un matraz aforado de 50 ml. Disolver en aproximadamente 5 ml de metanol, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*)- Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos para quinidina y dihidroquinidina

na deben ser 1 y 1,5, respectivamente; la resolución R entre quinidina y dihidroquinidina no debe ser menor de 2,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 50 μl de la *Solución muestra*, registrar el cromatograma y medir las respuestas de los picos. La respuesta del pico de dihidroquinidina no debe ser mayor de 20 % de quinidina.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, acetona y dietilamina (5:4:1).

Solución estándar - Preparar una solución de Sulfato de Quinidina SR-FA en alcohol diluido, de aproximadamente 6 mg por ml.

Solución estándar diluida - Diluir una porción de la *Solución estándar* con alcohol diluido, para obtener una solución de aproximadamente 0,06 mg por ml.

Solución de sustancias relacionadas - Preparar una solución en alcohol diluido que contenga, por cada ml, 0,05 mg de Quininona SR-FA (correspondiente a 0,06 mg del sulfato) y 0,10 mg de cinconidina (correspondiente a 0,12 mg del sulfato).

Solución muestra - Preparar una solución de Sulfato de Quinidina en alcohol diluido, de aproximadamente 6 mg por ml.

Revelador 1 - Ácido acético glacial.

Revelador 2 - Iodoplatinato de potasio (SR).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μl de *Solución muestra*, 10 μl de *Solución estándar*, 10 μl de *Solución estándar diluida*, y 10 μl de *Solución de sustancias relacionadas*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas, en una cámara no saturada, hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 1* y examinar bajo luz ultravioleta a 366 nm: ninguna mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* con un valor de R_f similar a la mancha correspondiente obtenida con la *Solución de sustancias relacionadas* debe ser mayor en tamaño o intensidad que la mancha correspondiente obtenida con la *Solución de sustancias relacionadas*. A excepción de estas manchas y de las manchas obtenidas al valor de R_f del Sulfato de Quinidina y el sulfato de dihidroquinidina (las dos manchas más evidentes de la *Solución estándar*), ninguna otra mancha debe

ser mayor en tamaño o intensidad que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar diluida*. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 2*: ninguna mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser mayor en tamaño o intensidad que la mancha correspondiente y con un valor de R_f similar al obtenido con la *Solución de sustancias relacionadas*.

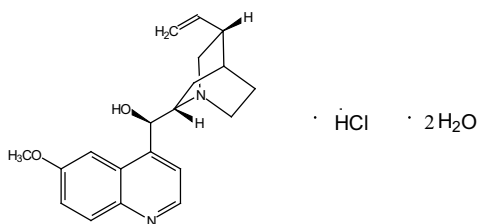
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Sulfato de Quinidina, disolver en 20 ml de ácido acético glacial, agregar 4 gotas de *p*-naftolbenceína (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) hasta punto final color verde. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 24,90 mg de $\text{C}_{40}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}$.

QUININA, CLORHIDRATO DE



$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot \text{HCl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ PM: 396,9 6119-47-7

Definición - Clorhidrato de Quinina es el Clorhidrato de un alcaloide obtenido a partir de la corteza de especies de Quina. Es Clorhidrato de (8 α ,9R)-6'-metoxicinconan-9-ol, dihidrato. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de sales de alcaloides totales, calculado como $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot \text{HCl}$, sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Agujas finas sedosas, incoloras, a menudo se encuentran en forma de racimos. Fácilmente soluble en alcohol; soluble en agua.

Sustancia de referencia - Sulfato de Quinina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Disolver 100 mg de Clorhidrato de Quinina en 3 ml de ácido sulfúrico diluido y diluir a 100 ml con agua. Examinar la solución obtenida a 366 nm: debe presentar fluorescencia azul intensa, la cual debe desaparecer con el agregado de 1 ml de ácido clorhídrico.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno, éter y dietilamina (40:24:10).

Solución muestra - Disolver 100 mg de Clorhidrato de Quinina en metanol y diluir hasta 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar - Disolver 100 mg de Sulfato de Quinina SR-FA en metanol y diluir hasta 10 ml con el mismo solvente

Revelador - Iodoplatinato (SR).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 μl de la *Solución muestra* y 5 μl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar bajo una corriente de aire durante 15 minutos y repetir el desarrollo. Secar la placa a 105 °C durante 30 minutos, dejar enfriar. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*. La mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar en valor R_f , color y tamaño a la obtenida en el cromatograma con la *Solución estándar*.

C - Disolver aproximadamente 10 mg de Clorhidrato de Quinina en agua y diluir hasta 10 ml con el mismo solvente. A 5 ml de esta solución, agregar 0,2 ml de agua de bromo (SR) y 1 ml de amoníaco diluido (SR). Se debe desarrollar color verde.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -245° y -258°.

Solución muestra: 20 mg por ml, en ácido clorhídrico 0,1 N.

Determinación del pH <250>

Entre 6,0 y 6,8, determinado sobre una solución de aproximadamente 20 mg por ml.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de sulfato

Solución muestra - Disolver 1,0 g de Clorhidrato de Quinina en agua libre de dióxido de carbono y diluir hasta 50 ml con el mismo solvente.

Procedimiento - A 1,5 ml de una solución de sulfato (10 ppm) (SL), agregar 1 ml de cloruro de bario al 25 %. Agitar y dejar en reposo durante 1 minuto. Agregar 15 ml de *Solución muestra* y 0,5 ml de ácido acético. Preparar una solución control en las mismas condiciones, empleando una mezcla formada por 15 ml de solución de sulfato (10 ppm) (SL). Luego de 5 minutos, protegida de la luz, si la *Solución muestra* presenta opalescencia, ésta no debe ser más intensa que la de la solución control. El límite es 500 ppm.

Bario

A 15 ml de una solución de Clorhidrato de Quinina de aproximadamente 20 mg por ml, agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido (SR). Luego de 15 minutos cualquier opalescencia en la solución no debe ser más intensa que la de una mezcla de 15 ml

de una solución de Clorhidrato de Quinina de aproximadamente 20 mg por ml y 1 ml de agua.

Pérdida por secado <680>

Secar en estufa a una temperatura entre 100 y 105 °C: debe perder entre 6 y 10 % de su peso.

Otros alcaloides de la quina

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 250 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 6,8 g de fosfato diácido de potasio y 3,0 g de hexilamina en 700 ml de agua, ajustar a pH 2,8 con ácido fosfórico diluido, agregar 60 ml de acetonitrilo y diluir a 1 litro con agua.

Solución muestra - Disolver 20 mg de Clorhidrato de Quinina en 5 ml de *Fase móvil*, calentando suavemente si fuera necesario, y diluir hasta 10 ml con *Fase móvil*.

Solución estándar A - Disolver 20 mg de Sulfato de Quinina en 5 ml de *Fase móvil*, calentando suavemente si fuera necesario, y diluir hasta 10 ml con *Fase móvil*.

Solución estándar B - Disolver 20 mg de Sulfato de Quinidina en 5 ml de *Fase móvil*.

Solución estándar C - A 1 ml de la *Solución estándar A*, agregar 1 ml de la *Solución estándar B*.

Solución estándar D - Diluir 1 ml de la *Solución estándar A* hasta 10 ml con *Fase móvil*. Diluir 1 ml de esta solución hasta 50 ml con *Fase móvil*.

Solución estándar E - Disolver 10 mg de tiourea en *Fase móvil* y diluir hasta 10 ml con el mismo solvente.

Aptitud del sistema (ver 100. Cromatografía) - Inyectar 10 µl de la *Solución estándar B* y 10 µl de *Solución estándar E*. Ajustar la concentración de acetonitrilo en la *Fase móvil*, si fuera necesario, de modo que en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar B* el factor de capacidad del pico correspondiente a la quinidina debe ser de 3,5 a 4,5, calculando t_R a partir del pico correspondiente a la tiourea en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar E*. Inyectar 10 µl de las *Soluciones estándar A, B, C y D*, sucesivamente. El cromatograma obtenido con la *Solución estándar A* debe presentar un pico principal correspondiente a la quinina y un pico correspondiente a la dihidroquinina: el tiempo de retención relativo a la quinina debe ser aproximadamente 1,4. El cromatograma obtenido con la *Solución estándar B* debe presentar un pico principal correspondiente a la quinidina y un pico correspondiente a la dihidroquinidina: el

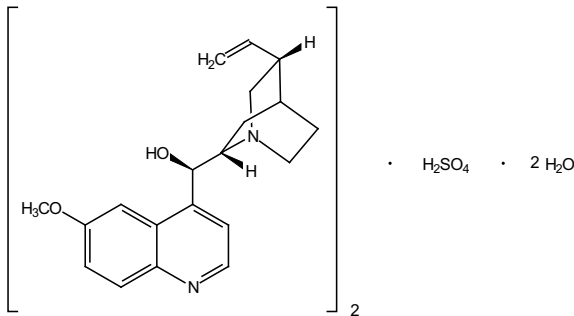
tiempo de retención relativo a la quinina debe ser de aproximadamente 1,2. El cromatograma obtenido con la *Solución estándar C* debe presentar cuatro picos correspondientes a quinina, dihidroquinina, quinidina y dihidroquinidina, los que se deben identificar comparando los tiempos de retención con los picos correspondientes en los cromatogramas obtenidos con las *Soluciones estándar A y B*. El ensayo sólo es válido si en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar C*: la resolución R no debe ser menor de 3 entre los picos correspondientes a quinina y quinidina, y no debe ser menor de 2 entre los picos correspondientes a dihidroquinidina y quinina; el cromatograma obtenido con la *Solución estándar D* debe presentar una relación señal - ruido mayor de 4.

Procedimiento - Inyectar 10 µl de la *Solución muestra*. Desarrollar el cromatograma durante 2,5 veces el tiempo de retención del pico principal, registrar el cromatograma y medir las respuestas de los picos. Calcular la cantidad en porcentaje de sustancias relacionadas a partir de las respuesta de los picos en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, empleando el procedimiento de normalización e ignorar cualquier pico con una respuesta menor que la del pico en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar D*. La cantidad de dihidroquinina debe ser menor de 10 %, la cantidad de cualquier sustancia relacionada eluída antes de la quinina debe ser menor de 5 %, y cualquier otra sustancia relacionada debe ser menor de 2,5 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Clorhidrato de Quinina, disolver en 50 ml de alcohol, agregar 5 ml ácido clorhídrico 0,01 M. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 36,09 mg de $C_{20}H_{25}ClN_2O_2$.

QUININA, SULFATO DE



(C₂₀H₂₄N₂O₂)₂ · H₂SO₄ · 2H₂O PM: 783,0 6119-70-6
Anhidro PM: 746,9 804-63-7

Definición - Sulfato de Quinina es Sulfato de (8 α ,9R)-6'-metoxicinchonan-9-ol, dihidrato. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de (C₂₀H₂₄N₂O₂)₂ · H₂SO₄, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales blancos, finos, en forma de agujas, usualmente sin brillo. Inodoro. Se oscurece por exposición a la luz. Sus soluciones saturadas son neutras o alcalinas frente al tornasol. Fácilmente soluble en alcohol a 80 °C, y en una mezcla de cloroformo y alcohol absoluto (2:1); moderadamente soluble en agua a 100 °C; poco soluble en agua, alcohol y cloroformo; muy poco soluble en éter.

Sustancias de referencia - Sulfato de Quinina SR-FA. Quininona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Proceder según se indica en ensayo de *Identificación A* para *Sulfato de Quinidina*.

B - Proceder según se indica en ensayo de *Identificación B* para *Sulfato de Quinidina*.

C - Proceder según se indica en ensayo de *Identificación C* para *Sulfato de Quinidina*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -237° y -245°.

Solución muestra: 20 mg por ml, en ácido clorhídrico 0,1 N.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 4,0 y 5,5 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Sustancias insolubles en cloroformo-alcohol

Proceder según se indica en ensayo de *Sustancias insolubles en cloroformo-alcohol* para *Sulfato de Quinidina*.

Límite de sulfato de dihidroquinina

Sistema cromatográfico, Solución de ácido metanosulfónico, Solución de dietilamina y Fase móvil - Proceder según en *Límite de sulfato de dihidroquinina* para *Sulfato de Quinidina*.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Sulfato de Quinina, transferir a un matraz aforado de 100 ml. Disolver, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución de aptitud del sistema - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Sulfato de Quinina y 10 mg de dihidroquinina y transferir a un matraz aforado de 50 ml. Disolver en aproximadamente 5 ml de metanol, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos para quinina y dihidroquinina deben ser aproximadamente 1 y 1,5 respectivamente; la resolución *R* entre los picos de quinina y dihidroquinina no debe ser menor de 1,2; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar aproximadamente 50 μ l de la *Solución muestra*, registrar el cromatograma y medir las respuestas de los picos. La respuesta del pico de dihidroquinina no debe ser mayor al 10 % de quinina.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria, Fase móvil, Solución de sustancias relacionadas, Revelador 1 y Revelador 2 - Proceder según se indica en *Pureza cromatográfica* para *Sulfato de Quinidina*.

Solución estándar - Preparar una solución de Sulfato de Quinina SR-FA en alcohol diluido, de aproximadamente 6 mg por ml.

Solución estándar diluida - Diluir una porción de *Solución estándar* con alcohol diluido para obtener una solución de aproximadamente 0,06 mg por ml.

Solución muestra - Preparar una solución de Sulfato de Quinina en alcohol diluido, de aproximadamente 6 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de *Solución muestra*, 10 μ l de *Solución estándar*, 10 μ l de *Solución estándar diluida* y 10 μ l de *Solución de sustancias relacionadas*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas en una cámara no saturada hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 1* y examinar bajo luz ultravioleta a 366 nm: ninguna mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* con un valor de R_f similar a la mancha correspondiente obtenida con la *Solución de sustancias relacionadas* debe ser mayor en tamaño o intensidad que la mancha correspondiente obtenida con la *Solución de sustancias relacionadas*. A excepción de estas manchas y de la mancha obtenida al valor de R_f del Sulfato de quinina en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ninguna otra mancha debe ser mayor en tamaño o intensidad que la mancha obtenida con la *Solución estándar diluida*. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 2*: ninguna mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser mayor en tamaño o intensidad que la mancha correspondiente y con un valor de R_f similar al obtenido con la *Solución de sustancias relacionadas*.

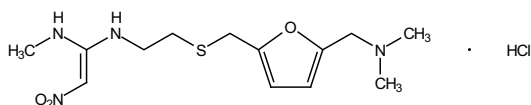
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Sulfato de Quinina y proceder según se indica en *Valoración* para Sulfato de *Quinidina*.

RANITIDINA, CLORHIDRATO DE



$C_{13}H_{22}N_4O_3S \cdot HCl$ PM: 350,9 66357-59-3

Definición - Clorhidrato de Ranitidina es Monoclorhidrato de *N*-[2-[[[5-[(dimetilamino)metil]-2-furanil]metil]tio]etil]-*N'*-metil-2-nitro-1,1-etenodiamina. Debe contener no menos de 97,5 y no más de 102,0 por ciento de $C_{13}H_{22}N_4O_3S \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco a amarillo pálido. Sensible a la luz y a la humedad. Funde aproximadamente a 140 °C, con descomposición. Muy soluble en agua; moderadamente soluble en alcohol.

Presenta polimorfismo.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Ranitidina SR-FA. Mezcla de resolución de Ranitidina SR-FA (contiene Clorhidrato de Ranitidina y cuatro impurezas relacionadas: hemifumarato de ranitidina amino alcohol, hemifumarato de ranitidina diamina, ranitidina *N*-óxido y complejo nitroacetamida de ranitidina).

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*.

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: agua.

Concentración: 10 µg por ml.

Las absorbancias a 229 nm y 315 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

C - Una solución de Clorhidrato de Ranitidina debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 6,0; determinado sobre una solución al 1 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico, Solución reguladora de fosfato, Solución A, Solución B, Fase móvil, Diluyente, Solución de resolución y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* obtenida en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 10 µl de la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Identificar los picos que pudieran aparecer de acuerdo a los tiempos de retención relativos indicados en la siguiente tabla:

Nombre	Tiempo de Retención Relativo
Nitroacetamida de ranitidina simple (<i>N</i> -Metil-2-nitroacetamida)	0,14
Ranitidina oxima (3-Metilamino-5,6,dihidro-2 <i>H</i> -1,4-tiazin-2-ona oxima)	0,21
Hemifumarato de ranitidina amino alcohol [5-[(dimetilamino)metil]furan-2-il]metanol	0,45
Hemifumarato de ranitidina diamina (impureza A: 5-[[2-Aminoetil]tio]metil]- <i>N</i> , <i>N</i> -dimetil-2-furanmetanamina)	0,57
Ranitidina <i>S</i> -óxido (impureza C: <i>N</i> -[2-[[5-[(dimetilamino)metil]-2-furanil]metil]sulfinil]etil]- <i>N'</i> -metil-2-nitro-1,1-etendiamina)	0,64
Ranitidina <i>N</i> -óxido (<i>N,N</i> - dimetil(5-[[2-((1-metilamino-2-nitroetenil]amino]etil)sulfanil]metil]furan-2-il)metanamina <i>N</i> -óxido)	0,72
Complejo nitroacetamida de ranitidina (<i>N</i> -[2-[[5-[(dimetilamino)metil]furan-2-il]metil]sulfinil]etil]-2-nitroacetamida)	0,84
Formaldehído de ranitidina aducto (2,2'-metilen bis [<i>N</i> -[2-[[5-[(dimetilamino)metil]furan-2-il]metil]sulfinil]etil]- <i>N'</i> -metil-2-nitroeten-1,1-diamino)	1,36
Ranitidina <i>bis</i> -compuesto (impureza B: <i>N</i> , <i>N'</i> -bis[2-[[5-[(dimetilamino)metil]-2-furanil]metil]tio]etil]-2-nitro-1,1 etendiamina)	1,75

Calcular el porcentaje de cada impureza con respecto al pico principal en la porción de Clorhidrato de Ranitidina en ensayo: no debe contener más de 0,3 % de ranitidina *bis*-compuesto; no más de 0,1 % de cualquier otra impureza y no más de 1,0 % de impurezas totales.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 0,75 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 230 nm y una columna de 10 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3,5 µm de diámetro. Mantener la columna a 35 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto. Programar el cromatógrafo del siguiente modo:

Tiempo (minutos)	Solución A (%)	Solución B (%)	Etapas
0-10	100→0	0→100	Gradiente lineal
10-15	0	100	Isocrático
15-16	0→100	100→0	Gradiente lineal
16-20	100	0	Reequilibración

Solución reguladora de fosfato - Transferir 6,8 ml de ácido fosfórico a un matraz aforado de 2,0 litros conteniendo 1,9 litros de agua y mezclar. Agregar 8,6 ml de solución de hidróxido de sodio al 50 % y completar a volumen con agua. Ajustar a pH 7,1 con solución de hidróxido de sodio al 50 % o ácido fosfórico si fuera necesario y filtrar.

Solución A - *Solución reguladora de fosfato* y acetonitrilo (98:2).

Solución B - *Solución reguladora de fosfato* y acetonitrilo (78:22).

Fase móvil - Emplear mezclas variables de *Solución A* y *Solución B* según se indica en *Sistema cromatográfico*. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Emplear *Solución A*.

Solución de resolución - Pesar exactamente alrededor de 1,3 mg de Mezcla de resolución de Ranitidina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver y completar a volumen con *Diluyente*.

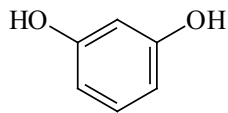
Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Ranitidina SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,125 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Clorhidrato de Ranitidina, transferir a un matraz aforado de 200 ml, disolver en *Diluyente*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* registrar las respuestas de todos los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos con tiempos de retención relativos a ranitidina de 0,72 y 0,84 correspondientes a ranitidina *N*-óxido y complejo nitroacetamida de ranitidina, respectivamente, no debe ser menor de 1,5. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₁₃H₂₂N₄O₃S · HCl en la porción de Clorhidrato de Ranitidina en ensayo.

RESORCINOL



C₆H₆O₂

PM: 110,1

108-46-3

Definición - Resorcinol es 1,3 Bencenodiol. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,0 de C₆H₆O₂, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino o cristales incoloros o de color gris-rosáceo pálido, con olor característico. Se torna color rosado al exponerse a la luz y al aire. Muy soluble en alcohol y agua; fácilmente soluble en éter.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Resorcinol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. [NOTA: si fuera necesario recrystalizar, disolver los residuos en alcohol absoluto].

B - Disolver 100 mg de Resorcinol en 1 ml de agua. Agregar 1 ml de una solución de hidróxido de sodio al 42 % p/v y 0,1 ml de cloroformo, calentar y dejar enfriar. Se debe desarrollar una intensa coloración rojo-carmesí, que vira al amarillo pálido frente a un ligero exceso de ácido clorhídrico.

C - Mezclar 10 mg de Resorcinol con 10 mg de biftalato de potasio, ambos finamente pulverizados. Calentar sobre una llama abierta hasta que aparezca color amarillo-anaranjado. Enfriar, agregar 1 ml de solución de hidróxido de sodio al 8,5 % p/v y 10 ml de agua y agitar hasta disolución: debe presentar fluorescencia verde intensa.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 109 y 112 °C.

Acidez o alcalinidad

Disolver 2,5 g de Resorcinol en agua libre de dióxido de carbono y diluir a 25 ml con el mismo solvente. A 10 ml de esta solución, agregar 0,05 ml de azul de bromofenol (SR1). No deben consumirse más de 0,05 ml de ácido clorhídrico 0,1 N o de hidróxido de sodio 0,1 N para virar el color del indicador.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Hexano y acetato de etilo (60:40).

Solución muestra - Disolver 500 mg de Resorcinol en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar - Diluir 0,1 ml de *Solución muestra* a 20 ml con metanol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 2 µl de la *Solución muestra* y 2 µl de la *Solución estándar*, dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente, dejar secar al aire durante 15 minutos y exponerla a vapores de yodo: a excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ninguna mancha debe ser más intensa que la mancha obtenida con la *Solución estándar* (0,5 %).

Pirocatecol

Disolver 2,5 g de Resorcinol en agua libre de dióxido de carbono y diluir a 25 ml con el mismo solvente. A 2 ml de esta solución, agregar 1 ml de molibdato de amonio (SR1) y mezclar. Cualquier color amarillo en la solución no debe ser más intenso que el de una solución de comparación preparada simultáneamente y en las mismas condiciones a partir de 2 ml de una solución de pirocatecol al 0,01 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Fenol

Calentar suavemente una solución de Resorcinol 1 en 20: no debe percibirse olor a fenol.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

Pérdida por secado <680>

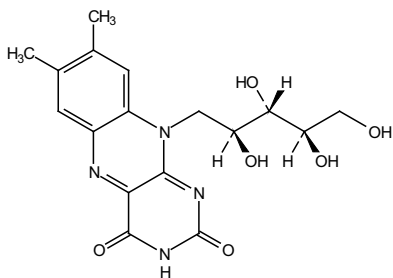
Secar en un desecador sobre gel de sílice durante 4 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso, determinado sobre la sustancia pulverizada.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Resorcinol, disolver en agua y diluir a 250 ml con el mismo solvente. Transferir 25 ml de esta solución a un matraz de vidrio con tapón esmerilado, agregar 1,0 g de bromuro de potasio, 50 ml de bromato de potasio 0,0167 M, 15 ml de cloroformo y 15 ml de

ácido clorhídrico 70 %. Tapar el matraz, agitar y dejar en reposo en la oscuridad durante 15 minutos, agitando ocasionalmente. Agregar 10 ml de una solución de yoduro de potasio 10 %, agitar y dejar en reposo durante 5 minutos. Titular con tiosulfato de sodio 0,1 N, empleando 1 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de bromato de potasio 0,0167 M equivale a 1,835 mg de $C_6H_6O_2$.

RIBOFLAVINA



$C_{17}H_{20}N_4O_6$

PM: 376,4

83-88-5

Sinonimia - Vitamina B₂.

Definición - Riboflavina es 7,8-dimetil-10-(D-ribo-2,3,4,5-tetrahidroxipentil) isoalloxazino. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{17}H_{20}N_4O_6$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino amarillo a amarillo anaranjado. Funde aproximadamente a 280 °C. Una solución saturada es neutra frente al tornasol. Cuando está seca, no es afectada apreciablemente por la luz difusa, pero cuando está en solución, se deteriora rápidamente en presencia de luz, especialmente en soluciones alcalinas. Soluble en soluciones de álcalis diluidos; muy poco soluble en agua, alcohol y en solución isotónica de cloruro de sodio; insoluble en éter y cloroformo.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Riboflavina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Una solución de aproximadamente 1 mg de Riboflavina en 100 ml de agua, es de color amarillo verdoso pálido por la luz transmitida y tiene una fluorescencia verde amarillenta intensa que desaparece por el agregado de ácidos inorgánicos o álcalis.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +56,5° y +59,5°.

Solución muestra: 5 mg por ml, en ácido clorhídrico.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,3 %.

Límite de lumiflavina

Cloroformo libre de alcohol - Agitar 20 ml de cloroformo con 20 ml de agua durante 3 minutos,

extraer la capa clorofórmica y lavar dos veces más con porciones de 20 ml de agua. Luego filtrar el cloroformo a través de un papel de filtro seco, agitar durante 5 minutos con 5 g de sulfato de sodio anhidro, dejar reposar la mezcla durante 2 horas y filtrar [NOTA: preparar el cloroformo libre de alcohol inmediatamente antes de su uso].

Procedimiento - Agitar 25 mg de Riboflavina con 10 ml de *Cloroformo libre de alcohol* durante 5 minutos y filtrar: la absorbancia del filtrado, determinada en celdas de 1 cm, a una longitud de onda de 440 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando *Cloroformo libre de alcohol* como blanco. El límite es 0,025.

Pérdida por secado <680>

Secar aproximadamente 500 mg de Riboflavina a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 1,5 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

[NOTA: realizar todo el procedimiento sin exposición a la luz, empleando material de vidrio inactivo].

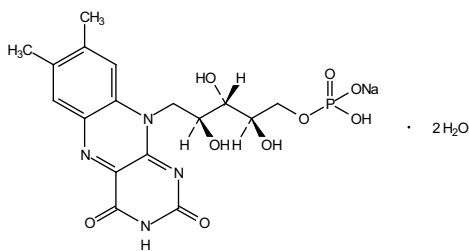
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Riboflavina, transferir a un matraz aforado de 1.000 ml con aproximadamente 50 ml de agua. Agregar 5 ml de ácido acético 6 N y agua suficiente para obtener aproximadamente 800 ml. Calentar en un baño de vapor, protegido de la luz, con agitación frecuente hasta disolver. Enfriar aproximadamente a 25 °C, diluir a volumen con agua y mezclar. Diluir esta solución con agua cuantitativamente y en etapas hasta obtener una concentración apropiada para la sensibilidad operativa del fluorómetro empleado.

Preparación estándar - Proceder según se indicó para la *Preparación muestra* sobre una cantidad exactamente pesada de Riboflavina SR-FA.

Procedimiento - Medir la intensidad de fluorescencia de la *Preparación estándar* en un fluorómetro a 530 nm (se prefiere una longitud de onda de excitación de aproximadamente 444 nm). Luego de la lectura, agregar inmediatamente a la solución alrededor de 10 mg de hidrosulfito de sodio, agitar con varilla de vidrio hasta disolución y medir inmediatamente la fluorescencia. La diferencia entre las dos lecturas representa la intensidad de fluorescencia de la *Preparación estándar*. En forma similar, medir la intensidad de la fluorescencia de la *Preparación muestra* a 530 nm, antes y después de agregar 10 mg de hidrosulfito de sodio. Calcular la cantidad de $C_{17}H_{20}N_4O_6$ en la porción de Riboflavina en ensayo, a partir de los valores corregidos de

fluorescencia obtenidos para la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, respectivamente.

RIBOFLAVINA, 5'-FOSFATO SÓDICO DE



$C_{17}H_{20}N_4NaO_9P \cdot 2H_2O$ PM: 514,4

Anhidro PM: 478,3 130-40-5

Definición - Riboflavina es 5'-(fosfato dihidrógeno), sal monosódica, dihidrato. Debe contener no menos de 73,0 por ciento y no más de 79,0 por ciento de riboflavina ($C_{17}H_{20}N_4O_6$), calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo fino cristalino de color amarillo anaranjado. Higroscópico. Moderadamente soluble en agua. Estable a la luz difusa cuando está seco, pero en solución la luz induce rápidamente su degradación.

Sustancias de referencia - Riboflavina SR-FA. 5'-Fosfato Sódico de Riboflavina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Disolver 1 mg de 5'-Fosfato Sódico de Riboflavina en 100 ml de agua: la solución es de color amarillo verdoso pálido a la luz transmitida y presenta fluorescencia verde amarillenta intensa bajo luz ultravioleta de 375 nm que desaparece con el agregado de ácidos o álcalis inorgánicos.

B - A 0,5 g de 5'-Fosfato Sódico de Riboflavina agregar 10 ml de ácido nítrico, evaporar la mezcla en un baño de agua a sequedad, someter a ignición el residuo hasta eliminar el residuo carbonoso, disolver el residuo en 5 ml de agua, filtrar: el filtrado así obtenido responde a los ensayos para *Sodio* <410> y para *Fosfato* <410>.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +37,0° y +42,0°, determinado dentro de los 15 minutos.

Solución muestra: 15 mg por ml, en ácido clorhídrico 5 N.

Determinación del pH <250>

Entre 5,0 y 6,5, determinado sobre una solución al 1 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más del 25,0 %.

Límite de fosfato libre

Solución de molibdato ácido - Diluir 25 ml de solución de molibdato de amonio 7 en 100 con agua a 200 ml. Agregar lentamente a esta dilución 25 ml de ácido sulfúrico 7,5 N y mezclar.

Solución de sulfato ferroso - Preparar una solución 1 en 10 de sulfato ferroso en ácido sulfúrico 0,15 N. [NOTA: preparar esta solución en el momento de su uso].

Solución estándar - Preparar una solución en agua de aproximadamente 44,0 µg de fosfato monobásico de potasio por cada ml.

Solución muestra - Transferir 300 mg de 5'-Fosfato Sódico de Riboflavina a un matraz aforado de 100 ml, disolver, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Transferir 10,0 ml de la *Solución estándar* y 10,0 ml de la *Solución muestra* a sendos erlenmeyers de 50 ml, agregar 10,0 ml de *Solución de molibdato ácido* y 5,0 ml de la *Solución de sulfato ferroso* a cada erlenmeyer y mezclar. Determinar en sucesión inmediata las absorbancias de las soluciones, en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 700 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando una mezcla de 10,0 ml de agua, 10,0 ml de *Solución de molibdato ácido* y 5,0 ml de *Solución de sulfato ferroso* como blanco: la absorbancia de la solución obtenida a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la absorbancia de la solución obtenida a partir de la *Solución estándar* (1 %).

Sustancias relacionadas

[NOTA: realizar este ensayo de manera que todas las soluciones estén protegidas de la luz actínica, empleando preferentemente material de vidrio inactivo.]

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 266 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Preparar una mezcla de 850 ml de fosfato monobásico de potasio 0,054 M con 150 ml de metanol. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar A - Pesar alrededor de 60 mg de Riboflavina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 250 ml, disolver cuidadosamente en 1 ml de ácido clorhídrico, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 4 ml a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución estándar B - Pesar alrededor de 100 mg de 5'-Fosfato Sódico de Riboflavina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en 50 ml de agua, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Transferir 8 ml a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de 5'-Fosfato Sódico de Riboflavina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en 50 ml de agua, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Transferir 8 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema - Cromatografiar la *Solución estándar B* y registrar las respuestas de los picos. Continuar la cromatografía durante dos veces el tiempo de retención de 5'-monofosfato de riboflavina. Los tiempos de retención relativos de los restantes componentes a 5'-monofosfato de riboflavina deben ser aproximadamente:

<i>Sustancia relacionada</i>	<i>Tiempo de retención relativo</i>
3'4'-Difosfato de riboflavina	0,2
3'5'-Difosfato de riboflavina	0,3
4'5'-Difosfato de riboflavina	0,5
3'-Monofosfato de riboflavina	0,7
4'-Monofosfato de riboflavina	0,9
5'-Monofosfato de riboflavina	1,0
Riboflavina	1,6

La resolución *R* entre los picos de 4'-monofosfato de riboflavina y de 5'-monofosfato de riboflavina no debe ser menor de 1,5; y la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,5 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 100 µl) de la *Solución estándar A*, la *Solución muestra* y la *Solución estándar B*. El tiempo de retención de 5'-monofosfato de riboflavina es aproximadamente de 20 minutos. Calcular el porcentaje de riboflavina libre y de riboflavina en forma de difosfatos de riboflavina, a partir de las respuestas de los picos en los cromatogramas obtenidos con la *Solución muestra* y la cantidad de riboflavina en la *Solución estándar A*. El contenido de riboflavina libre no debe ser mayor de 6,0 % y el contenido de riboflavina en forma de difosfatos de

riboflavina no debe ser mayor de 6,0 %, ambos calculados con respecto a la sustancia seca.

Límite de lumiflavina

Agitar 20 ml de cloroformo con 20 ml de agua durante 3 minutos, extraer la capa clorofórmica y lavar dos veces más con porciones de 20 ml de agua. Finalmente filtrar el cloroformo a través de un papel de filtro seco, agitarlo durante 5 minutos con 5 g de sulfato de sodio anhidro pulverizado, dejar reposar la mezcla durante 2 horas y decantar o filtrar el cloroformo transparente. [NOTA: preparar el cloroformo libre de alcohol inmediatamente antes de usar.]

Procedimiento - Agitar 35 mg de 5'-Fosfato Sódico de Riboflavina con 10 ml del cloroformo libre de alcohol durante 5 minutos y filtrar: la absorbancia del filtrado obtenido, determinada en celdas de 1 cm a una longitud de onda de 440 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando cloroformo libre de alcohol como blanco, no debe ser mayor de 0,025.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío sobre pentóxido de fósforo a 100 °C durante 5 horas: no debe perder más de 7,5 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

[NOTA: realizar este ensayo de manera que todas las soluciones estén protegidas de la luz actínica, empleando preferentemente material de vidrio inactivo].

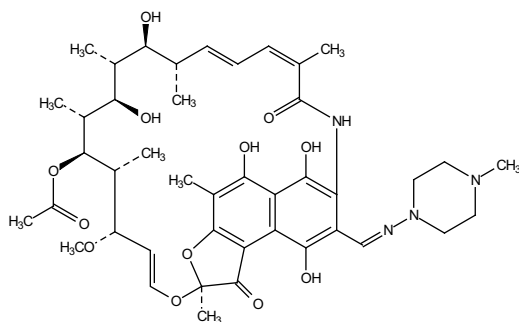
Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 35 mg de Riboflavina SR-FA, transferir a un erlenmeyer de 250 ml, agregar 20 ml de piridina y 75 ml de agua y disolver agitando. Transferir la solución a un matraz aforado de 1.000 ml, diluir a volumen con agua y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un segundo matraz aforado de 1.000 ml, agregar ácido sulfúrico 0,1 N suficiente (aproximadamente 4 ml) hasta alcanzar un pH entre 5,9 y 6,1; completar a volumen con agua y mezclar para obtener una solución de 0,35 µg de riboflavina por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de 5'-Fosfato Sódico de Riboflavina, transferir a un erlenmeyer de 250 ml, agregar 20 ml de piridina y 75 ml de agua y disolver con agitación. Transferir la solución a un matraz aforado de 1.000 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un segundo matraz aforado de 1.000 ml, agregar ácido sulfúrico 0,1 N suficiente (aproximadamente 4 ml) hasta

alcanzar un pH final entre 5,9 y 6,1; completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Con un fluorómetro apropiado, determinar las máximas intensidades de fluorescencia aproximadamente a 530 nm, empleando una longitud de onda de excitación de aproximadamente 440 nm. Calcular la cantidad de $C_{17}H_{20}N_4O_6$ (riboflavina) en la porción de 5'-Fosfato Sódico de Riboflavina en ensayo, a partir de las máximas intensidades de fluorescencia obtenidas con la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*.

RIFAMPICINA



C₄₃H₅₈N₄O₁₂ PM: 822,9 13292-46-1

Definición - Rifampicina es 3-[[[4-Metil-1-piperazinil)imino]metil]-rifamicina. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de C₄₃H₅₈N₄O₁₂, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino rojopardusco o pardo-rojizo. Fácilmente soluble en cloroformo; soluble en acetato de etilo y metanol; muy poco soluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancias de referencia - Rifampicina SR-FA. Quinona de Rifampicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto, en un sitio fresco.

ENSAYOS

Identificación

Absorción Infrarroja <460>. *En suspensión.*

Cristalinidad - Colocar partículas de Rifampicina en aceite mineral, sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas deben presentar birrefringencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 6,5, determinado sobre una suspensión 1 en 100.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Solución reguladora de fosfato, Fase móvil, Diluyente, Solución de resolución y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución madre de la muestra - Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Rifampicina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en ace-

tonitrilo, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Sonicar durante aproximadamente 30 segundos para disolver. [NOTA: emplear esta solución dentro de las 2 horas de preparación].

Solución muestra - Transferir 5,0 ml de la *Solución madre de la muestra* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. [NOTA: preparar esta solución inmediatamente antes de su uso].

Solución muestra diluida - Transferir 10,0 ml de la *Solución madre de la muestra* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con acetonitrilo y mezclar. Transferir 5,0 ml de la solución resultante a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con acetonitrilo y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a otro matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. [NOTA: preparar esta dilución final inmediatamente antes de su uso].

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 µl) de la *Solución muestra* y la *Solución muestra diluida*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cada sustancia relacionada en la porción de Rifampicina en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$r_{Ti}/(r_D + 0,01\Sigma r_{Ti})$$

en la cual r_{Ti} es la respuesta del pico de cada sustancia relacionada en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, r_D es la respuesta del pico de rifampicina en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra diluida* y Σr_{Ti} es la suma de las respuestas de todos los picos de las sustancias relacionadas, obtenidos en el cromatograma de la *Solución muestra*: no debe contener más de 1,5 % de quinona de rifampicina; no más de 1,0 % de cualquier otra sustancia relacionada individual; y la suma de todas las sustancias relacionadas, a excepción de la quinona de rifampicina, con tiempos de retención de hasta 3 veces el tiempo de retención de rifampicina no debe ser mayor de 3,5 %.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 60 °C durante 4 horas, aproximadamente 100 mg de Rifampicina en un recipiente con tapa provista con perforación capilar: no debe perder más de 2,0 % de su peso.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 10 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido partículas poro-

sas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Solución reguladora de fosfato - Disolver 136,1 g de fosfato monobásico de potasio en aproximadamente 500 ml de agua, agregar 6,3 ml de ácido fosfórico, diluir con agua a 1 litro y mezclar.

Fase móvil - Agua, acetonitrilo, *Solución reguladora de fosfato*, ácido cítrico 1,0 M y perclorato de sodio 0,5 M (51:35:10:2:2). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Diluyente - Agua, acetonitrilo, fosfato dibásico de potasio 1,0 M, fosfato monobásico de potasio 1,0 M y ácido cítrico 1,0 M (640:250:77:23:10).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 40 mg de Rifampicina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 200 ml, disolver y completar a volumen con acetonitrilo y mezclar. Sonicar durante aproximadamente 30 segundos, si fuera necesario, para disolver. [NOTA: emplear esta solución dentro de las 5 horas de su preparación]. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. [NOTA: preparar esta dilución final inmediatamente antes de su inyección en el cromatógrafo].

Preparación muestra - Emplear Rifampicina, proceder según se indica para *Preparación estándar*.

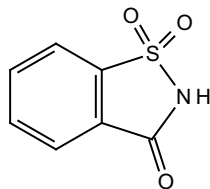
Solución de resolución - Disolver cantidades apropiadas de Rifampicina SR-FA y Quinona de Rifampicina SR-FA en acetonitrilo para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg de cada una por ml. Transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver *100. Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de quinona de rifampicina y rifampicina no debe ser menor de 4,0; los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,6 para quinona de rifampicina y 1,0 para rifampicina. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna determinada a partir del pico de rifampicina no debe ser menor de 1.000 platos teóricos; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la

cantidad en mg de C₄₃H₅₈N₄O₁₂ en la porción de Rifampicina en ensayo.

SACARINA



$C_7H_5NO_3S$ PM: 183,2 81-07-2

Definición - Sacarina es 1,2-benzisotiazol-3(2H)-ona-1,1-dióxido. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_7H_5NO_3S$ calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales incoloros o polvo cristalino blanco. Moderadamente soluble en agua a ebullición y alcohol; poco soluble en agua fría. Se disuelve en soluciones diluidas de hidróxidos y carbonatos alcalinos.

Sustancia de referencia - Sacarina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados a temperatura ambiente.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Una solución saturada de Sacarina preparada sin calentar debe colorear a rojo el papel de tornasol azul.

C - Mezclar 10 mg de Sacarina con 10 mg de *Resorcinol*, agregar 0,25 ml de ácido sulfúrico y calentar cuidadosamente la mezcla sobre la llama hasta que se produzca color verde oscuro. Dejar enfriar, agregar 10 ml de agua y solución de hidróxido de sodio al 8,5 % p/v hasta que se produzca una reacción alcalina: debe desarrollarse una intensa fluorescencia verde.

Ensayo de sustancias fácilmente carbonizables <350>

Disolver 200 mg de Sacarina en 5 ml de ácido sulfúrico comprendido entre 94,5 y 95,5 % y mantener a una temperatura comprendida entre 48 y 50 °C durante 10 minutos: el color de la solución no debe ser más intenso que el de la *Solución de comparación A*.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 226 y 230 °C.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 % a una temperatura de 600 ± 50 °C.

Límite de o- y p-toluensulfonamidas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama, un inyector de flujo dividido (1:2) y una columna de vidrio de 10 m \times 0,53 mm recubierta con una película de 2 μ m de espesor de una fase estacionaria constituida por polimetilfenil siloxano (que contiene 50 % de grupos metilos y 50 % de grupos fenilos). Mantener la columna, el inyector y el detector a aproximadamente 180, 250 y 250 °C, respectivamente. Se debe emplear nitrógeno como gas transportador con un caudal de aproximadamente 10 ml por minuto.

Solución del estándar interno - Disolver 25 mg de *Cafeína* en cloruro de metileno y diluir a 100 ml con el mismo solvente.

Solución estándar - Disolver 20 mg de o-toluensulfonamida y 20 mg de p-toluensulfonamida con cloruro de metileno y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con cloruro de metileno. Evaporar 5 ml de esta solución a sequedad bajo corriente de nitrógeno. Disolver el residuo en 1,0 ml de *Solución del estándar interno*.

Solución muestra - Suspender 10 g de Sacarina en 20 ml de agua y disolver empleando de 5 a 6 ml de hidróxido de sodio al 42 %. Ajustar la solución entre pH 7 y 8 con hidróxido de sodio 1 N y ácido clorhídrico 1 N si fuera necesario y diluir con agua a 50 ml. Agitar y realizar sucesivas extracciones con 4 porciones de 50 ml de cloruro de metileno. Combinar los extractos orgánicos, secar con sulfato de sodio anhidro y filtrar. Lavar el filtro y el sulfato de sodio con 10 ml de cloruro de metileno. Agregar el líquido de lavado a los extractos orgánicos, evaporar casi hasta sequedad en un baño de agua a una temperatura no mayor a 40 °C. Transferir cuantitativamente el residuo a un tubo de 10 ml con ayuda de una porción de cloruro de metileno, evaporar a sequedad bajo una corriente de nitrógeno y disolver el residuo en 1,0 ml de *Solución del estándar interno*.

Solución blanco - Evaporar 200 ml de cloruro de metileno hasta sequedad en un baño de agua a una temperatura no mayor a 40 °C y disolver el residuo en 1,0 ml de cloruro de metileno.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el orden de elución debe ser o-toluensulfonamida, p-toluensulfonamida y cafeí-

na; la resolución entre los picos de *o*-toluensulfonamida y *p*-toluensulfonamida no debe ser menor a 1,5.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 1 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales: la respuesta del pico de *o*-toluensulfonamida en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la respuesta del pico obtenido con la *Solución estándar*, ambas relativas a la *Solución del estándar interno* (10 ppm); la respuesta del pico de *p*-toluensulfonamida en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la respuesta del pico obtenido con la *Solución estándar*, ambas relativas a la *Solución del estándar interno* (10 ppm).

Límite de benzoato y salicilato

A 10 ml de una solución saturada y caliente de Sacarina agregar cloruro férrico (SR) gota a gota: no debe observarse precipitado ni color violeta.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

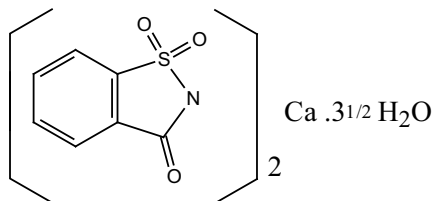
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Sacarina, disolver en 40 ml de alcohol, agregar 40 ml de agua, mezclar, agregar fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 18,32 mg de $C_7H_5NO_3S$.

SACARINA CÁLCICA



C₁₄H₈CaN₂O₆S₂ · 3 1/2 H₂O PM: 467,5 6381-91-5

Anhidro PM: 404,4 6485-34-3

Definición - Sacarina Cálctica es la Sal Cálctica de 1,2-benzisotiazol-3(2H)-ona, 1,1-dióxido, hidrato (2:7). Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de C₁₄H₈CaN₂O₆S₂, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino o cristales de color blanco. Inodoro o con un débil olor aromático. Es intensamente dulce, incluso en soluciones diluidas. Una solución diluida es aproximadamente 300 veces mas dulce que una de sacarosa. Fácilmente soluble en agua.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados a temperatura ambiente.

ENSAYOS

Identificación

A - Agregar 2 gotas de rojo de metilo (SR) a una solución de Sacarina Cálctica 1 en 10, neutralizar con hidróxido de amonio 6 N y agregar gota a gota ácido clorhídrico 3 N hasta viraje del indicador. Agregar oxalato de amonio (SR): se debe producir un precipitado blanco insoluble en ácido acético 6 N y soluble en a ácido clorhídrico.

B - Humedecer una porción de Sacarina Cálctica con ácido clorhídrico: se debe producir coloración transitoria roja amarillenta y brillante a la llama.

C - Una solución de Sacarina Cálctica al 10 % debe responder a los ensayos para *Calcio* <410>.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 15,0 %.

Ensayo de sustancias fácilmente carbonizables <350>

Debe cumplir con el requisito cuando se ensaya según se indica en 350. *Ensayo de sustancias fácilmente carbonizables* en *Sacarina*.

Límite de *o*- y *p*-toluensulfonamidas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 1,8 m × 3,2 mm rellena con un soporte de tierra silícea de malla 100 a 120, lavada con ácido y álcali, recubierta con 10 % de una fase líquida de 50 % de fenil silicona y 50 % de metilpolisiloxano. Mantener la columna, el inyector y el detector a 210, 225 y 250 °C, respectivamente. Emplear helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 30 ml por minuto.

Solución del estándar interno - Transferir 10 mg de *n*-tricosano a un matraz aforado de 10 ml, disolver en *n*-heptano, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Solución madre del estándar - Pesar exactamente 20 mg de *o*-toluensulfonamida y 20 mg de *p*-toluensulfonamida, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver con cloruro de metileno, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Soluciones estándar - Transferir 100, 150, 200 y 250 µl de *Solución madre del estándar* a sendos matraces aforados de 10 ml. Agregar a cada matraz 250 µl de *Solución del estándar interno* y completar a volumen con cloruro de metileno para obtener soluciones con las siguientes concentraciones:

Solución estándar	Concentración de cada isómero (mg por ml)
A	20
B	30
C	40
D	50

[NOTA: cada una de estas soluciones contiene además 25 µg de *n*-tricosano por ml.]

Solución muestra - Proceder según se indica en *Cromatografía de partición* en *Preparación de la columna* (ver 100. *Cromatografía*), empleando un tubo cromatográfico equipado con un disco de vidrio poroso en su base, un robinete en el tubo de salida y un reservorio en la parte superior. Agregar a la columna una mezcla de 10 g de soporte sólido y una solución preparada disolviendo 2 g de Sacarina Cálctica, exactamente pesados, en 8 ml de una solución de carbonato de sodio 1 en 20. Apisonar el contenido del tubo y tapar firmemente por la parte superior. Transferir 100 ml de cloruro de metileno al reservorio y ajustar el robinete para que 50 ml de eluyente sean recolectados en 20 a 30 minutos. Agregar 25 µl de *Solución del estándar interno* al eluyente, mezclar y concentrar a aproximadamente 1,0 ml.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: ajustar la sensibilidad del sistema de manera tal que la respuesta del pico obtenido a partir de la *Solución estándar* sea al menos el 50 % de la escala completa del registrador; los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,39 para *o*-toluensulfonamida, 0,46 para *p*-toluensulfonamida y 1,0 para *n*-tricosano.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 2,5 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Graficar las concentraciones de *o*- y *p*-toluensulfonamidas SR-FA en µg por ml de la *Solución estándar* frente a las respuestas de los picos correspondientes obtenidos con las *Soluciones estándar*, todas relativas al estándar interno y trazar la recta que mejor ajuste. Calcular la concentración de cada isómero en la *Solución muestra* en µg por ml: la suma de toluensulfonamidas en la porción de Sacarina Cálcica en ensayo no debe ser mayor a 0,0025 %.

Límite de metales pesados <590>

Método I. Disolver 4 g de Sacarina Cálcica en 46 ml de agua, agregar 4 ml de ácido clorhídrico diluido 1 en 12, mezclar y raspar la pared interna del recipiente con una varilla de vidrio hasta que comience la cristalización. Dejar reposar durante 1 hora, filtrar y descartar los primeros 10 ml del filtrado: no debe contener más de 0,001 %, determinado sobre 25 ml del filtrado.

Límite de benzoato y salicilato

Agregar 3 gotas de cloruro férrico (SR) a 10 ml de una solución de Sacarina Cálcica 1 en 20, previamente acidificada con 5 gotas de ácido acético 6 N: no se debe observar precipitado ni color violeta.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

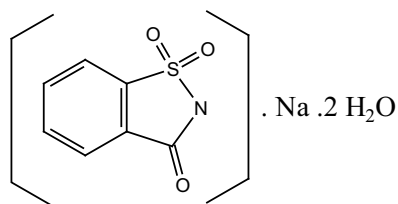
VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 150 mg de Sacarina Cálcica, disolver en 50 ml de ácido acético glacial y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 20,22 mg de $C_{14}H_8CaN_2O_6S_2$.

ROTULADO

Indicar en el rótulo la cantidad de Sacarina Cálcica de cualquier preparación que la contenga expresada como Sacarina ($C_7H_{14}NO_3S$).

SACARINA SÓDICA



$C_7H_4NNaO_3S \cdot 2H_2O$ PM: 241,2 6155-57-3

Anhidro PM: 205,2 128-44-9

Definición - Sacarina Sódica es la Sal sódica de 1,2-benzoisotiazol-3(2H)-ona, 1,1-dióxido, dihidrato. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_7H_4NNaO_3S \cdot 2H_2O$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o cristales incoloros. Eflorescente al aire seco. Fácilmente soluble en agua; moderadamente soluble en alcohol.

Sustancia de referencia - Sacarina Sódica SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados a temperatura ambiente.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460> *En fase sólida.*

[NOTA: secar la muestra entre 100 y 105 °C.]

B - Agregar 2 ml de carbonato de potasio al 15 % a una solución de Sacarina Sódica 1 en 10 y calentar a ebullición: no debe formarse precipitado. Agregar 4 ml de piroantimoniato de potasio (SR), calentar a ebullición, dejar enfriar en agua con hielo y, si fuera necesario, frotar el interior del tubo de ensayo con una varilla de vidrio: se debe formar un denso precipitado.

C - Debe responder a los ensayos a la llama para Sodio <410>.

Acidez o Alcalinidad

Disolver 1 g de Sacarina Sódica en 10 ml de agua libre de dióxido de carbono, agregar 1 gota de fenolftaleína (SR): no debe producirse color rosa. Agregar 1 gota de hidróxido de sodio 0,1 N: se debe producir color rosa.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 15,0 %.

Ensayo de sustancias fácilmente carbonizables <350>

Debe cumplir con los requisitos cuando se ensaya según se indica en 350. *Ensayo de sustancias fácilmente carbonizable en Sacarina.*

Límite de o- y p-toluensulfonamidas

Sistema cromatográfico, Solución del estándar interno, Solución estándar, Solución blanco y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Límite de o- y p-toluensulfonamidas en Sacarina.*

Solución muestra - Disolver 10 g de Sacarina Sódica en 50 ml de agua. Ajustar el pH de la solución a un pH comprendido entre 7 u 8 con hidróxido de sodio 1 N o ácido clorhídrico 1 N, si fuera necesario. Agitar y realizar sucesivas extracciones con 4 porciones de 50 ml de cloruro de metileno. Combinar los extractos orgánicos, secar sobre sulfato de sodio anhidro y filtrar. Lavar el filtro y el sulfato de sodio con 10 ml de cloruro de metileno. Agregar el líquido de lavado a los extractos orgánicos, evaporar casi hasta sequedad en un baño de agua a una temperatura no mayor a 40 °C, transferir cuantitativamente el residuo a un tubo de 10 ml con ayuda de una porción de cloruro de metileno, evaporar hasta sequedad bajo una corriente de nitrógeno y disolver el residuo en 1,0 ml de *Solución del estándar interno.*

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 1 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales: la respuesta del pico de o-toluensulfonamida en el cromatograma obtenido con la *Solución muestra* no debe ser mayor que la respuesta del pico obtenido con la *Solución estándar*, ambas relativas a la *Solución del estándar interno* (10 ppm); la respuesta del pico de p-toluensulfonamida en el cromatograma obtenido con la *Solución muestra* no debe ser mayor que la respuesta del pico obtenido con la *Solución estándar*, ambas relativas a la *Solución del estándar interno* (10 ppm).

Límite de benzoato y salicilato

Agregar 3 gotas de cloruro férrico (SR) a 10 ml de una solución de Sacarina Sódica 1 en 20, previamente acidificada con 5 gotas de ácido acético 6 N: no se debe observar precipitado ni color violeta.

Límite de metales pesados <590>

Método I. Disolver 4 g de Sacarina Sódica en 46 ml de agua, agregar 4 ml de ácido clorhídrico 1 N, mezclar y raspar la pared interna del recipiente con una varilla de vidrio hasta que comience la cristalización. Dejar reposar la solución durante 1 hora y filtrar a través de un filtro seco descartando

los primeros 10 ml del filtrado. El límite es 0,001 %, determinado sobre 25 ml de filtrado.

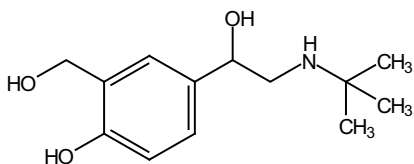
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 150 mg de Sacarina Sódica, disolver en 50 ml de ácido acético glacial con la ayuda de calentamiento suave, si fuera necesario, y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 20,52 mg de $C_7H_4NNaO_3S$.

SALBUTAMOL



$C_{13}H_{21}NO_3$ PM: 239,3 18559-94-9

Sinonimia - Albuterol.

Definición - Salbutamol es α^1 -[(*tert*-Butil-amino)metil]-4-hidroxi-*m*-xileno- α,α' -diol. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{13}H_{21}NO_3$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco. Soluble en alcohol; moderadamente soluble en agua. Funde aproximadamente a 156 °C, con descomposición.

Sustancia de referencia - Salbutamol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: ácido clorhídrico 0,1 N.

Concentración: 80 μ g por ml.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,5 %.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Metil isobutil cetona, alcohol isopropílico, acetato de etilo, agua e hidróxido de amonio (50: 45: 35: 18: 3).

Solución estándar - Disolver una porción exactamente pesada de Salbutamol SR-FA en metanol para obtener una solución de aproximadamente 0,10 mg por ml.

Solución muestra - Disolver una porción exactamente pesada de Salbutamol en metanol para obtener una solución de aproximadamente 20 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución estándar* y 10 μ l de la

Solución muestra. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar evaporar. Exponer la placa a vapores de yodo y localizar las manchas: a excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ninguna mancha debe ser mayor en tamaño e intensidad que la mancha obtenida con la *Solución estándar* (0,5 %) No debe contener más de 2,0 % de impurezas totales.

Límite de cetona de salbutamol

Disolver 50 mg de Salbutamol en una solución de ácido clorhídrico al 0,1 % y diluir a 25 ml con la misma solución: la absorbancia de esta solución medida a 310 nm no debe ser mayor de 0,10. El límite es 0,2 %.

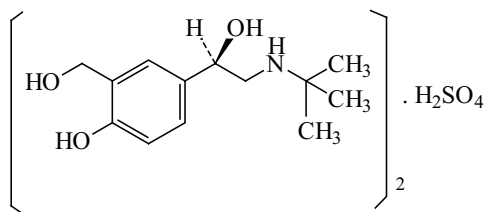
Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 400 mg de Salbutamol, disolver en 50 ml de ácido acético glacial, agregar 2 gotas de cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 23,93 mg de $C_{13}H_{21}NO_3$.

SALBUTAMOL, SULFATO DE



$C_{26}H_{44}N_2O_{10}S$

PM: 576,7

Sinonimia - Sulfato de Albuterol.

Definición - Sulfato de Salbutamol es Sulfato de bis[(1*RS*)-2-(*terc*-butilamino)-1-[4-hidroxi-3-(hidroximetil)fenil]etanol]. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{26}H_{44}N_2O_{10}S$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en agua; muy poco soluble en alcohol y en cloruro de metileno.

Sustancias de referencia - Sulfato de Salbutamol SR-FA. Impureza B de Salbutamol SR-FA: (1*RS*)-2-[(1,1-dimetiletil)amino]-1-(4-hidroxifenil)etanol. Impureza D de Salbutamol SR-FA: 5-[(1*RS*)-2-[(1,1-dimetiletil)amino]-1-hidroxietil]-2-hidroxibenzaldehído. Impureza F de Salbutamol SR-FA: 1,1'-[oxibis[metilen(4-hidroxi-1,3-fenil)]]bis[2-[(1,1-dimetiletil)amino]etanol]. Impureza G de Salbutamol SR-FA: 2-[bencil(1,1-dimetiletil)amino]-1-[4-hidroxi-3-(hidroximetil)fenil]etanol.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: ácido clorhídrico 0,1 N.

Concentración: 80 μ g por ml.

C - Debe responder a los ensayos para Sulfatos <410>.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre - 0,10 y +0,10°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en agua libre de dióxido de carbono.

Acidez o alcalinidad

Disolver 250 mg de Sulfato de Salbutamol en agua libre de dióxido de carbono y diluir a 25 ml

con el mismo solvente. A 10 ml de esta solución, agregar 0,15 ml de rojo de metilo (SR1) y 0,2 ml de hidróxido de sodio 0,01 N: la solución debe desarrollar color amarillo. No se deben requerir más de 0,4 ml de ácido clorhídrico 0,01 N para hacer virar a rojo el color del indicador.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 220 nm y una columna de 15 cm \times 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano totalmente encapado, químicamente unido a partículas esféricas, porosas de sílice de 5 μ m de diámetro, con una superficie específica de 335 m²/g, un tamaño de poro de 10 nm y una carga de carbono del 11,7 %. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución reguladora de pH 3,7 - Preparar una solución de heptanosulfonato de sodio de aproximadamente 2,87 g por litro y fosfato monobásico de potasio de aproximadamente 2,5 g por litro. Ajustar a pH 3,7 con ácido fosfórico diluido.

Fase móvil - Solución reguladora de pH 3,7 y acetonitrilo (78:22). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*)

Solución muestra - Disolver 100 mg de Sulfato de Salbutamol, exactamente pesados, en *Fase móvil* y diluir a 50,0 ml con el mismo solvente.

Solución estándar - Disolver 2,4 mg de Sulfato de Salbutamol SR-FA, 2,0 mg de Impureza B de Salbutamol SR-FA, 3,0 mg de Impureza D de Salbutamol SR-FA, 3,0 mg de Impureza F de Salbutamol SR-FA y 3,0 mg de Impureza G de Salbutamol SR-FA exactamente pesados, en *Fase móvil* y diluir a 10,0 ml con el mismo solvente. Diluir 2 ml de esta solución a 100,0 ml con *Fase móvil*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en Procedimiento: la resolución *R* entre los picos de salbutamol y el pico adyacente, correspondiente a impureza B de salbutamol, que eluye con un tiempo de retención relativo de aproximadamente 1,3 no debe ser menor de 3,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. Registrar el cromatograma de la *Solución muestra* durante al menos 25 veces el tiempo de retención de salbutamol (aproximadamente 1,9 minutos) y medir las respuestas de todos los picos. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, identificar las impurezas que pudieran estar presentes, por sus tiempos de reten-

ción relativos a salbutamol, según se indica a continuación:

Impureza	Tiempo de retención relativo
Impureza B	1,3
[5-[(1RS)-2-[(1,1-dimetiletil)amino]-1-metoxietil]-2-hidroxifenil]metanol (Impureza A)	1,7
(1RS)-2-[(1,1-dimetiletil)amino]-1-(4-hidroxí-3-metilfenil)etanol (Impureza C)	2,0
Impureza D	2,7
4-[2-[(1,1-dimetiletil)amino]etil]-2-metilfenol (Impureza H)	3,0
(1RS)-2-[bencil(1,1-dimetiletil)amino]-1-[4-hidroxí-3-(hidroximetil)fenil]etanol (Impureza E)	3,1
Impureza G	4,1
Impureza F	6,2
(1RS)-2-[(1,1-dimetiletil)amino]-1-[3-(hidroximetil)-4-benciloxifenil]etanol (Impureza I)	23,2

En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* las respuestas de los picos correspondientes a impureza D, F, y G no deben ser, cada una de ellas, mayores que las respuestas de los picos con los mismos tiempos de retención, en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar* (0,3 %). La respuesta de ninguna otra impureza individual en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, debe ser mayor a 1,5 veces la respuesta del pico correspondiente a salbutamol en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar* (0,3 %). La suma de las respuestas de todos los picos no debe ser mayor de 1,0 %. Ignorar cualquier pico con una respuesta menor de 0,05 %.

Límite de cetona de salbutamol

Disolver 60 mg de Sulfato de Salbutamol en una solución de ácido clorhídrico al 0,1 % y diluir a 25 ml con la misma solución: la absorbancia de esta solución medida a 310 nm no debe ser mayor de 0,10. El límite es 0,2 %.

Límite de Boro

Solución muestra - Pesar aproximadamente 50,0 mg de Sulfato de Salbutamol, agregar 5,0 ml de una solución de carbonato de sodio anhidro al 1,3 % y carbonato de potasio al 1,7 %. Evaporar a sequedad en un baño de agua y secar a 120 °C. Calcinar rápidamente el residuo hasta destruir la materia orgánica, dejar enfriar y agregar 0,5 ml de agua y 3,0 ml de una solución de curcumina en ácido acético glacial al 0,125 %, preparada recién-

temente. Calentar suavemente para facilitar la disolución, dejar enfriar y agregar 3,0 ml de una mezcla preparada, agregando con agitación y lentamente, 5,0 ml de ácido sulfúrico a 5,0 ml de ácido acético glacial. Mezclar y dejar en reposo durante 30 minutos. Diluir a 100,0 ml con alcohol, filtrar y emplear el filtrado.

Solución estándar - Disolver 572 mg de ácido bórico en 1 litro de agua. Diluir 1,0 ml de esta solución a 100,0 ml con agua. A 2,5 ml de esta solución agregar 5,0 ml de una solución de carbonato de sodio anhidro al 1,3 % y carbonato de potasio al 1,7 % y proceder con esta mezcla según se indica para *Solución muestra* comenzando donde dice "Evaporar a sequedad...".

Procedimiento - Examinar la *Solución muestra* y la *Solución estándar* a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 555 nm (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*): la absorbancia de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la de la *Solución estándar*. El límite es 50 ppm.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

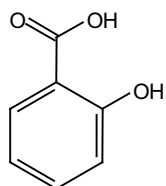
Pérdida por secado <680>

Secar entre 100 y 105 °C: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar Exactamente alrededor de 400,0 mg de Sulfato de Salbutamol, disolver en 5,0 ml de ácido fórmico y agregar 30,0 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 57,67 mg de C₂₆H₄₄N₂O₁₀S.

SALICÍLICO, ÁCIDO



C₇H₆O₃

PM: 138,1

69-72-7

Definición - Ácido Salicílico es Ácido 2-hidroxibenzoico. Debe contener no menos de 99,5 por ciento y no más de 101,0 por ciento de C₇H₆O₃, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales aciculares blancos o polvo cristalino. Estable al aire. La forma sintética es blanca e inodora. Fácilmente soluble en alcohol y éter; soluble en agua a ebullición; moderadamente soluble en cloroformo; poco soluble en agua.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe responder a los ensayos para *Salicilato* <410>.

B - Determinación del punto de fusión <260>. Entre 158 y 161 °C.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 270 nm y una columna de 15 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 0,5 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, metanol y ácido acético glacial (60:40:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar A - Preparar una solución de fenol en *Fase móvil* de aproximadamente 0,1 mg por ml.

Solución estándar B - Preparar una solución de ácido 4-hidroxiisofáltico en *Fase móvil* de aproximadamente 0,25 mg por ml.

Solución estándar C - Preparar una solución de 4-hidroxibenzoico en *Fase móvil* de aproximadamente 0,5 mg por ml.

Solución estándar D - Diluir 1,0 ml de la *Solución estándar A* a 10,0 ml con *Fase móvil*.

Solución estándar E - Diluir una mezcla de 1,0 ml de cada una de las *Soluciones estándar A, B y C* a 10,0 ml con *Fase móvil*.

Solución estándar F - Diluir una mezcla de 0,1 ml de cada una de las *Soluciones estándar A, B y C* a 10,0 ml con *Fase móvil*.

Solución muestra - Preparar una solución de Ácido Salicílico en *Fase móvil* de aproximadamente 5 mg por ml.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar 10 µl de la *Solución estándar D* y 10 µl de la *Solución estándar E*, registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos al fenol deben ser aproximadamente 0,62 para el ácido 4-hidroxibenzoico y 0,90 para el ácido 4-hidroxiisofáltico. El ensayo no es válido a menos que en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar E*, el segundo pico corresponda al pico de fenol en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar D* y la resolución *R* entre los picos de ácido 4-hidroxiisofáltico y fenol sea mayor o igual a 1,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar F*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. En el cromatograma obtenido con la *Solución muestra* las respuestas de los picos debidos al ácido 4-hidroxibenzoico, ácido 4-hidroxiisofáltico y fenol no deben ser mayores que las respuestas de los picos correspondientes en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar F* (0,1 % para el ácido 4-hidroxibenzoico, 0,05 % para el ácido 4-hidroxiisofáltico y 0,02 % para el fenol). La respuesta de cualquier otro pico no debe ser mayor que la respuesta del pico del ácido 4-hidroxiisofáltico en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar F* (0,05 %) y a excepción del pico principal, la suma de las respuestas de todos los picos no debe ser mayor de dos veces la respuesta del pico del ácido 4-hidroxibenzoico en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar F* (0,2 %).

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,05 %.

Sulfato

Disolver 1,0 g de Ácido Salicílico en 5 ml de dimetilformamida, agregar 4 ml de agua y mezclar. Agregar 0,2 ml de ácido clorhídrico diluido y 0,5 ml de una solución de cloruro de bario 1 en 4. Luego de 15 minutos, cualquier opalescencia de la solución no debe ser más intensa que la de una solución estándar preparada del siguiente modo: a 2 ml de una solución

patrón de sulfato de potasio con una concentración de 181 µg por ml, equivalente a 100 µg de sulfato por ml, agregar 0,2 ml de ácido clorhídrico diluido, 0,5 ml de solución de cloruro de bario 1 en 4, 3 ml de agua y 5 ml de dimetilformamida (0,02 %).

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Calentar 1,5 g de Ácido Salicílico con 75 ml de agua hasta disolución, enfriar, agregar agua para restaurar el volumen original y filtrar: una porción de 25 ml del filtrado no debe presentar más cloruro que el correspondiente a 0,10 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,014 %).

Límite de metales pesados <590>

Disolver 1,0 g de Ácido Salicílico en 25 ml de acetona y agregar 2 ml de agua. Agregar 1,2 ml de glicerina-tioacetamida básica (SR) y 2 ml de *Solución reguladora de acetato pH 3,5*. Dejar en reposo durante 5 minutos: cualquier color producido no debe ser más oscuro que el de una solución control preparada con 25 ml de acetona y 2 ml de *Solución estándar de plomo (10 ppm)* tratada de la misma manera: no debe contener más de 20 µg por g.

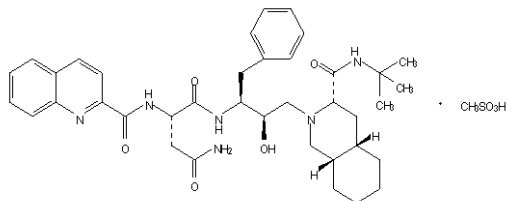
Pérdida por secado <680>

Secar sobre gel de sílice durante 3 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Ácido Salicílico, disolver en 25 ml de alcohol diluido previamente neutralizado con hidróxido de sodio 0,1 N, agregar fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 13,81 mg de $C_7H_6O_3$.

SAQUINAVIR, MESILATO DE



$C_{38}H_{50}N_6O_5 \cdot CH_4O_3S$ PM: 767,0 149845-06-7

Definición - Mesilato de Saquinavir es Mono-metansulfonato de [3S-[2[1R*(R*),2S*]3 α ,4 α β ,8 α β]]N¹[3-[3-[[[1,1-dimetiletil]amino]carbonil]octahidro-2(1H)-isoquinolinil]-2-hidroxi-1-(fenilmetil)propil]-2-[(2-quinolinilcarbonil)amino]butanodiamida. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{38}H_{50}N_6O_5 \cdot CH_4O_3S$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo muy fino, blanco o casi blanco. Muy soluble en agua.

Sustancias de referencia - Mesilato de Saquinavir SR-FA. Impureza A de Saquinavir SR-FA: N-terbutil-decahidro-2-[2(R)-hidroxi-4-fenil-3(S)-[[N-(2-quinolinilcarbonil)-D-asparaginil]amino]butil]-(4aS,8aS)-isoquinolin-3(S)-carboxamida.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: metanol.

Concentración: 12 μ g por ml.

C - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Preparación estándar*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -66,8° y -69,6°; a 436 nm y 20 °C.

Solución muestra: 5 mg por ml en metanol.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 1,0 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Método I. Preparar la *Solución muestra* disolviendo 2,5 g de Mesilato de Saquinavir en 50 ml de una mezcla de alcohol y agua (7:1). No más de 0,002 %.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico, Solución de fosfato de trietilamina, Fase móvil, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Emplear la *Preparación estándar* según se indica en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Mesilato de Saquinavir en ensayo, relacionando la respuesta del pico de cada impureza en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* y la respuesta del pico de saquinavir en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar*. Multiplicar la respuesta del pico de cada impureza por el factor de corrección *F* según corresponda, *F* igual a 2,0 para el pico que eluya a un tiempo de retención relativo al saquinavir de aproximadamente 0,32 e igual a 0,5 para los picos que eluyan a tiempos de retención relativos de aproximadamente de 0,38 y 0,53. No debe contener más de 0,1 % de cualquier impureza individual y no más de 0,5 % de impurezas totales.

VALORACIÓN

Sistema Cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 210 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. Mantener la columna aproximadamente a 20 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1 ml por minuto.

Solución de fosfato de trietilamina - Transferir aproximadamente 10 ml de trietilamina a un matraz aforado de 1 litro, completar a volumen con agua y mezclar. Ajustar a pH 2,5 con ácido fosfórico y filtrar.

Fase móvil - Solución de fosfato de trietilamina, tetrahidrofurano y acetonitrilo (14:5:1). Filtrar y desgasificar. [NOTA: proteger de la luz]. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de aptitud del sistema - Disolver cantidades apropiadas de Impureza A de Saquinavir SR-FA y Mesilato de Saquinavir SR-FA en *Fase*

móvil para obtener una solución de aproximadamente 2 µg y 0,25 mg por ml, respectivamente.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Mesilato de Saquinavir SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,25 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 12,5 mg de Mesilato de Saquinavir, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver y completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar durante 20 minutos.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,89 para impureza A de saquinavir y 1,0 para saquinavir; la resolución *R* entre los picos de impureza A de saquinavir y saquinavir no debe ser menor de 1,5. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 500 platos teóricos; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{38}H_{50}N_6O_5 \cdot CH_4O_3S$ en la porción de Mesilato de Saquinavir en ensayo.

SÉSAMO, ACEITE DE

Definición - Aceite de Sésamo es el aceite fijo refinado obtenido a partir de las semillas de *Sesamum indicum* Linneo (Fam. Pedaliaceae) o sus variedades de cultivo y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido oleoso, amarillo pálido. Prácticamente inodoro y de sabor suave. Miscible con éter, cloroformo, éter de petróleo y disulfuro de carbono. Poco soluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto. Evitar la exposición al calor excesivo.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Composición de Triacilglicéridos*. La respuesta de los picos de los ocho principales triacilglicéridos, LLL, OLL, PLL, OOL, POL, OOO, EOL y POO en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar al indicado en la tabla de referencia.

Determinación de la densidad relativa <160>
Entre 0,916 y 0,921.

Determinación de la temperatura de solidificación de ácidos grasos <480>
Una mezcla de ácidos grasos secos debe solidificarse a una temperatura comprendida entre 20 °C y 25 °C.

Determinación del índice de acidez <480>
Los ácidos grasos libres presentes en 10 g de Aceite de Sésamo no deben consumir más de 2,0 ml de hidróxido de sodio 0,02 N.

Determinación del índice de yodo <480>
Entre 103 y 116.

Determinación del índice de saponificación <480>
Entre 188 y 195.

Materia insaponificable <480>
No más de 1,5 %.

Límite de metales pesados <590>
Método II. No más de 0,001 %.

Aceite de semilla de algodón

Transferir 5 ml de Aceite de Sésamo a un tubo de ensayo que contenga 5 ml de una mezcla de alcohol amílico y una solución de azufre en disulfuro de carbono al 1 % (50:50), mezclar y calentar suavemente para eliminar el disulfuro de carbono [NOTA: no usar la llama]. Sumergir el tubo hasta un tercio de su lon-

gitud en una solución saturada de cloruro de sodio en ebullición: la mezcla obtenida no debe desarrollar color rojizo durante no menos de 15 minutos.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

Composición de Triacilglicéridos

[NOTA: los radicales de los ácidos grasos son designados como linoléico (L), oleico (O), palmítico (P) y esteárico (E), y la abreviación usada para designar triacilglicéridos es: trilinoleína (LLL), 1,2-dilinoil-3-oleoil-rac-glicerol (OLL), 1,2-dilinoil-3-palmitoil-rac-glicerol (PLL), 1,2-dioleoil-3-linoleoil-rac-glicerol (OOL), 1-palmitoil-2-oleoil-3-linoil-rac-glicerol (POL), trioleína (OOO), 1-linoleoil-2-oleoil-3-estearil-rac-glicerol (EOL) y 1,2-dioleoil-3-palmitoil-rac-glicerol (POO)].

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector de índice de refracción y dos columnas en serie de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de 3 a 10 µm de diámetro. Mantener las columnas a una temperatura constante de aproximadamente 30 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo y cloruro de metileno (60:40). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Aceite de Sésamo, transferir a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución de aptitud del sistema - Pesar exactamente alrededor de 30 mg de OOL y 30 mg de POL, transferir a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,93 para OOL y 1,0 para POL; la resolución *R* entre los picos de OOL y POL no debe ser menor de 1,8; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas determinadas a partir de las respuestas de los picos no debe ser mayor de 1,5 % y la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas determinada a partir de la relación de las respuestas de los picos de OOL y POL no debe ser mayor de 2,2 %.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 20 µl de *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los ocho

picos principales de triacilglicéridos. El tiempo de elusión debe ser menor de 40 minutos y los tiempos de retención relativos se indican en la tabla siguiente:

Triglicérido	Tiempo de retención relativo	Composición (%)
LLL	0,55	7,0 a 19,0
OLL	0,65	13,0 a 30,0
PLL	0,69	5,0 a 9,0
OOL	0,77	14,0 a 25,0
POL	0,82	8,0 a 16,0
OOO	0,93	5,0 a 14,0
EOL	0,97	2,0 a 8,0
POO	1,00	2,0 a 8,0

Calcular el contenido de cada triacilglicérido en la porción de aceite de sésamo en ensayo, en relación la suma de las respuestas de todo los picos, excepto la respuesta del pico del solvente.

SILICIO, DIÓXIDO DE

SiO₂ · xH₂O

Anhidro

PM: 60,1

Definición - Dióxido de Silicio se obtiene insolubilizando sílice disuelta en una solución de silicato de sodio. Cuando es obtenido mediante el agregado de silicato de sodio a un ácido mineral, el producto se denomina gel de sílice; y cuando es obtenida mediante desestabilización de una solución de silicato de sodio de manera tal que se produzcan partículas muy finas, el producto se denomina sílice precipitada. Dióxido de Silicio, previamente calcinado a 1.000 °C durante dos horas, debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 100,5 % de SiO₂ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo amorfo blanco, higroscópico. El diámetro promedio de las partículas varía entre 2 y 10 µm. Soluble en soluciones calientes de hidróxidos alcalinos; insoluble en agua, alcohol, otros solventes orgánicos y ácidos (excepto fluorhídrico).

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto, protegido de la humedad.

ENSAYOS

Identificación

Transferir aproximadamente 5 mg de Dióxido de Silicio a un crisol de platino, mezclar con 200 mg de carbonato de potasio anhidro, someter a ignición sobre un mechero hasta obtener color rojo durante 10 minutos y enfriar. Disolver en 2 ml de agua recientemente destilada, calentar si fuera necesario, y agregar lentamente 2 ml de molibdato de amonio (SR): se debe producir color amarillo intenso.

Determinación del pH <250>

Preparar una suspensión de Dióxido de Silicio al 5 %: el pH debe estar comprendido entre 4 y 8.

Pérdida por calcinación <670>

Calcinar aproximadamente 1 g de Dióxido de Silicio exactamente pesado, a 1.000 ± 25 °C durante 2 horas: no debe perder más de 15 % de su peso.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Calentar a ebullición 5 g de Dióxido de Silicio en 50 ml de agua con un refrigerante durante 2 horas, enfriar y filtrar. Una porción de 7 ml del filtrado no debe presentar más cloruro que el correspondiente a 1,0 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (1.000 ppm).

Sulfato - Una porción de 10 ml del filtrado obte-

nido en el ensayo para *Cloruro*, no debe presentar más sulfato que el correspondiente a 5,0 ml de ácido sulfúrico 0,020 N (5.000 ppm).

Límite de arsénico <540>

Método I. Transferir 4,0 g de Dióxido de Silicio a una cápsula de platino, agregar 5 ml de ácido nítrico y 35 ml de ácido fluorhídrico y evaporar en un baño de vapor. Enfriar, agregar 5 ml de ácido perclórico, 10 ml de ácido fluorhídrico y 10 ml de ácido sulfúrico y evaporar sobre una placa calefactora hasta la producción de gases densos. Enfriar, transferir cuidadosamente a un vaso de precipitado de 100 ml con la ayuda de algunos mililitros de ácido clorhídrico y evaporar hasta sequedad. Enfriar, agregar 5 ml de ácido clorhídrico, diluir con agua hasta aproximadamente 40 ml y calentar para disolver el residuo obtenido. Enfriar, transferir a un matraz aforado de 100 ml, diluir a volumen con agua y mezclar. Emplear 25,0 ml de esta solución como *Solución muestra*. El límite es 3 ppm.

Límite de metales pesados <590>

Método I. Transferir 16,7 ml de *Solución muestra* empleada en el ensayo de *Límite de arsénico* a un vaso de precipitado de 100 ml y neutralizar frente al papel de tornasol con hidróxido de amonio. Ajustar con ácido acético 6 N hasta obtener un pH comprendido entre 3 y 4. Filtrar, empleando papel de filtro de velocidad de filtrado media, lavar con agua hasta obtener un volumen de filtrado y lavados de 40 ml y mezclar. El límite es 30 ppm.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Dióxido de Silicio calcinado obtenido en el ensayo de *Pérdida por calcinación*, y transferir a un crisol de platino previamente pesado. Agregar 3 gotas de ácido sulfúrico y suficiente cantidad de alcohol para humedecer completamente la muestra. Agregar 15 ml de ácido fluorhídrico y evaporar hasta sequedad bajo campana de extracción, a una temperatura comprendida entre 95 y 105 °C [NOTA: evitar salpicaduras cerca del punto de sequedad]. Aumentar lentamente la temperatura hasta que todo el ácido se haya evaporado y calcinar a 1.000 ± 25 °C durante 30 minutos. Enfriar en un desecador y pesar. Si se observa residuo, repetir la operación, comenzando donde dice: "agregar 15 ml de ácido fluorhídrico...". La diferencia entre el peso final y el peso de la porción inicialmente calcinada es el peso de SiO₂ en la porción tomada.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si Dióxido de Silicio es gel de sílice o sílice precipitada.

SILICIO COLOIDAL, DIÓXIDO DE

SiO₂ PM: 60,1 7631-86-9

Sinonimia - Sílica.

Definición - Dióxido de Silicio Coloidal, previamente calcinado a 1.000 °C, debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de SiO y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo liviano, blanco, no arenoso de tamaño de partícula sumamente fino (aproximadamente 15 nm). Soluble en soluciones calientes de hidróxidos alcalinos; insoluble en agua, alcohol, otros solventes orgánicos y ácidos (excepto fluorhídrico).

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Proceder según se indica en el ensayo de *Identificación A* en *Dióxido de Silicio*.

B - [*Precaución : evitar el contacto con o-tolidina y realizar el ensayo bajo campana*]. Agregar 1 gota de la solución de silicomolibdato amarillo obtenido en el ensayo de *Identificación A* en un papel de filtro y evaporar el solvente. Agregar 1 gota de una solución saturada de o-toluidina en ácido acético glacial para reducir el silicomolibdato a azul de molibdeno y colocar el papel sobre hidróxido de amonio: se debe producir una mancha azul verdosa.

Determinación del pH <250>

Preparar una suspensión de Dióxido de Silicio Coloidal al 4 %: el pH debe estar comprendido entre 3,5 y 5,5.

Pérdida por calcinación <670>

Calcinar aproximadamente 1 g de Dióxido de Silicio Coloidal exactamente pesado a 1.000 ± 25 °C durante 2 horas: no debe perder más de 5,0 % de su peso.

Límite de arsénico <540>

Método I. Transferir 2,5 g de Dióxido de Silicio Coloidal a una crisol de platino, agregar 3 ml de ácido nítrico y 22 ml de ácido fluorhídrico y evaporar en un baño de vapor. Enfriar, agregar 3 ml de ácido perclórico, 7 ml de ácido fluorhídrico y 7 ml de ácido sulfúrico y evaporar sobre una placa calefactora hasta la producción de gases densos. Enfriar, transferir cuidadosamente a un vaso de precipitado de 100 ml con la ayuda de algunos mililitros de ácido clorhídrico y

evaporar hasta sequedad. Enfriar, agregar 5 ml de ácido clorhídrico, diluir con agua hasta aproximadamente 40 ml y calentar para disolver el residuo obtenido. Enfriar, transferir a un matraz aforado de 100 ml, diluir a volumen con agua y mezclar. Emplear 15,0 ml de esta solución como *Solución muestra*. El límite es 8 ppm.

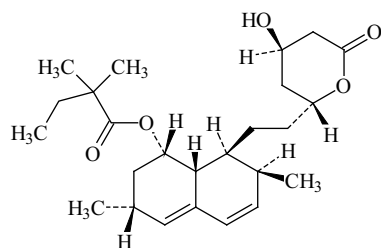
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Proceder según se indica en *Valoración en Dióxido de Silicio*.

SIMVASTATINA



$C_{25}H_{38}O_5$ PM: 418,6 79902-63-9

Definición - Simvastatina es [1*S*-[1*α*,3*α*,7*β*,8*β*(2*S**,4*S**),8*αβ*]] Ácido 2,2-dimetil-butanoico 1,2,3,7,8,8*α*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-(tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il)etil]-1-naftalenil éster. Puede contener un antioxidante apropiado. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{25}H_{38}O_5$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en cloroformo, metanol y alcohol; moderadamente soluble en propilenglicol; muy poco soluble en hexano; prácticamente insoluble en agua.

Sustancias de referencia - Simvastatina SR-FA. Lovastatina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados bajo atmósfera de nitrógeno.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*.

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: acetonitrilo.

Concentración: 10 µg por ml.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +285° y +298°.

Solución muestra: 5 mg por ml, en acetonitrilo.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromato-

grafía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor, previamente lavada con metanol y seca al aire.

Fase móvil - Ciclohexano, cloroformo y alcohol isopropílico (5:2:1), conteniendo 0,5 mg de butilhidroxitolueno por ml.

Diluyente - Preparar una solución de butilhidroxitolueno en acetonitrilo de aproximadamente 0,5 mg por ml.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Simvastatina SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,2 mg por ml. Diluir la *Solución estándar* con *Diluyente* para obtener las *Soluciones estándar A, B y C* según se indica a continuación.

<i>Solución estándar</i>	<i>Dilución</i>
A	4 en 10
B	2 en 10
C	1 en 10

Solución muestra - Disolver una cantidad exactamente pesada de Simvastatina en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 20 mg por ml.

Revelador - Metanol y ácido sulfúrico (8:2).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 4 µl de la *Solución estándar*, 4 µl de las *Soluciones estándar A, B y C* y 4 µl de la *Solución muestra*. Secar las aplicaciones con la ayuda de una corriente de nitrógeno y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar evaporar bajo una corriente de nitrógeno. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*, calentar a 110 °C durante 30 minutos y examinar la placa de inmediato: a excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ninguna mancha debe ser mayor en tamaño o intensidad que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A* (0,4 %) y la suma de todas las manchas secundarias obtenidas a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor de 1,0 %.

Límite de Lovastatina

Emplear los cromatogramas de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* obtenidos en *Valoración* y calcular el porcentaje de lovastatina en la porción de Simvastatina en ensayo, relacionando las respuestas de los picos de lovastatina obtenidos a partir de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*. No debe contener más de 1 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 238 nm y una columna de 33 mm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 3 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo y ácido fosfórico diluido (1 en 1.000) (50:50). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Diluyente - Acetonitrilo y fosfato monobásico de potasio 0,01 M (60:40). Filtrar y ajustar a pH 4,0 con ácido fosfórico.

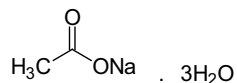
Preparación estándar - Disolver cantidades exactamente pesadas de Simvastatina SR-FA y Lovastatina SR-FA en *Diluyente* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, para obtener una solución de aproximadamente 0,3 mg y 0,003 mg de cada una por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 30 mg de Simvastatina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver con *Diluyente* y completar a volumen con el mismo solvente.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,65 para lovastatina y 1,0 para simvastatina; la resolución *R* entre los picos de simvastatina y lovastatina no debe ser menor de 3,0; la eficiencia de la columna no debe ser menor de 2.000 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 5 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₂₅H₃₈O₅ en la porción de Simvastatina en ensayo.

SODIO, ACETATO DE



$\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ PM: 136,1 6131-90-4

$\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$ PM: 82,0 127-09-3

Definición - Acetato de Sodio debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$, calculado sobre la sustancia seca. Acetato de Sodio puede contener tres moléculas de agua de hidratación o ser anhidro y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo granuloso cristalino o escamas blancas o cristales transparentes incoloros o blancos. Acetato de Sodio trihidrato es eflorescente al calor y al aire seco; muy soluble en agua; soluble en alcohol. Acetato de Sodio anhidro es higroscópico; muy soluble en agua; moderadamente soluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe responder a los ensayos para *Acetato* <410>.

B - Debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

Determinación del pH <250>

Preparar una solución de Acetato de Sodio en agua libre de dióxido de carbono que contenga el equivalente a 30 mg de Acetato de Sodio anhidro por ml: el pH de esta solución debe estar comprendido entre 7,5 y 9,2.

Pérdida por secado <680>

Secar una porción de Acetato de Sodio a 120 °C hasta peso constante. No debe perder más de 1,0 % de su peso en la forma anhidra y la pérdida debe estar comprendida entre 38,0 % y 41,0 % de su peso para la forma trihidrato.

Sustancias insolubles

Disolver una porción de Acetato de Sodio equivalente a 20 g de la forma anhidra en 150 ml de agua, calentar a ebullición y digerir en un recipiente cubierto en un baño de vapor durante 1 hora. Filtrar a través de un crisol filtrante, previamente pesado, lavar el residuo y secar a 105 °C hasta peso constante: el peso del residuo no debe ser mayor de 10 mg (0,05 %).

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Una porción de Acetato de Sodio equivalente a 1,0 g de forma anhidra no debe presentar más cloruro que el correspondiente a 0,50 ml de ácido clorhídrico 0,02 N (350 ppm).

Sulfato - Una porción de Acetato de Sodio equivalente a 10 g de la forma anhidra no debe presentar más sulfato que el correspondiente a 0,50 ml de ácido sulfúrico 0,02 N (50 ppm).

Calcio y magnesio

A 20 ml de una solución de Acetato de Sodio que contenga el equivalente a 10 mg de acetato de sodio anhidro por ml, agregar 2 ml de hidróxido de sodio 6 N, 2 ml de oxalato de amonio (SR) y 2 ml de fosfato dibásico de sodio (SR): no se debe producir turbidez durante 5 minutos.

Potasio

Disolver una porción de Acetato de Sodio equivalente a 3 g de acetato de sodio anhidro en 5 ml de agua, agregar ácido acético 1 N gota a gota hasta que la solución sea ligeramente ácida y agregar 5 gotas de cobaltonitrito de sodio (SR): no se debe desarrollar precipitado.

Determinación de aluminio <140>

ACETATO DE SODIO DESTINADO A LA PREPARACIÓN DE SOLUCIONES PARA HEMODIÁLISIS.

Preparar la *Solución muestra* empleando 10 g de Acetato de Sodio. El límite es 0,2 µg por g.

Límite de metales pesados <590>

Método I. Disolver una porción de Acetato de Sodio equivalente a 4,2 g de la forma anhidra en agua y llevar a 50 ml con agua (*Solución madre*). Transferir 12 ml de esta solución a un tubo de comparación de 50 ml (*Solución estándar*). Transferir 11 ml de la *Solución madre* a un tubo de comparación que contenga 1,0 ml de *Solución estándar de plomo (Solución control)*. Transferir 1,0 ml de *Solución estándar de plomo* a un tubo de comparación y agregar 11 ml de agua. Proceder según se indica en *Procedimiento*, excepto que se debe omitir la dilución a 50 ml. El límite es 10 ppm.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método IV.

VALORACIÓN

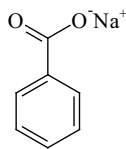
Pesar exactamente alrededor del equivalente a 200 mg de acetato de sodio anhidro, disolver en 25 ml de ácido acético glacial y calentar hasta disolver si fuera necesario. Agregar 2 gotas de *p*-naftolbenceína (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a

8,20 mg de $C_2H_3NaO_2$.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si Acetato de Sodio es anhidro o trihidrato y si está destinado para la preparación de soluciones para hemodiálisis.

SODIO, BENZOATO DE



$C_7H_5NaO_2$

PM: 144,1

532-32-1

Definición - Benzoato de Sodio es la Sal sódica del ácido benzoico. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_7H_5NaO_2$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo granuloso o cristalino blanco, inodoro o prácticamente inodoro. Estable al aire. Fácilmente soluble en agua; moderadamente soluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Debe responder a los ensayos para *Sodio* y para *Benzoato* <410>.

Alcalinidad

Disolver 2 g de Benzoato de Sodio en 20 ml de agua caliente y agregar 2 gotas de fenoltaleína (SR): puede presentar coloración rosada que debe desaparecer al agregar 0,20 ml de ácido sulfúrico 0,10 N.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 1,5 %.

Límite de metales pesados <590>

Disolver 4,0 g de Benzoato de Sodio en 40 ml de agua, agregar gota a gota agitando vigorosamente 10 ml de ácido clorhídrico 3 N y filtrar. El límite es 0,001 %.

Impurezas orgánicas volátiles

Método II.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 600 mg de Benzoato de Sodio, transferir a un erlenmeyer de 250 ml, agregar 100 ml de ácido acético glacial y agitar hasta disolver. Agregar 2 gotas de cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) hasta punto final verde. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 14,41 mg de $C_7H_5NaO_2$.

CARBONATO DE SODIO

Na ₂ CO ₃	PM: 106,0	497-19-8
Monohidrato	PM: 124,0	5968-11-6

Definición - Carbonato de Sodio es anhídrido y contiene una molécula de agua de hidratación. Debe contener no menos de 99,5 por ciento y no más de 100,5 por ciento de Na₂CO₃, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino o granular o cristales incoloros o blancos. Estable al aire en condiciones normales. Al exponer al aire seco a una temperatura mayor de 50 °C, la sal hidratada fluoresce y a 100 °C, se torna anhídrido. Fácilmente soluble en agua; muy soluble en agua a ebullición.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

B - Debe responder a los ensayos para *Carbonato* <410>.

Pérdida por secado <680>

Pesar exactamente alrededor de 2 g de Carbonato de Sodio, secar a 300 °C durante 4 horas: la forma anhídrido no debe perder más de 0,5 % de su peso y la forma hidratada entre 12,0 % y 15,0 %.

Límite de metales pesados <590>

Disolver 2,0 g de Carbonato de Sodio en 10 ml de agua, agregar 1 gota de fenolftaleína (SR) y neutralizar agregando ácido clorhídrico gota a gota. Calentar la solución obtenida a ebullición y neutralizar nuevamente agregando ácido clorhídrico gota a gota. Enfriar y diluir con agua a 25 ml. El límite es 0,001 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

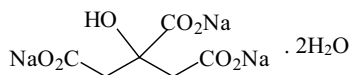
Transferir la porción de Carbonato de Sodio seco obtenido en *Pérdida por secado* a un erlenmeyer con la ayuda de 50 ml de agua, agregar 4 gotas de rojo de metilo (SR). Titular con ácido clorhídrico 1 N (SV), agregando el ácido lentamente y con agitación constante, hasta que la solución se torne ligeramente rosada. Calentar la solución obtenida a ebullición, enfriar y continuar la titulación. Calentar nuevamente a ebullición y volver a titular, si es necesario, hasta que el color rosa pálido no cambie por la ebullición conti-

nua. Cada ml de ácido clorhídrico 1 N equivale a 52,99 mg de Na₂CO₃.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si Carbonato de Sodio es anhídrido o hidratado.

SODIO, CITRATO DE



C₆H₅Na₃O₇ · 2H₂O PM: 294,1 68-04-2

Definición - Citrato de Sodio es Ácido 2-Hidroxiopropan-1,2,3-tricarboxilato de sodio. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de C₆H₅Na₃O₇, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco, cristales o gránulos blancos. Delicuescente en ambientes húmedos. Fácilmente soluble en agua; prácticamente insoluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases herméticos.

ENSAYOS

Identificación

A - Disolver 10 g de Citrato de Sodio en agua libre de dióxido de carbono y diluir a 100 ml con el mismo solvente. A 1 ml de esta solución, agregar 4 ml de agua: la solución obtenida debe responder a los ensayos para *Citrato* <410>.

B - Un mililitro de una solución de Citrato de Sodio al 10 % en agua libre de dióxido de carbono debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

Acidez o alcalinidad

Disolver 10 g de Citrato de Sodio en agua libre de dióxido de carbono y diluir a 100 ml con el mismo solvente. A 10 ml de esta solución, agregar 0,1 ml de fenolftaleína (SR1): no se deben consumir más de 0,2 ml de ácido clorhídrico 0,1 N o 0,2 ml de hidróxido de sodio 0,1 N para virar el indicador.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Entre 11,0 y 13,0 %, determinado sobre 300 mg de Citrato de Sodio. [NOTA: luego de agregar la sustancia en ensayo, agitar durante 15 minutos y comenzar la titulación].

Límite de cloruro

Solución muestra - Disolver 10 g de Citrato de Sodio en agua libre de dióxido de carbono y diluir a 100 ml con el mismo solvente.

Procedimiento - Transferir 15 ml de *Solución muestra* y proceder según de indica en 560. *límite de Cloruro.* Proceder del mismo modo con una solución control preparada tomando 0,1 ml de ácido clorhídrico 0,02 N y diluyendo a 15 ml con agua. Luego de 5 minutos, si la *Solución muestra* presenta

opalescencia, esta no debe ser más intensa que la del control (50 ppm).

Límite de sulfato

Solución muestra - Disolver 10 g de Citrato de Sodio en agua libre de dióxido de carbono y diluir a 100 ml con el mismo solvente.

Procedimiento - Transferir 15 ml de *Solución muestra* y proceder según de indica en 560. *Límite de Sulfato.* Proceder del mismo modo con una solución control preparada con 0,16 ml de ácido sulfúrico 0,01 N y diluyendo a 15 ml con agua. Luego de 5 minutos, si la *Solución muestra* presenta opalescencia, esta no debe ser más intensa que la del control (150 ppm).

Límite de metales pesados <590>

Método IV. Emplear 12 ml de una solución de Citrato de Sodio al 10 % en agua libre de dióxido de carbono como *Solución muestra*. Preparar la *Solución estándar* empleando *Solución estándar de plomo* (1 ppm). El límite es 10 ppm.

Límite de oxalato

Disolver 500 mg de Citrato de Sodio en 4 ml de agua, agregar 3 ml de ácido clorhídrico, 1 g de granalla de cinc, calentar a ebullición durante 1 minuto y dejar reposar durante 2 minutos. Transferir el sobrenadante a un tubo de ensayo que contenga 0,25 ml de solución de clorhidrato de fenilhidracina (1 en 100) y calentar a ebullición. Enfriar rápidamente, transferir a una probeta y agregar igual volumen de ácido clorhídrico y 0,25 ml de solución de ferricianuro de potasio (1 en 20). Agitar y dejar reposar durante 30 minutos. Proceder del mismo modo con 4 ml de una solución de 0,05 mg de ácido oxálico por ml para obtener una solución control. Luego de 5 minutos, la solución obtenida debe presentar un color más intenso que la del control (300 ppm).

Ensayo de piretógenos <340>

Cuando Citrato de Sodio esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas de gran volumen para administración parenteral, debe cumplir con los requisitos del ensayo. Inyectar 10 ml de una solución, recientemente preparada, de Citrato de Sodio de aproximadamente 10 mg por ml y 7,5 mg por ml de cloruro de calcio libre de piretógenos en *agua para inyectables*, por kg de peso corporal del conejo.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 150 mg de Citrato de Sodio, disolver en 20 ml de ácido acético anhidro, calentar a aproximadamente 50 °C y dejar enfriar. Agregar 0,25 ml de p-naftolbenceína (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) hasta que

el indicador vire a color verde. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 8,60 mg de $C_6H_5Na_3O_7$.

SODIO, CLORURO DE

NaCl PM: 58,4 7647-14-5

Definición - Cloruro de Sodio debe contener no menos de 99,0 por ciento ni más de 100,5 por ciento de NaCl calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco, cristalino o cristales incoloros. Higroscópico. Fácilmente soluble en agua; prácticamente insoluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Una solución de Cloruro de Sodio debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

B - Disolver 3 mg de Cloruro de Sodio en 2 ml de agua, acidificar con ácido nítrico diluido y agregar 0,04 ml de nitrato de plata (SR). Agitar y dejar reposar: debe formarse un precipitado blanco cuajoso. Centrifugar y lavar el precipitado con tres porciones de 1 ml de agua. Realizar esta operación rápidamente protegiendo de la luz intensa. Suspender el precipitado en 2 ml de agua y agregar 1,5 ml de hidróxido de amonio 10 N: el precipitado debe disolverse fácilmente, exceptuando algunas partículas grandes que pueden hacerlo más lentamente.

Acidez o alcalinidad

Disolver 5,0 g de Cloruro de Sodio en agua libre de dióxido de carbono y diluir con agua libre de dióxido de carbono a 25 ml. Transferir 20 ml a un matraz y agregar 0,1 ml de azul de bromotimol (SR1): no se debe consumir más de 0,5 ml de ácido clorhídrico 0,01 N o hidróxido de sodio 0,01 N para virar el color de la solución.

Límite de bromuro

Solución de cloramina T - Preparar una solución que contenga aproximadamente 0,1 mg de cloramina T por ml.

Solución estándar - Preparar una solución que contenga 3 mg de bromuro de potasio por litro. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml agregar 2,0 ml de rojo fenol (SR1) y 1,0 ml de *Solución de cloramina T* y mezclar. Luego de 2 minutos agregar 0,15 ml de tiosulfato de sodio 0,1 M, mezclar, completar a volumen y mezclar.

Solución muestra - Disolver 1,0 g de Cloruro de Sodio en agua libre de dióxido de carbono y diluir con el mismo solvente a 5 ml. Transferir 0,5 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml, agregar 4,0 ml de agua, 2,0 ml de rojo fenol (SR1) y 1,0 ml

de *Solución de cloramina T* y mezclar inmediatamente. Luego de 2 minutos agregar 0,15 ml de tiosulfato de sodio 0,1 N, completar a volumen y mezclar.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución estándar* y la *Solución muestra* con un espectrofotómetro a 590 nm empleando agua como blanco: la absorbancia de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la absorbancia de la *Solución estándar*.

Ioduro

Humedecer 5 g de Cloruro de Sodio mediante el agregado gota a gota de 0,15 ml de una solución recientemente preparada de nitrito de sodio al 10 %, 2 ml de ácido sulfúrico 1 N, 25 ml de almidón libre de ioduro y 25 ml de agua. Dejar reposar durante 5 minutos y examinar a la luz natural: no debe observarse coloración azul.

Aluminio

[NOTA: cuando en el rótulo se indique que Cloruro de sodio esté destinado a la preparación de soluciones para diálisis de uso peritoneal, hemodiálisis o hemofiltración, debe cumplir con este requisito.]

Solución reguladora de acetato - Disolver 50 g de acetato de amonio en 150 ml de agua, ajustar con ácido acético glacial a pH 6,0, completar con agua a 250 ml y mezclar.

Solución estándar - Preparar una mezcla de 2,0 ml de solución de aluminio (2 ppm) (SL), 10 ml de *Solución reguladora de acetato* y 98 ml de agua. Realizar una extracción con dos porciones de 20 ml y una porción de 10 ml de una solución de 8-hidroxiquinolina en cloroformo al 0,5 %. Reunir los extractos clorofórmicos en un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con cloroformo y mezclar.

Solución muestra - Disolver 20,0 g de Cloruro de Sodio en 100 ml de agua y agregar 10 ml de *Solución reguladora de acetato*. Realizar una extracción con dos porciones de 20 ml y una de 10 ml de una solución de 8-hidroxiquinolina en cloroformo al 0,5 %. Reunir los extractos clorofórmicos en un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con cloroformo y mezclar.

Solución blanco - Preparar una mezcla de 10 ml de *Solución reguladora de acetato* y 100 ml de agua. Realizar una extracción con dos porciones de 20 ml y una de 10 ml de una solución de 8-hidroxiquinolina en cloroformo al 0,5 %. Reunir los extractos clorofórmicos en un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con cloroformo y mezclar.

Procedimiento - Medir la intensidad de la fluorescencia de la *Solución estándar* y de la *Solución*

muestra en un fluorómetro a 518 nm, empleando una longitud de onda de excitación a 392 nm (ver 450. *Espectrofotometría de fluorescencia*). Emplear la *Solución blanco* y hacer las correcciones necesarias: la fluorescencia de la *Solución muestra* no debe ser mayor a la fluorescencia de la *Solución estándar* (0,2 µg por g).

Límite de magnesio y metales alcalinos terrestres

Solución reguladora - Disolver 5,4 g de cloruro de amonio en 20 ml de agua, agregar 20 ml de hidróxido de amonio y diluir con agua a 100 ml. El pH de la solución debe ser 10,0.

A 200 ml de agua agregar 0,1 g de clorhidrato de hidroxilamina, 10 ml de *Solución reguladora*, 1 ml de sulfato de cinc 0,1 M y aproximadamente 0,2 g de negro de eriocromo T, calentar aproximadamente a 40 °C y titular con edetato disódico 0,01 M (SV) hasta que el color violeta vire a azul oscuro. Agregar 10,0 g de Cloruro de Sodio, previamente disuelto en 100 ml de agua y si el color de la solución cambia a violeta, titular con edetato disódico 0,01 M (SV) hasta punto final color azul oscuro: no se deben consumir más de 2,5 ml de edetato disódico (0,01 %, calculado como calcio).

Límite de arsénico <540>

Método I. No más de 1 µg por g.

Límite de hierro

Solución muestra - Disolver 20,0 g de Cloruro de Sodio en agua libre de dióxido de carbono y diluir con el mismo solvente a 100 ml.

Procedimiento - A 10 ml de la *Solución muestra* agregar 2 ml de una solución de 0,2 g de ácido cítrico por ml y 0,1 ml de ácido tioglicólico. Mezclar, alcalinizar con amoníaco y diluir a 20 ml con agua. Proceder del mismo modo con una mezcla de 4 ml de *Solución estándar de hierro* (ver 580. *Límite de hierro*) 1 en 10 y 6 ml de agua para obtener una solución control. Luego de 5 minutos, si la *Solución muestra* presenta color rosa, esta no debe ser más intensa que la del control (2 µg por g).

Bario

Disolver 20,0 g de Cloruro de Sodio en agua libre de dióxido de carbono y diluir con el mismo solvente a 100 ml. A una porción de 5 ml de esta solución agregar 2 ml de ácido sulfúrico 2 N y 5 ml de agua (solución muestra) y a otra porción igual agregar 7 ml de agua (solución blanco). Luego de 2 horas, las soluciones deben ser igualmente claras.

Ferrocianuro

Disolver 2,0 g de Cloruro de Sodio en 6 ml de agua, agregar 0,5 ml de una mezcla de 5 ml de una solución de 10 mg de sulfato férrico amónico por

ml de ácido sulfúrico 0,1 N y 95 ml de una solución de sulfato férrico al 10 %. Luego de 10 minutos, la solución no debe presentar color azul.

Límite de sulfato

Solución muestra - Disolver 2,5 g de Cloruro de Sodio en 50 ml de agua.

Procedimiento - A 1,5 ml de Solución de sulfato (10 ppm) (SL1) agregar 1 ml de solución de cloruro de bario al 25 %, agitar y dejar reposar durante 1 minuto. Agregar 15 ml de *Solución muestra* y 0,5 ml de ácido acético 5 N y mezclar. Proceder de igual modo con 15 ml de solución de sulfato (10 ppm) (SL) para obtener una solución control. Luego de 5 minutos, si la solución muestra presenta opalescencia, esta no debe ser más intensa que la del control (200 ppm).

Nitritos

Disolver 20,0 g de Cloruro de Sodio en agua libre de dióxido de carbono y diluir con el mismo solvente a 100 ml. Transferir 10 ml a un matraz y agregar 10 ml de agua. Medir la absorbancia de la solución empleando una celda de 1 cm a 354 nm: la absorbancia no debe ser mayor de 0,01.

Límite de fosfatos

Solución de fosfato - Transferir 1 ml de solución de fosfato (5 ppm) (SL) a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua. Transferir 2 ml de esta solución a un matraz, agregar 98 ml de agua y dejar reposar durante 10 minutos.

Solución muestra - Disolver 20,0 g de Cloruro de Sodio en agua libre de dióxido de carbono y diluir con el mismo solvente a 100 ml.

Procedimiento - Transferir 2 ml de la *Solución muestra* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y agregar 4 ml de ácido sulfomolibdico (SR) y 0,1 ml de una mezcla de ácido clorhídrico 2 N y cloruro estannoso concentrado (SR) (10:1). Proceder del mismo modo con 2 ml de *Solución de fosfato* para obtener una solución control. Luego de 10 minutos, si la *Solución muestra* presenta color, este no debe ser más intenso que el de la solución control (25 ppm).

Límite de potasio

[NOTA: cuando en el rótulo se indique que Cloruro de Sodio esté destinado a la preparación de soluciones para diálisis de uso peritoneal, hemodiafiltración o hemofiltración, debe cumplir con este requisito.]

Solución estándar - Disolver 1,144 g de cloruro de potasio previamente secado a 105 °C durante 3 horas en agua, diluir con el mismo solvente para obtener 1.000 ml y mezclar. Esta solución contiene aproximadamente 600 µg de potasio por ml. Diluir cuantitativamente para obtener no menos de tres

soluciones de concentraciones que se encuentren en el orden de la concentración de la muestra.

Solución muestra - Disolver 1 g de Cloruro de Sodio en agua, diluir con el mismo solvente para obtener 100 ml y mezclar.

Procedimiento - Medir la intensidad de emisión de la *Solución estándar* y de la *Solución muestra* al menos tres veces, en un espectrofotómetro de absorción atómica con corriente de aire de acetileno a 766,5 nm (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*). Realizar una curva de calibración con las respuestas obtenidas a partir de la *Solución estándar*, trazar la recta que mejor ajuste y determinar la concentración de potasio de la *Solución muestra*: no debe contener más de 0,05 %.

Límite de metales pesados <590>

Método I. No más de 5 ppm.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que Cloruro de Sodio esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas inyectables, debe contener no más de 5 Unidades de Endotoxinas por gramo.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Cloruro de Sodio, disolver en 50 ml de agua y titular con nitrato de plata 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de nitrato de plata 0,1 N (SV) equivale a 5,84 mg de Cloruro de Sodio.

ROTULADO

Indicar en el rótulo cuando Cloruro de Sodio esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas inyectables, soluciones para diálisis, hemodiálisis o hemofiltración.

SODIO, FLUORURO DE

NaF PM: 42,0 7681-49-4

Definición - Fluoruro de Sodio debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de NaF, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco, inodoro. Soluble en agua; insoluble en alcohol.

Sustancia de referencia - Fluoruro de Sodio SR-FA

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Transferir 1 g de Fluoruro de Sodio a un crisol de platino bajo una campana extractora bien ventilada, agregar 15 ml de ácido sulfúrico y cubrir el crisol con una pieza de vidrio transparente. Calentar el crisol en un baño de vapor durante 1 hora, retirar la cubierta de vidrio, enjuagarla con agua y secarla: se ataca la superficie del vidrio.

B - Una solución de Fluoruro de Sodio 1 en 25 debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

Acidez o alcalinidad

Solución muestra - Disolver 2,5 g de Fluoruro de Sodio en agua libre de dióxido de carbono y diluir a 100 ml con el mismo solvente.

Procedimiento - En 40 ml de *Solución muestra*, disolver 2,5 g de nitrato de potasio y diluir a 50 ml con agua libre de dióxido de carbono. Enfriar a 0 °C y agregar 0,1 ml de solución de fenoltaleína (SR1). Si la solución resultante es incolora, no se debe consumir más de 1 ml de hidróxido de sodio 0,1 N para producir un cambio de color al rojo que persiste durante al menos 15 segundos. Si la solución resultante es roja, no se debe requerir más de 0,25 ml de ácido clorhídrico 0,1 N para producir un cambio de color.

Fluorosilicato

Calentar a ebullición la solución neutralizada del ensayo para *Acidez o alcalinidad* y titular en caliente con hidróxido de sodio 0,10 N hasta obtener un color rosado permanente: no deben consumirse más de 0,75 ml de hidróxido de sodio 0,10 N.

Cloruro

Disolver 300 mg de Fluoruro de Sodio en 20 ml de agua y agregar 200 mg de ácido bórico, 1 ml de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata 0,1 N: cualquier turbidez producida no debe ser mayor que la

de un blanco al cual se le ha agregado 1,0 ml de ácido clorhídrico 0,0010 N (0,012 %).

Sulfato

Solución muestra - Disolver 250 mg de Fluoruro de Sodio en 10 ml de una solución saturada de ácido bórico y agregar 5 ml de agua y 0,6 ml de ácido clorhídrico al 25 % p/v.

Solución de comparación - A 10 ml de solución saturada de ácido bórico agregar 0,5 ml de ácido clorhídrico al 25 % p/v y 5 ml de solución de sulfato (10 ppm) (SL) y mezclar.

Procedimiento - A 1,5 ml de solución de sulfato (10 ppm) (SL1) agregar 1 ml de una solución de cloruro de bario al 25 %, agitar y dejar en reposo durante 1 minuto. Agregar 15 ml de *Solución muestra* y 0,5 ml ácido acético. Proceder del mismo modo con 15 ml de *Solución de comparación*. Luego de 5 minutos, si la *Solución muestra* presenta opalescencia, esta no debe ser más intensa que la de la *Solución de comparación* (200 ppm).

Límite de metales pesados <590>

Transferir 1 g de Fluoruro de Sodio a una cápsula o crisol de platino. Agregar 1 ml de agua, 3 ml de ácido sulfúrico bajo una campana extractora y calentar a una temperatura lo más baja posible hasta que todo el ácido sulfúrico se haya eliminado. Disolver el residuo en 20 ml de agua, neutralizar la solución frente a la fenoltaleína (SR) con hidróxido de amonio, agregar 1 ml de ácido acético glacial, diluir a 45 ml con agua, filtrar y emplear 30 ml del filtrado para el ensayo (0,003%).

Pérdida por secado <680>

Secar a 150 °C durante 4 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

[NOTA: almacenar todas las soluciones, excepto la *Solución reguladora*, en envases de plástico.]

Solución reguladora - Disolver 57 ml de ácido acético glacial, 58 g de cloruro de sodio y 4 g de ácido (1,2-ciclohexilendinitrilo)tetracético en 500 ml de agua. Ajustar a pH $5,25 \pm 0,25$ con hidróxido de sodio 5 N, diluir a 1 litro con agua y mezclar.

Preparación estándar A - Disolver cuantitativamente en agua una cantidad exactamente pesada de Fluoruro de Sodio SR-FA para obtener una solución de aproximadamente 420 µg por ml. Cada ml de esta solución contiene 190 µg de ion fluoruro (10^{-2} M).

Preparación estándar B - Transferir 25,0 ml de la *Preparación estándar A* a un matraz aforado de

250 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Cada ml de esta solución contiene 19 µg de ión fluoruro por ml (10^{-3} M).

Preparación estándar C - Transferir 25,0 ml de la *Preparación estándar B* a un matraz aforado de 250 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Cada ml de esta solución contiene 1,9 µg de ión fluoruro por ml (10^{-4} M).

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Fluoruro de Sodio, transferir a un matraz aforado de 250 ml y agregar 50 ml de agua. Mezclar durante 5 minutos, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Transferir 20 ml de cada una de las *Preparaciones estándar A, B y C* y 20 ml de la *Preparación muestra* a sendos vasos de precipitados de plástico, cada uno con una varilla de agitación recubierta de plástico. Transferir 20 ml de *Solución reguladora* a cada vaso de precipitados. Medir concomitantemente los potenciales en mV (ver 250. *Determinación del pH*) de las *Preparaciones estándar* y la *Preparación muestra*, con un medidor de pH con una reproducibilidad mínima de $\pm 0,2$ mV, equipado con un electrodo indicador específico para ión fluoruro y un electrodo de referencia de calomel. [NOTA: cuando se toman las mediciones, sumergir los electrodos en la solución, agitar con un agitador magnético hasta lograr el equilibrio (1 a 2 minutos) y registrar el potencial. Enjuagar los electrodos entre las mediciones, evitando dañar el cristal del electrodo específico]. Graficar el logaritmo de la concentración de ión fluoruro, en µg por ml, de las *Preparaciones estándar* en función del potencial, en mV, y calcular la ecuación de la recta que mejor ajuste. A partir del potencial medido de la *Preparación muestra* y la ecuación de la recta de respuesta del estándar, determinar la concentración *C*, en µg por ml, de ion fluoruro en la *Preparación muestra*. Calcular la cantidad en mg de NaF en la porción de Fluoruro de Sodio en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$(42,0/19,0)(1,25C)$$

en la cual 42,0 es el peso molecular de fluoruro de sodio, 19,0 es el peso atómico del flúor y *C* es la concentración de fluoruro en µg por ml determinada a partir de la *Preparación muestra*.

SODIO, FOSFATO DIBÁSICO DE

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot n\text{H}_2\text{O}$

Dodecahidrato	PM: 358,1	10039-32-4
Heptahidrato	PM: 268,1	7782-85-6
Dihidrato	PM: 178,0	10028-24-7
Monohidrato	PM: 159,9	118830-14-1
Anhidro	PM: 142,0	7558-79-4

Definición - Fosfato Dibásico de Sodio es anhidro o contiene una, dos, siete o doce moléculas de agua de hidratación. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de Na_2HPO_4 , calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - *Anhidro*: Polvo blanco que absorbe fácilmente humedad. Fácilmente soluble en agua; insoluble en alcohol. *Heptahidrato*: Sal granular o aglutinada incolora o blanca. Efloresce al aire caliente seco. Sus soluciones son alcalinas frente a la fenolftaleína (SR) y una solución 0,1 M tiene un pH de aproximadamente 9. Fácilmente soluble en agua; muy poco soluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Una solución de Fosfato Dibásico de Sodio (el equivalente de 1 parte de Na_2HPO_4 en 30) debe responder a los ensayos para *Sodio* <410> y *Fosfato* <410>.

Sustancias insolubles

Disolver una porción de Fosfato Dibásico de Sodio, equivalente a 5,0 g de Na_2HPO_4 , en 100 ml de agua caliente, filtrar a través de un crisol filtrante pesado previamente, lavar el residuo insoluble con agua caliente y secar a 105 °C durante 2 horas: el peso del residuo obtenido no debe ser mayor de 20 mg (0,4 %).

Límite de Arsénico <540>

Método I. Preparar la *Solución muestra* disolviendo una porción de Fosfato Dibásico de Sodio, equivalente a 187,5 mg de Na_2HPO_4 , en 35 ml de agua: el límite es 16 ppm.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Una porción de Fosfato Dibásico de Sodio, equivalente a 0,5 g de Na_2HPO_4 , no debe

presentar más cloruro que el correspondiente a 0,42 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,06 %).

Sulfato - Una porción de Fosfato Dibásico de Sodio, equivalente a 0,1 g de Na_2HPO_4 , no debe presentar más sulfato que el correspondiente a 0,2 ml de ácido sulfúrico 0,020 N (0,2 %).

Límites de metales pesados <590>

Solución muestra - Disolver una porción de Fosfato Dibásico de Sodio, equivalente a 2,1 g de Na_2HPO_4 , en suficiente agua para obtener 50 ml.

Solución estándar - Transferir 1,0 ml de la *Solución estándar de plomo* (10 ppm) y 11 ml de agua a un tercer tubo de Nessler.

Solución control - Transferir 12 ml de *Solución muestra* a un tubo de Nessler de 50 ml y transferir 11 ml de esta solución a un segundo tubo de Nessler que contenga 1,0 ml de *Solución de plomo estándar* (10 ppm).

Procedimiento - Proceder según se indica para *Método I*, omitiendo la dilución a 50 ml: el límite es 0,002 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C hasta peso constante: la forma anhidra no debe perder más de 5,0 % de su peso; el monohidrato debe perder entre 10,3 y 12,0 % de su peso; el dihidrato debe perder entre 18,5 y 21,5 % de su peso; el heptahidrato debe perder entre 43,0 y 50,0 % de su peso y el dodecahidrato debe perder entre 55,0 y 64,0 % de su peso.

VALORACIÓN

Transferir 40,0 ml de ácido clorhídrico 1 N a un vaso de precipitados de 250 ml, agregar 50 ml de agua y titular potenciométricamente con hidróxido de sodio 1 N (SV). Registrar el volumen de hidróxido de sodio 1 N consumido como blanco. Transferir una porción de Fosfato Dibásico de Sodio, exactamente pesada, equivalente a 2,5 g de Na_2HPO_4 , a un vaso de precipitados de 250 ml, agregar 40 ml de ácido clorhídrico 1 N y 50 ml de agua, agitar hasta disolución y proceder según se indica en *Valoración en Fosfato Dibásico de Potasio* comenzando donde dice: "Titular el exceso de ácido..". Cuando *A* es igual o menor que *B*, cada ml del volumen *A* de hidróxido de sodio 1 N equivale a 142,0 mg de Na_2HPO_4 . Cuando *A* es mayor que *B*, cada ml del volumen $2B - A$ de hidróxido de sodio 1 N equivale a 142,0 mg de Na_2HPO_4 .

ROTULADO

Indicar en el rótulo el tipo de hidratación de Fosfato dibásico de Sodio o si es anhidro.

SODIO, HIDRÓXIDO DE

NaOH PM: 40,0 1310-73-2

Definición - Hidróxido de Sodio debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de álcali total, calculado como NaOH, y no más de 3,0 por ciento de Na_2CO_3 y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Masas blancas o casi blancas, presentadas en forma de varillas, lentejas, cilindros o fragmentos irregulares. Duro, quebradizo. Muestra fractura cristalina. Absorbe rápidamente dióxido de carbono y humedad en exposición al aire. Fácilmente soluble en agua y alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Precaución - Manipular con sumo cuidado, ya que es altamente cáustico.

Identificación

Una solución de Hidróxido de Sodio al 4 % debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

Sustancias insolubles y materia orgánica

Una solución de Hidróxido de Sodio al 5 % debe ser transparente e incolora o ligeramente coloreada.

Potasio

Acidificar 5 ml de una solución de Hidróxido de Sodio al 5 % con ácido acético 6 N, agregar 5 gotas de cobaltonitrito de sodio (SR): no se debe formar precipitado.

Límite de metales pesados <590>

Disolver 0,67 g de Hidróxido de Sodio en una mezcla de 5 ml de agua y 7 ml de ácido clorhídrico 3 N. Calentar a ebullición, enfriar y diluir con agua a 25 ml. El límite es 30 ppm.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 1,5 g de Hidróxido de Sodio, disolver en 40 ml de agua libre de dióxido de carbono y enfriar a temperatura ambiente. Agregar fenolftaleína (SR) y titular con ácido sulfúrico 1 N (SV). Registrar el volumen de ácido consumido hasta la desaparición del color rosado del indicador, agregar naranja de metilo (SR) y continuar la titulación hasta un color rosado persistente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido sulfúrico 1 N equivale a 40,00 mg de álcali total, calculado como NaOH y cada ml de ácido consumido en la titulación con naranja de metilo equivale a 106,0 mg de Na_2CO_3 .

SODIO, LAURIL SULFATO DE

151-21-3

Definición - Lauril Sulfato de Sodio es una mezcla de sulfatos sódicos de alquilo que contiene principalmente lauril sulfato de sodio $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{OSO}_3\text{Na}]$. El contenido de sulfatos sódicos de alquilo no debe ser menor de 85,0 por ciento y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales pequeños blancos o amarillo pálido. Fácilmente soluble en agua, formando una solución opalescente.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Someter a ignición aproximadamente 500 mg de Lauril Sulfato de Sodio, a una temperatura de 800 °C, hasta que el residuo carbonoso se consuma y disolver en 10 ml de agua. Debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

B - Preparar una solución de Lauril Sulfato de Sodio (1 en 10), acidificar con ácido clorhídrico y calentar a ebullición suave durante 20 minutos. Debe responder a los ensayos para *Sulfato* <410>.

C - Disolver 100 mg de Laurilsulfato de sodio en 10 ml de agua y mezclar: se debe observar la formación de espuma en gran cantidad.

Alcalinidad

Disolver 1,0 g de Lauril Sulfato de Sodio en 100 ml de agua, agregar rojo de fenol (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,10 N: no se deben consumir más de 0,60 ml para virar el color del indicador.

Límites de metales pesados <590>

Método II. No más de 20 ppm.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

Cloruro de sodio

Pesar exactamente alrededor de 5 g de Lauril Sulfato de Sodio, transferir a un erlenmeyer y disolver en aproximadamente 50 ml de agua. Neutralizar la solución con ácido nítrico 0,8 N, emplear papel de tornasol como indicador y agregar 2 ml de cromato de potasio (SR). Titular con nitrato de plata 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de nitrato de plata 0,1 N equivale a 5,84 mg de NaCl.

Sulfato de sodio

Solución de nitrato de plomo - Disolver 33,1 g de nitrato de plomo en agua y diluir a 1 litro.

Procedimiento - Pesar exactamente alrededor de 1 g de Lauril Sulfato de Sodio, transferir a un vaso de precipitado de 250 ml, agregar 35 ml de agua y calentar hasta disolver. Agregar a la solución caliente 2 ml de ácido nítrico 1 N, mezclar y agregar 50 ml de alcohol. Calentar a ebullición y agregar lentamente y en agitación 10 ml de *Solución de nitrato de plomo*. Tapar el vaso de precipitado, calentar a ebullición suavemente durante 5 minutos y dejar sedimentar. [NOTA: si el sobrenadante es turbio, dejar en reposo durante 10 minutos, calentar a ebullición y dejar sedimentar]. Mientras la solución aún esté caliente, decantar todo el líquido sobrenadante a través de un papel de filtración rápida de 9 cm de diámetro. Lavar el residuo cuatro veces por decantación con porciones de 50 ml de alcohol al 50 %, pasando el sobrenadante a través del papel de filtro. Transferir el papel de filtro al vaso de precipitado original y agregar 30 ml de agua, 20 ml de edetato disódico 0,05 M (SV) y 1 ml de solución reguladora de amoníaco-cloruro de amonio (SR). Calentar suavemente para disolver el precipitado, agregar 0,2 ml de negro de eriocromo (SR). Titular con sulfato de cinc 0,05 M (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de edetato disódico 0,05 M equivale a 7,10 mg de Na_2SO_4 .

Alcoholes no sulfatados

Pesar exactamente alrededor de 10 g de Lauril Sulfato de Sodio, disolver en 100 ml de agua y agregar 100 ml de alcohol. Transferir la solución obtenida a una ampolla de decantación y extraer con tres porciones de 50 ml de éter de petróleo. Reunir los extractos etéreos. [NOTA: si se forma una emulsión, puede agregarse cloruro de sodio para favorecer la separación de las dos fases]. Lavar los extractos combinados con tres porciones de 50 ml de agua y secar con sulfato de sodio anhidro. Filtrar, evaporar en un baño de vapor hasta que el olor a éter de petróleo sea imperceptible, secar el residuo a 105 °C durante 30 minutos, enfriar y pesar. El peso del residuo no debe ser mayor de 4,0 % del peso del Lauril Sulfato de Sodio en ensayo.

Alcoholes totales

Pesar exactamente alrededor de 5 g de Lauril Sulfato de Sodio, transferir a un matraz de Kjeldahl de 800 ml y agregar 150 ml de agua, 50 ml de ácido clorhídrico y material poroso. Conectar a un refrigerante, calentar cuidadosamente para evitar la formación excesiva de espuma y luego calentar a ebullición durante 4 horas. Enfriar el matraz, enjuagar el refri-

gerante con éter, recolectando el éter en el matraz. Transferir el contenido a una ampolla de decantación de 500 ml, enjuagar el matraz dos veces con éter y agregar los lavados a la ampolla de decantación. Extraer la solución con dos porciones de 75 ml de éter, evaporar los extractos etéreos combinados en un vaso de precipitado, previamente pesado, en un baño de vapor, secar el residuo a 105 °C durante 30 minutos, enfriar y pesar. El residuo obtenido correspondiente a los alcoholes totales, no debe ser menor de 59,0 % del peso del Lauril Sulfato de Sodio en ensayo.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 1,15 g de Lauril-sulfato de sodio, transferir a un matraz aforado de 1 litro, disolver con agua, calentando suavemente si fuera necesario, y completar a volumen con el mismo solvente. Transferir 20 ml de esta solución a un recipiente apropiado, agregar 15 ml de cloroformo y 10 ml de Solución de bromuro de dimidio- azul sulfán (SR). Titular con cloruro de bencetonio 0,004 M (SV), mezclando y permitiendo que las capas se separen antes de cada agregado, hasta que el color rosa de la capa de cloroformo desaparezca completamente y aparezca un color azul grisáceo.

SODIO, METABISULFITO DE

Na₂S₂O₅ PM: 190,1 7681-57-4

Definición.- Metabisulfito de Sodio es Pirosulfito disódico. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de Na₂S₂O₅ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino incoloro o blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en agua; ligeramente soluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

Identificación

A - Disolver 0,2 g de iodo y 0,4 g de yoduro de potasio en 1 ml de agua y diluir a 10 ml con agua. A 0,4 ml de esta solución agregar 8 ml de agua y 1 ml de una solución de Metabisulfito de Sodio al 0,5 % en agua libre de dióxido de carbono. Esta solución debe ser incolora y debe responder a los ensayos para *Sulfato* <410>.

B - Disolver 5,0 g de Metabisulfito de Sodio en agua libre de dióxido de carbono y diluir a 100 ml con el mismo solvente. La solución obtenida debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

Determinación del pH <250>

El pH de la solución del ensayo en *Identificación B* debe estar comprendido entre 3,5 y 5,0.

Tiosulfato

A 5 ml de la solución de ensayo en *Identificación B* agregar 5 ml de ácido clorhídrico diluido: la solución debe permanecer transparente durante por lo menos 15 minutos.

Límite de hierro

Solución muestra - Disolver 5,0 g de Metabisulfito de Sodio en agua libre de dióxido de carbono y diluir a 100 ml con el mismo solvente.

Procedimiento - A 10 ml de *Solución muestra*, agregar 2 ml de solución de ácido cítrico al 20 %, 0,1 ml de ácido tioglicólico y mezclar. Agregar suficiente cantidad de solución de amoníaco, preparada disolviendo 67 g de amoníaco concentrado en 100 ml de agua, hasta que la solución sea alcalina al papel tornasol, diluir a 20 ml con agua y mezclar. Proceder del mismo modo con 10 ml de solución de hierro (1 ppm) (SL) para obtener una solución control. Luego de 5 minutos, si la *Solución muestra* presenta color rosa, este no debe ser más intenso que el de la solución control (20 ppm).

Límite de metales pesados <590>

Método IV. Transferir 40 ml de la solución de ensayo en *Identificación B* a un crisol, agregar 10 ml de ácido clorhídrico y evaporar a sequedad. Disolver el residuo en 19 ml de agua y agregar 1 ml de una solución de fluoruro de sodio al 4 %. Emplear 12 ml de esta solución como *Solución muestra* y preparar la solución estándar empleando *Solución estándar de plomo* (2 ppm). El límite es 20 ppm.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Metabisulfito de Sodio, transferir a un erlenmeyer y disolver en 50 ml de iodo 0,05 M. Agregar 5 ml de ácido clorhídrico diluido y titular con tiosulfato de sodio 0,1 M (SV). Agregar 1 ml de almidón (SR) como indicador cerca del punto final. Cada ml de iodo 0,05 M equivale a 4,75 mg de Na₂S₂O₅.

SODIO, NITRITO DE

NaNO₂ PM: 69,0 7632-00-0

Definición - Nitrito de Sodio es la Sal sódica del ácido nitroso. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de NaNO₂, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo granular blanco o amarillo pálido, o masas fundidas o barras, opacas, blancas o prácticamente blancas. Delicuescente al aire. Sus soluciones son alcalinas frente al tornasol. Fácilmente soluble en agua; moderadamente soluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Una solución de Nitrito de Sodio debe responder a los ensayos para *Sodio* <410> y para *Nitrito* <410>.

Límite de metales pesados <590>

Pesar exactamente alrededor de 1 g de Nitrito de Sodio, disolver en 6 ml de ácido clorhídrico 3 N y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Reducir el residuo a polvo grueso y continuar el calentamiento en el baño de vapor hasta que no se detecte al papel de tornasol vapores de ácido clorhídrico ya no sea perceptible. Disolver el residuo en 23 ml de agua y agregar 2 ml de ácido acético 1 N: el límite es 0,002 %.

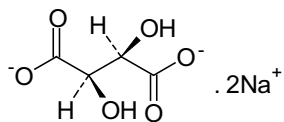
Pérdida por secado <680>

Secar sobre gel de sílice durante 4 horas: no debe perder más de 0,25 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Nitrito de Sodio, disolver en agua para obtener 100 ml. Transferir 10 ml de esta solución a una mezcla de 50 ml de permanganato de potasio 0,1 N (SV), 100 ml de agua y 5 ml de ácido sulfúrico. Cuando se agrega la solución de Nitrito de Sodio, sumergir la punta de la pipeta debajo de la superficie de la mezcla de permanganato. Calentar el líquido a 40 °C, dejar reposar durante 5 minutos y agregar 25 ml de ácido oxálico 0,1 N (SV). Calentar la mezcla a aproximadamente 80 °C y titular con permanganato de potasio 0,1 N (SV). Cada ml de permanganato de potasio 0,1 N equivale a 3,450 mg de NaNO₂.

SODIO, TARTRATO DE



$\text{C}_4\text{H}_4\text{Na}_2\text{O}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ PM: 230,1 868-18-8

Definición - Tartrato de Sodio es la Sal sódica del Ácido (+)-2,3-dihidroxiбутанодиоico. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $\text{C}_4\text{H}_4\text{Na}_2\text{O}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales incoloros, translúcidos. Fácilmente soluble en agua; insoluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

B - Debe responder a los ensayos para *Tartrato* <410>.

Determinación del pH <250>

Disolver 1,0 g de Tartrato de Sodio en agua libre de dióxido de carbono y diluir a 10 ml. El pH debe estar comprendido entre 7,0 y 9,0.

Pérdida por secado <680>

Secar a 150 °C durante 3 horas. Debe perder entre 14,0 y 17,0 % de su peso.

Límite de metales pesados <590>

Método I. No más de 20 ppm.

Oxalato

Disolver 1,0 g de Tartrato de Sodio en 10 ml de agua, agregar 5 gotas de ácido acético diluido y 2 ml de cloruro de calcio (SR): no se debe producir turbidez al cabo de 1 hora.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Tartrato de Sodio, previamente secados a 150 °C durante 3 horas y transferir a un recipiente apropiado de 250 ml. Disolver con 150 ml de ácido acético, agitando y calentando cerca del punto de ebullición. Dejar enfriar a temperatura ambiente y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) en ácido acético glacial, determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volu-*

metría). Cada ml de ácido perclórico 0,1 (SV) equivale a 9,70 mg de $\text{C}_4\text{H}_4\text{Na}_2\text{O}_6$.

SODIO, TIOSULFATO DE

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ PM: 248,2 10102-17-7
Anhidro PM: 158,1 7772-98-7

Definición - Tiosulfato de Sodio debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales grandes incoloros o polvo cristalino grueso. Delicuescente en aire húmedo y eflorescente en aire seco a temperaturas que excedan los 33 °C. Muy soluble en agua; insoluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Agregar algunas gotas de yodo (SR) a una solución de Tiosulfato de Sodio (1 en 10): el color debe desaparecer.

B - Una solución de Tiosulfato de Sodio 1 en 10 debe responder a los ensayos para *Sodio* y *Tiosulfato* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 6,0 y 8,4; determinado sobre una solución al 10 % en agua destilada libre de dióxido de carbono.

Calcio

Disolver 1,0 g de Tiosulfato de Sodio en 20 ml de oxalato de amonio (SR): no se debe producir turbidez.

Sulfatos y sulfitos

Solución madre de la muestra - Disolver 5,0 g de Tiosulfato de Sodio en agua libre de dióxido de carbono y completar a 50 ml con el mismo solvente. Transferir 2,5 ml a un recipiente apropiado y completar a 10 ml con agua libre de dióxido de carbono. A 3 ml de esta solución agregar 2 ml de Iodo - yoduro de potasio (SR2), mezclar y continuar el agregado gota a gota hasta la aparición de un color amarillo débil persistente. Diluir a 15 ml con agua destilada.

Solución muestra - A 4,5 ml de Solución de sulfato (10 ppm) (SL1) agregar 3 ml de una solución de cloruro de bario al 25 %, mezclar y dejar reposar durante 1 minuto. A 2,5 ml de esta solución agregar 15 ml de la *Solución madre de la muestra* y 0,5 ml Ácido acético.

Solución estándar - Proceder según se indica en *Solución muestra* reemplazando la *Solución madre*

de la muestra por la Solución de sulfato (10 ppm) (SL).

Procedimiento - Transferir a sendos tubos de Nessler volúmenes iguales de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, dejar reposar 5 minutos: la opalescencia en la *Solución muestra* no debe ser más intensa que en la *Solución estándar*. El límite no debe ser mayor de 0,12 %.

Límite de metales pesados <590>

Solución muestra - Disolver 5,0 g de Tiosulfato de Sodio en agua libre de dióxido de carbono y completar a 50 ml con el mismo solvente. Transferir 10 ml de la solución a un tubo de Nessler apropiado.

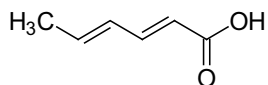
Solución estándar - Transferir 10 ml de *Solución estándar de plomo* (1 ppm) a un tubo de Nessler apropiado.

Procedimiento - Agregar 0,05 ml de sulfuro de sodio (SR1) a cada uno de los tubos que contienen la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, mezclar, dejar reposar durante 2 minutos y observar longitudinalmente sobre una superficie blanca: el color de la *Solución muestra* no debe ser más oscuro que el de la *Solución estándar*. (10 ppm)

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Tiosulfato de Sodio y disolver en 20 ml de agua. Titular con yodo 0,05 M (SV) agregando 1 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de yodo 0,05 M equivale a 24,82 mg de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

SÓRBICO, ÁCIDO



$C_6H_8O_2$

PM: 112,1

110-44-1

Definición - Ácido Sórbico es Ácido 2,4-hexadienoico. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_6H_8O_2$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco. Soluble en alcohol y éter; ligeramente soluble en agua.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto. Evitar el calor excesivo.

ENSAYOS

Identificación

A - Disolver 200 mg de Ácido Sórbico en 2 ml de alcohol, agregar unas pocas gotas de bromo (SR): la solución debe decolorarse.

B - Preparar una solución que contenga 2,5 μ g de Ácido Sórbico por ml de alcohol isopropílico: debe presentar un máximo de absorción a 254 ± 2 nm.

Determinación del punto de fusión <260>

Debe estar comprendido entre 132 y 135 °C.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,5 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. El límite es 10 ppm.

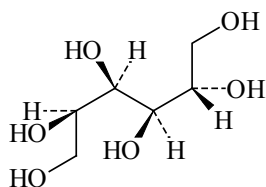
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Ácido Sórbico, transferir a un erlenmeyer y disolver en una mezcla de 50 ml de metanol y 25 ml de agua. Agregar fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) hasta que el color rosado sea persistente no menos de 30 segundos. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 11,21 mg de $C_6H_8O_2$.

SORBITOL



$C_6H_{14}O_6$

PM: 182,2

50-70-4

Definición - Sorbitol es D-Glucitol. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_6H_{14}O_6$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Presenta polimorfismo. Muy soluble en agua y prácticamente insoluble en alcohol.

Sustancia de referencia - Sorbitol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Absorción Infrarroja <460>. *En fase sólida*. [NOTA: si los espectros obtenidos presentan diferencias, disolver por separado Sorbitol y Sorbitol SR-FA en agua, evaporar a sequedad y registrar nuevos espectros empleando los residuos].

Determinación del punto de fusión <260>

Disolver 0,5 g de Sorbitol con ayuda de calor en una mezcla de 0,5 ml de piridina y 5 ml de anhídrido acético. Luego de 10 minutos, verter la solución en 25 ml de agua y dejar reposar en un baño de hielo durante 2 horas. Recristalizar el precipitado en un pequeño volumen de alcohol y secar al vacío: debe fundir entre 98 y 104 °C.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre + 4,0 y + 7,0°, determinada sobre la sustancia anhidra.

Solución muestra: disolver 5,0 g de Sorbitol y 6,4 g de borato de sodio en 40 ml de agua. Dejar reposar durante 1 hora, agitando ocasionalmente y diluir a 50 ml con agua. Filtrar si es necesario.

Conductividad <70>

Proceder según se indica en 70. *Conductividad* en *Manitol*.

Azúcares reductores

Proceder según se indica en *Azúcares reductores* en *Manitol*, excepto que se deben disolver 5,0 g de Sorbitol en 6 ml de agua calentando moderadamente.

Límite de plomo en azúcares

Proceder según se indica en *Límite de plomo en azúcares* en *Lactulosa*

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 1,5 %.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico y Fase móvil - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra y Soluciones estándar B y C - Emplear la *Preparación muestra* y las *Preparaciones estándar B y C*, respectivamente, en la *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución muestra* y las *Soluciones estándar B y C*; registrar los cromatogramas durante dos veces el tiempo de retención del Sorbitol y medir las respuestas de todos los picos. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta de ningún pico debe ser mayor que la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar B* (2 %) y la suma de las respuestas de todos los picos, a excepción del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, no debe ser mayor a 1,5 veces que la del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar B* (3 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor que la del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar C* (0,1 %).

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Cuando en el rótulo se indique que Sorbitol esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas parenterales, el recuento de microorganismos aerobios viables no debe ser mayor que 10^2 bacterias ni 10^2 hongos por gramo, determinado por recuento en placa. La sustancia en ensayo debe cumplir con el ensayo para *Salmonella spp.* y *Escherichia coli*.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que Sorbitol esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas parenterales y que contiene no más de 100 mg de Sorbitol por ml, no debe contener más de 4 Unidades de Endotoxina por gramo y cuando en el rótulo se indique que contiene más de 100 mg de Sorbitol por ml, no debe contener más de 2,5 Unidades de Endotoxinas por gramo.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector de índice de refracción y una columna de acero inoxi-

dable de 30 cm × 7,8 mm con una fase estacionaria constituida por una resina de intercambio catiónico fuerte (en forma de calcio) constituida por grupos de ácido sulfónico en una malla de polímeros consistente de uniones de poliestireno con un 8 % de divinilbenceno, de aproximadamente 9 µm de diámetro. Mantener la columna a aproximadamente 85 ± 1 °C. El caudal debe ser aproximadamente 0,5 ml por minuto.

Fase móvil - Agua filtrada y desgasificada.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 5 g de Sorbitol, disolver en 20 ml de agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente.

Preparación estándar A - Pesar exactamente alrededor de 0,5 g de Sorbitol SR-FA, disolver en 2,0 ml de agua y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Preparación estándar B - Diluir 2 ml de *Preparación muestra* a 100 ml con agua.

Preparación estándar C - Diluir 5 ml de *Preparación estándar B* a 100 ml con agua.

Preparación estándar D - Disolver 0,5 g de Sorbitol y 0,5 g de *Manitol* en 5 ml de agua y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

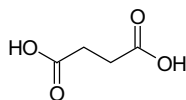
Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar D* durante tres veces el tiempo de retención de sorbitol y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el tiempo de retención relativo al sorbitol debe ser aproximadamente 0,6 para maltitol, 0,8 para manitol y 1,1 para iditol; la Resolución *R* entre los picos de sorbitol y manitol no deber ser menor de 2,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar A*, registrar los cromatogramas durante dos veces el tiempo de retención del sorbitol y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el porcentaje de C₆H₁₄O₆ en la porción de Sorbitol en ensayo a partir de las respuestas de los picos de sorbitol en la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar A*, respectivamente y el valor declarado del Sorbitol SR-FA.

ROTULADO

Indicar en el rótulo cuando Sorbitol esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas parenterales y, cuando corresponda, el límite de endotoxinas bacterianas.

SUCCÍNICO, ÁCIDO



$C_4H_6O_4$

PM: 118,1

110-15-6

Definición - Ácido Succínico es Ácido butano-dioico. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_4H_6O_4$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales blancos. Fácilmente soluble en agua a ebullición; soluble en agua, alcohol y glicerina.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Transferir una gota de una solución saturada de Ácido Succínico a un tubo de ensayo pequeño, agregar una gota de solución de cloruro de amonio al 0,5 % y algunos mg de polvo de cinc. Tapar el tubo con un filtro de papel previamente humedecido con una solución de hexano que contenga 5 % de *p*-dimetilaminobenzaldehído y 20 % de ácido tricloroacético. Calentar durante un minuto: en el papel de filtro debe aparecer una mancha rosa a rojo violeta.

Determinación del punto de fusión <260>

Debe estar comprendido entre 185,0 y 190,0 C.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,025 %; determinado sobre 8 g de Ácido Succínico.

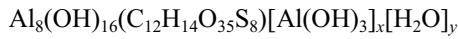
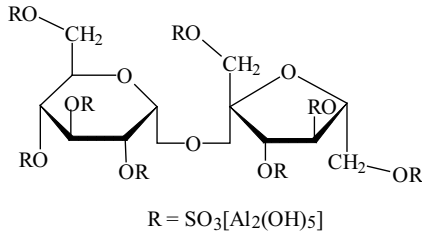
Límite de metales pesados <590>

Método I. No más de 20 ppm.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Ácido Succínico, transferir a un erlenmeyer y disolver en 25 ml de agua libre de dióxido de carbono. Agregar dos gotas de fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) hasta coloración rosada persistente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 5,91 mg de $C_4H_6O_4$.

SUCRALFATO



donde $x = 8$ a 10 e $y = 22$ a 31

54182-58-0

Definición - Sucralfato es Hexadeca- μ -hidroxitetraacosahidroxi- $[\mu_8$ -[1,3,4,6-tetra-*O*-sulfo- β -*D*-fructofuranosil- α -*D*-glucopiranosido tetrakis (sulfato ácido)(8-)]hexadecaaluminio. Es la sal básica de aluminio de octasulfato de sacarosa hidratada. Debe contener el equivalente a no menos de 30,0 por ciento y no más de 38,0 por ciento de octasulfato de sacarosa $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_{35}\text{S}_8$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco amorfo. Soluble en ácido clorhídrico diluido y soluciones de hidróxidos alcalinos; prácticamente insoluble en agua, alcohol y cloroformo.

Sustancia de referencia - Octasulfato Potásico de Sacarosa SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico de octasulfato de sacarosa en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Preparación estándar*.

B - Agregar ácido clorhídrico 0,1 N a 0,5 g de Sucralfato. Calentar a ebullición y neutralizar con hidróxido de sodio 0,1 N. Agregar tartrato cúprico alcalino (SR) y calentar a ebullición una porción de esta solución: se debe producir un precipitado rojo de óxido cuproso.

C - Una solución de Sucralfato en ácido clorhídrico 3 N debe responder a los ensayos para *Aluminio* <410>.

Claridad y color de la solución

Disolver 1,0 g de Sucralfato en 10 ml de ácido sulfúrico 2 N: la solución debe ser límpida y prácticamente incolora.

Capacidad neutralizante de ácido

Transferir aproximadamente 250 mg de Sucralfato, exactamente pesados, a una botella con tapa a rosca. Agregar 100 ml de ácido clorhídrico 0,1 N, previamente calentado a 37 °C, tapar la botella, colocar en un baño de agua a 37 °C y agitar por rotación durante 1 hora. Enfriar a temperatura ambiente y transferir 20,0 ml de esta solución a un vaso de precipitados de 100 ml. Agregar 30 ml de agua y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) hasta pH 3,5. Realizar una determinación con un blanco utilizando una mezcla de agua y ácido clorhídrico (30:20). Calcular los mEq de ácido consumido por gramo de Sucralfato en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$5N(V_B - V_T)/P$$

en la cual N es la normalidad exacta del hidróxido de sodio (SV) empleado, V_B y V_T son los volúmenes en ml de hidróxido de sodio (SV) consumido en la titulación del blanco y la muestra, respectivamente, y P es el peso en g del Sucralfato en ensayo: no debe consumirse menos de 12 mEq de ácido.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Transferir 500 mg de Sucralfato a un matraz aforado de 100 ml, agregar 30 ml de ácido nítrico 2 N, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un tubo de Nessler de 50 ml, agregar 3,0 ml de ácido nítrico 2 N y 2,0 ml de nitrato de plata (SR). Completar a volumen con agua y mezclar. Dejar en reposo, protegiendo de la luz solar directa, durante 5 minutos. La *Solución muestra* no debe presentar más turbidez que la producida por un control conteniendo 0,35 ml de ácido clorhídrico 0,020 N: no debe contener más de 0,50 % de cloruro.

Límite de arsénico <540>

Método II. No más de 4 ppm.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Límite de piridina y 2-metilpiridina

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama, un inyector de flujo dividido y una columna capilar de 10 m \times 0,53 mm recubierta con una capa de 2,65 μm de 5 % de fenilpolisiloxano y 95 % de metilpolisiloxano como fase estacionaria. Mantener la columna, el inyector y el detector a aproximadamente a 50, 150 y 200 °C, respectivamente. Se debe emplear helio como gas transportador, a una presión de 36 mm Hg.

Solución del estándar interno - Transferir 1,0 ml de 3-metilpiridina a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con cloroformo y mez-

clar. Transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con cloroformo y mezclar.

Solución madre del estándar - Transferir aproximadamente 500 mg de 2-metilpiridina y 500 mg de piridina, exactamente pesados, a un matraz aforado de 50 ml. Disolver y completar a volumen con cloroformo y mezclar. Transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con cloroformo y mezclar.

Solución estándar - Transferir 5,0 ml de *Solución madre del estándar* a un matraz aforado de 20 ml, agregar 1,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con cloroformo y mezclar.

Solución muestra - Sonicar aproximadamente 1,0 g de Sucralfato, exactamente pesado, en 10 ml de hidróxido de sodio 1 N hasta obtener una mezcla turbia uniforme. Extraer con tres porciones de 5 ml de cloroformo y recolectar los extractos clorofórmicos en un matraz aforado de 20 ml. Agregar 1,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con cloroformo y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el tiempo de retención relativo al pico de 3-metilpiridina debe ser aproximadamente 0,42 para piridina y 0,72 para 2-metilpiridina; la resolución *R* entre los picos de piridina y 2-metilpiridina no debe ser menor de 3,5; la resolución *R* entre los picos de 2-metilpiridina y 3-metilpiridina no debe ser menor de 2,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 1 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular la cantidad en μ g de piridina en la porción de Sucralfato en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$20C(R_M/R_E)$$

en la cual *C* es la concentración en μ g por ml de piridina en la *Solución estándar*, y R_M y R_E son las respuestas de los picos de piridina, relativos al estándar interno, obtenidos a partir de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, respectivamente. No debe contener más de 0,05 % de piridina.

Calcular la cantidad en μ g de 2-metilpiridina en la porción de Sucralfato en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$20C(R_M/R_E)$$

en la cual *C* es la concentración en μ g por ml de 2-metilpiridina en la *Solución estándar*, y R_M y R_E son las repuestas de los picos de 2-metilpiridina, relativos al estándar interno, obtenidos a partir de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, respectivamente. No debe contener más de 0,05 % de 2-metilpiridina.

Límite de heptasulfato de sacarosa

Sistema cromatográfico y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Fase móvil - Transferir 99,1 g de sulfato de amonio a un matraz aforado de 1 litro, disolver en 900 ml agua, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Ajustar a pH $3,5 \pm 0,1$ con ácido fosfórico, filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Emplear la *Preparación estándar* preparada según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* preparada según se indica en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 50 μ l de la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. El tiempo de retención relativo a octasulfato de sacarosa debe ser aproximadamente 0,6 para heptasulfato de sacarosa y el cociente entre las respuestas de los picos de heptasulfato y octasulfato de sacarosa no debe ser mayor de 0,1.

Contenido de aluminio

Transferir aproximadamente 1,0 g de Sucralfato, exactamente pesado, a un matraz aforado de 250 ml, agregar 10 ml de ácido clorhídrico 6 N, mezclar y calentar en un baño de agua a 70 °C, agitando por rotación, durante 5 minutos. Enfriar a temperatura ambiente, completar a volumen con agua y mezclar. Filtrar y descartar los primeros ml del filtrado. Transferir 25 ml del filtrado a un vaso de precipitados de 250 ml, agregar 25 ml de edetato disódico 0,05 M (SV), 20 ml de solución reguladora de ácido acético-acetato de amonio (SR) y mezclar. Calentar en un baño de agua a 70 °C durante 5 minutos. Enfriar a temperatura ambiente, agregar 50 ml de alcohol y 2 ml de ditizona (SR) y mezclar. Titular con sulfato de cinc 0,05 M (SV) hasta punto final color rosa brillante o rosado. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de edetato disódico 0,05 M equivale a 1,349 mg de aluminio. No debe contener menos de 15,5 ni más de 18,5 % de aluminio, calculado sobre la sustancia sin secar.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector de índice de refracción y una columna de 30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por una capa monomolecular de aminopropilsilano químicamente unido a un soporte de gel de sílice totalmente poroso, de 10 µm de diámetro. Mantener el detector y la columna a 30 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Transferir 132 g de sulfato de amonio a un matraz aforado de 1 litro, disolver en 900 ml agua, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Ajustar a pH 3,5 ± 0,1 con ácido fosfórico, filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una porción exactamente pesada de Octasulfato Potásico de Sacarosa SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 10 mg de Octasulfato Potásico de Sacarosa anhidra por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 450 mg de Sucralfato, transferir a un tubo de centrifuga de 35 ml y agitar en un mezclador por vórtice a velocidad moderada. Durante la agitación agregar 10,0 ml de una mezcla de ácido sulfúrico 4 N e hidróxido de sodio 2,2 N (1:1). Sonicar con agitación durante 5 minutos, manteniendo la temperatura de la mezcla por debajo de 30 °C. Sin demora transferir el tubo a un mezclador por vórtice y agregar un volumen V , exactamente medido, de hidróxido de sodio 0,1 N para ajustar la solución a pH 2,0. Agitando moderadamente, diluir la solución con (15- V) ml de agua. Agitar durante 1 minuto y centrifugar durante 5 minutos. Separar el sobrenadante transparente y dejarla reposar a temperatura ambiente hasta que el pH se estabilice [NOTA: si el pH no se encuentra entre 2,3 y 3,5, repetir el ensayo empleando un volumen diferente de hidróxido de sodio 0,1 N]. Emplear el sobrenadante transparente como *Preparación muestra*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 400 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 4,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

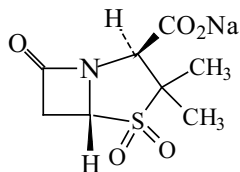
Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente

50 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad en mg de octasulfato de sacarosa ($C_{12}H_{14}O_{35}S_8$) en la porción de Sucralfato en ensayo por la fórmula siguiente:

$$(974,8/1.287,5)25C(r_M/r_E)$$

en la cual 974,8 y 1.287,5 son los pesos moleculares de octasulfato de sacarosa y octasulfato potásico de sacarosa, respectivamente, C es la concentración en mg por ml de Octasulfato Potásico de Sacarosa anhidra en la *Preparación estándar*, y r_M y r_E son las repuestas de los picos de octasulfato de sacarosa obtenidos a partir de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, respectivamente.

SULBACTAM SÓDICO



$C_8H_{10}NNaO_5S$ PM: 255,2 69388-84-7

Definición – Sulbactam sódico es (2S, 5R)-3,3-dimetil-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxilato de sodio 4,4-dioxido. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_8H_{10}NNaO_5S$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en agua y ácidos diluidos; moderadamente soluble en alcohol.

Sustancias de referencia - Sulbactam sódico SR-FA. Ácido 6-aminopenicilánico SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre hermético.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

Aspecto de la solución

Transferir 2,5 g de Sulbactam Sódico a un matraz aforado de 25 ml, disolver en agua y completar a volumen con el mismo solvente. Mezclar y examinar inmediatamente: la solución debe ser limpia.

Absorbancia de la solución

Disolver 1,0 g de Sulbactam sódico en 100 ml de agua. Examinar a 430 nm (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*). La absorbancia no debe ser mayor a 0,10.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre + 219° y + 233°, determinada a 20 °C.

Solución muestra: 10 mg por ml, en agua.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 7,2.

Cuando en el rótulo se indica que Sulbactam Sódico es estéril, el pH debe estar comprendido entre 5,2 y 7,2.

Solución muestra: preparar una solución de aproximadamente 50 mg por ml, en agua libre de dióxido de carbono.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico, Solución A, Solución B, Solución de fosfato, Diluyente y Fase móvil - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar A - Proceder según se indica en *Preparación estándar* en *Valoración*.

Solución estándar B- Diluir una porción exactamente medida de la *Solución estándar A* con *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 2,2 µg de Sulbactam Sódico por ml.

Solución estándar C - Disolver 15 mg de Ácido 6-aminopenicilánico SR-FA en *Solución A* y diluir a 50 ml con *Solución de fosfato*.

Solución estándar D - Mezclar 1 ml de *Solución estándar A* y 1 ml de *Solución estándar C* y diluir a 25 ml con *Diluyente*.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Sulbactam Sódico, transferir a un matraz aforado de 50 ml, agregar 1 ml de acetonitrilo, sonicar durante 5 minutos y completar a volumen con *Solución de fosfato*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar D* y registrar las respuestas de los picos según se indica en procedimiento: la resolución *R* entre los picos del ácido 6-aminopenicilánico y sulbactam no debe ser menor de 7,0; el tiempo de retención del sulbactam debe ser aproximadamente 2,5 minutos y la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 5,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar B*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Identificar los picos que pudieran aparecer en el cromatograma de la *Solución muestra* y calcular los porcentajes presentes en la porción de Sulbactam Sódico en ensayo con respecto a la respuesta del pico de la *Solución estándar B* de acuerdo a lo indicado en la siguiente tabla:

<i>Sustancias relacionadas</i>	<i>Tiempo de retención relativo</i>	<i>Factor de corrección</i>	<i>Límite (%)</i>
Ácido (2S)-2-amino-3-metil-3-sulfinobutanoico	0,4	0,6	0,5
Ácido 6-aminopenicilánico	0,6	0,5	0,1
Sulfona del ácido 6-bromopenicilánico	1,6		0,2
Acido 6-bromopenicilánico	2,0	0,5	0,1
Sulfona del ácido 6,6-dibromopenicilánico	2,1		0,2
Ácido 6,6-dibromopenicilánico	2,5	0,6	0,1
Individual desconocida			0,1
Totales			1,0

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 1,0 %.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que Sulbactam Sódico esta destinado a preparaciones parenterales debe contener menos de 0,17 Unidades de endotoxina por mg.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 215 nm y una columna de 10 cm x 4,0 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 µm de diámetro. La temperatura de la columna se debe mantener a 40 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto. Programar el cromatógrafo del siguiente modo:

Tiempo (minutos)	Solución A (%)	Solución B (%)	Etapas
0-7,5	98→50	2→50	Gradiente lineal
7,5-8,5	50	50	Isocrático
8,5-9,0	50→98	50→2	Gradiente lineal
9,0-12,5	98	2	Isocrático

Solución A - Disolver 5,44 g de fosfato monobásico de potasio en agua, ajustar a pH 4,0 con ácido fosfórico diluido, completar a 1 litro con agua y filtrar.

Solución B - Acetonitrilo.

Fase móvil - Emplear mezclas variables de *Solución A* y *Solución B*, según se indica en *Sistema cromatográfico*. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de fosfato - Disolver 2,72 g de fosfato monobásico de potasio en agua, ajustar a pH 4,0 con ácido fosfórico diluido, completar a 1 litro con agua y filtrar.

Diluyente - Transferir 20 ml de acetonitrilo a un recipiente apropiado y diluir a 1 litro con *Solución de fosfato*.

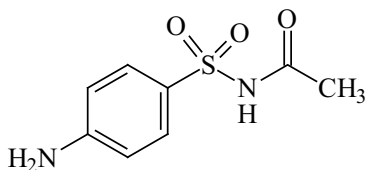
Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 80 mg de Sulbactam Sódico SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 80 mg de Sulbactam Sódico, transferir a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el tiempo de retención del sulbactam debe ser aproximadamente 2,5 minutos y la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el porcentaje de C₈H₁₀NNaO₅S en la porción de Sulbactam Sódico en ensayo.

SULFACETAMIDA



$C_8H_{10}N_2O_3S$ PM: 214,2 144-80-9

Definición - Sulfacetamida es *N*-[(4-Aminofenil)sulfonyl]-acetamida. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_8H_{10}N_2O_3S$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco. Sus soluciones acuosas son sensibles a la luz e inestables frente a ácidos o bases fuertes. Fácilmente soluble en ácidos minerales diluidos y en soluciones de hidróxido de sodio o de potasio; soluble en alcohol; poco soluble en agua y éter; muy poco soluble en cloroformo.

Sustancia de referencia - Sulfacetamida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Transferir aproximadamente 500 mg de Sulfacetamida a un tubo de ensayo, calentar suavemente hasta ebullición y luego enfriar: un líquido oleoso, con olor característico de acetamida, debe condensar en las paredes del tubo (*reacción distintiva de los sublimados de sulfamerazina, sulfadiazina, sulfametazina y sulfapirazina, los cuales son sólidos a temperatura ambiente*).

Transparencia y color de la solución

Disolver aproximadamente 200 mg de Sulfacetamida en 5 ml de hidróxido de sodio 1 N: se debe producir una solución amarillo a amarillo pálido, pudiendo desarrollar a lo sumo una ligera turbidez.

Reacción

Una solución de Sulfacetamida 1 en 150 debe ser ácida frente al tornasol.

Determinación del punto de fusión <260>

Método I. Entre 181 y 184 °C.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Sulfato - Calentar 1,0 g de Sulfacetamida en 50 ml de agua a 70 °C durante 5 minutos. Enfriar

inmediatamente a temperatura ambiente y filtrar. Una porción de 25 ml del filtrado obtenido no debe presentar más sulfato que el que corresponde a 0,2 ml de ácido sulfúrico 0,02 N (0,04 %).

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de selenio <610>

No más de 0,003 %, determinado sobre 200 mg.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

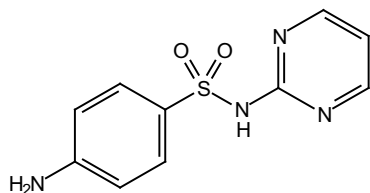
Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Proceder según se indica en 730. *Titulación con nitritos.* Cada ml de nitrito de sodio 0,1 M equivale a 21,42 mg de $C_8H_{10}N_2O_3S$.

SULFADIAZINA



$C_{10}H_{10}N_4O_2S$ PM: 250,3 68-35-9

Definición - Sulfadiazina es 4-Amino-*N*-2-pirimidinilbencenosulfonamida. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{10}H_{10}N_4O_2S$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o amarillo pálido. Inodoro o casi inodoro. Estable al aire, pero se oscurece lentamente por exposición a la luz. Fácilmente soluble en ácidos minerales diluidos, en soluciones de hidróxidos de sodio y potasio y en amoníaco; moderadamente soluble en alcohol y acetona; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Sulfadiazina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Fundir con precaución aproximadamente 50 mg de Sulfadiazina en un tubo de ensayo: se debe desarrollar un color pardo rojizo. Los gases que se producen durante la descomposición no deben virar el color del papel de acetato de plomo humedecido (diferencia con sulfatiazol).

C - Calentar ligeramente 1 g de Sulfadiazina en un tubo de ensayo hasta que se forme un sublimado. Recolectar unos pocos miligramos del sublimado con una varilla de vidrio y mezclar en un tubo de ensayo con 1 ml de una solución de resorcinol en alcohol 1 en 20. Agregar 1 ml de ácido sulfúrico y mezclar por agitación: debe aparecer inmediatamente un color rojo oscuro. Cuidadosamente diluir la mezcla con 25 ml de agua helada y agregar un exceso de hidróxido de amonio 6 N: se debe producir un color azul o azul rojizo.

Transparencia de la solución

Disolver 1 g de Sulfadiazina en una mezcla de 20 ml de agua y 5 ml de hidróxido de sodio 1 N. La

solución debe ser transparente y no presentar un color más intenso que amarillo pálido.

Acidez

Digerir 2,00 g de Sulfadiazina con 100 ml de agua a 70 °C durante 5 minutos. Enfriar inmediatamente a temperatura ambiente y filtrar. Agregar a 25,0 ml del filtrado, 2 gotas de fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,10 N: no deben consumirse más de 0,20 ml para producir un color rosado.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de selenio <610>

No más de 0,003 %, determinado sobre 200 mg.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Impurezas comunes <510>

Solución muestra: 8,3 mg por ml, en una mezcla de tolueno y dimetilformamida (2:1).

Soluciones estándar: 0,008; 0,041; 0,8; y 0,17 mg por ml, en una mezcla de tolueno y dimetilformamida (2:1).

Fase móvil: cloroformo, metanol e hidróxido de amonio (30:12:1).

Revelador: 11.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm × 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, acetonitrilo y ácido acético glacial (87:12:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Sulfadiazina SR-FA en hidróxido de sodio 0,025 N para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml.

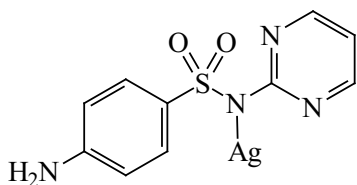
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Sulfadiazina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver con hidróxido de sodio 0,025 N, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar

las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría para el pico de sulfadiazina no debe ser mayor de 1,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{10}H_{10}N_4O_2S$ en la porción de Sulfadiazina en ensayo.

SULFADIAZINA DE PLATA



$C_{10}H_9AgN_4O_2S$ PM: 357,2 22199-08-2

Definición - Sulfadiazina de Plata es la sal de plata de 4-Amino-*N*-2-pirimidinilbencenosulfonamida. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{10}H_9AgN_4O_2S$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o amarillo pálido. Inodoro. Estable al aire; se transforma en color amarillo por exposición a la luz. Se descompone moderadamente frente a ácidos minerales fuertes. Fácilmente soluble en solución de amonio al 30 %; poco soluble en acetona; prácticamente insoluble en alcohol, cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Sulfadiazina de Plata SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Pureza cromatográfica*. El valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución estándar A*.

C - Transferir alrededor de 1,0 g de Sulfadiazina de Plata a un matraz aforado de 50 ml, disolver en 15 ml de hidróxido de amonio y 15 ml de agua, completar a volumen con agua y mezclar: la solución debe responder a los ensayos para *Plata* <410>.

Determinación del tamaño de partícula

[NOTA: realizar el ensayo con luz de baja intensidad]. Envolver con una hoja de aluminio un matraz de 1 litro, agregar 0,5 g de Sulfadiazina de Plata, agregar 1 litro de una solución isotónica apropiada y mezclar durante 2 horas. Agregar 5 ó 6 gotas de un dispersante apropiado. Sonicar durante 15 segundos y analizar inmediatamente empleando un contador electrónico de partículas con aperturas de 30 y 140 μm . El promedio del tamaño de las partículas no debe ser mayor a 10 μm y el tamaño

de no más del 10 % de las partículas debe ser de 40 μm .

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 1 hora: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Límite de nitrato

Solución estándar - Preparar una solución de nitrato de potasio de aproximadamente 200 μg de nitrato por ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 2 g de Sulfadiazina de Plata, transferir a un vaso de precipitados, agregar 30 ml de agua, agitar durante 20 minutos y filtrar a través de un filtro libre de nitrato.

Procedimiento - Transferir a sendos tubos de ensayo 3 ml de *Solución muestra* y 3 ml de agua, que será empleada como blanco. Transferir 1 ml de *Solución estándar* y 2 ml de agua a un tercer tubo de ensayo. Enfriar los tres tubos en un baño de hielo. Agregar lentamente a cada tubo 7 ml de una solución fría de ácido cromotrópico, preparada disolviendo 50 mg de ácido cromotrópico en 100 ml de ácido sulfúrico frío, mientras se agita por rotación, dejar los tubos en el baño de hielo durante 3 minutos. Retirar los tubos del baño de hielo y dejar en reposo durante 30 minutos. Determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y la *Solución estándar* a la longitud de onda de máxima absorción aproximadamente 408 nm, con un espectrofotómetro, contra el blanco. Calcular el contenido de nitrato en la porción de Sulfadiazina de Plata en ensayo. No debe contener más de 0,1 %.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía de capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol e hidróxido de amonio (7:4:1). [NOTA: mezclar el cloroformo y el metanol y luego agregar el hidróxido de amonio].

Solución estándar A - Transferir aproximadamente 50 mg de Sulfadiazina de Plata SR-FA a un matraz aforado de 10 ml y disolver en 3,0 ml de hidróxido de amonio. Completar a volumen con metanol y mezclar. Esta solución contiene aproximadamente 5 mg por ml.

Solución estándar B - Diluir cuantitativamente un volumen de la *Solución estándar A*, en etapas si fuera necesario, con una mezcla de metanol y agua (4:1) hasta obtener una solución de aproximadamente 0,05 mg por ml.

Solución muestra - Transferir aproximadamente 50 mg de Sulfadiazina de Plata a un matraz aforado de 10 ml y disolver en 3,0 ml de hidróxido de amonio. Completar a volumen con metanol y mezclar hasta obtener una solución de aproximadamente 5 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de las *Soluciones estándar A* y *B*, dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: a excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ninguna mancha debe ser mayor en tamaño o intensidad que la obtenida con la *Solución estándar B* (1,0 %) y la suma de las intensidades de todas las manchas, a excepción de la mancha principal, no debe ser mayor de 2,0 %.

Límite de plata

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Sulfadiazina de Plata, transferir a un vaso de precipitados, agregar 150 ml de agua y 50 ml de ácido nítrico y agitar durante 15 minutos. Titular con tiocianato de potasio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente empleando un electrodo indicador de plata y un electrodo de referencia de doble juntura. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de tiocianato de potasio 0,1 N equivale a 10,79 mg de plata: no debe contener menos de 29,3 % y no más de 30,5 % de plata.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm \times 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, acetonitrilo y ácido fosfórico (900:99:1). Desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del Sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Transferir 100 ml de hidróxido de amonio a un matraz aforado de 1 litro, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución del estándar interno - Disolver una cantidad exactamente pesada de *Sulfamerazina* en *Diluyente* y diluir cuantitativamente, y en etapas si

fuera necesario, con *Diluyente* hasta obtener una solución de aproximadamente 10 mg por ml.

Preparación madre del estándar - Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Sulfadiazina de Plata SR-FA, transferir a un matraz aforado de 200 ml, disolver en 100 ml de *Diluyente* y sonicar durante 5 minutos. Agregar 25,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Preparación estándar - Transferir 2,0 ml de *Preparación madre del estándar* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Sulfadiazina de Plata, transferir a un tubo de centrifuga de 50 ml de fondo redondo. Agregar aproximadamente 35 ml de metanol, cerrar el tubo con una tapa con contratapa inerte y mezclar, empleando un mezclador de vórtice, durante aproximadamente 15 segundos. Centrifugar durante 15 minutos para separar las fases. Aspirar y descartar la fase metanólica sobrenadante. [NOTA: debe tenerse sumo cuidado para evitar la aspiración de parte del residuo]. Transferir 25,0 ml de la *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 200 ml. Agregar aproximadamente 30 ml de *Diluyente* al tubo de centrifuga, colocar la tapa nuevamente y mezclar, empleando un mezclador de vórtice, durante aproximadamente 15 segundos. Transferir cuantitativamente el contenido del tubo al matraz aforado de 200 ml, empleando *Diluyente* para enjuagar el tubo. Repetir el proceso tres veces más agregando 30 ml de *Diluyente*, mezclando y transfiriendo cuantitativamente al matraz. Llevar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Sonicar si fuera necesario para obtener la disolución del residuo. Transferir 2,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Fase móvil*, mezclar y filtrar.

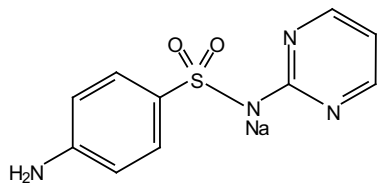
Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de sulfadiazina y sulfamerazina no debe ser menor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{10}H_9AgN_4O_2S$ en la porción de Sulfadiazina de Plata en ensayo.

SULFADIAZINA SÓDICA

VALORACIÓN

Proceder según se indica en <730>. *Titulación con nitrito*. Cada ml de nitrito de sodio 0,1 M equivale a 27,23 mg de $C_{10}H_9N_4NaO_2S$.



$C_{10}H_9N_4NaO_2S$ PM: 272,3 547-32-0

Definición - Sulfadiazina Sódica es la Sal monosódica de 4-amino-*N*-2-pirimidinilbencenosulfonamida. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_{10}H_9N_4NaO_2S$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco. Por exposición prolongada al aire húmedo absorbe dióxido de carbono con liberación de sulfadiazina y se torna moderadamente soluble en agua. Sus soluciones son alcalinas frente a fenolftaleína. Inestable por exposición a la luz. Fácilmente soluble en agua; poco soluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Disolver 1,5 g de Sulfadiazina Sódica en 25 ml de agua y agregar 3 ml de ácido acético 6 N: se debe formar un precipitado blanco (sulfadiazina). Recolectar el precipitado en un filtro, lavarlo bien con agua fría y secar a 105 °C durante 1 hora: la sulfadiazina obtenida debe fundir entre 250 y 254 °C empleando el *Método I* según se indica en <260>. *Determinación del punto de fusión*.

B - Someter a ignición 500 mg de Sulfadiazina Sódica: el residuo debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

Límite de metales pesados <590>

Disolver 1,0 g Sulfadiazina Sódica en 25 ml de agua y agregar 5 gotas de sulfuro de sodio (SR): se debe producir una coloración que no debe ser más oscura que la de un blanco que contiene 2 ml de *Solución estándar de plomo (10 ppm)*. El límite es 0,002 %.

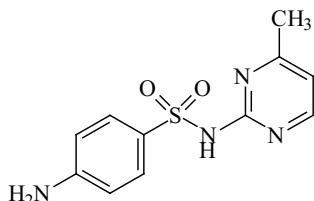
Límite de selenio <610>

No más de 0,003 %, determinado sobre 200 mg.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

SULFAMERAZINA



$C_{11}H_{12}N_4O_2S$ PM:264,3 127-79-7

Definición - Sulfamerazina es el 4-Amino-N-(4-metil-2-pirimidinil)bencenosulfonamida. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{11}H_{12}N_4O_2S$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales o polvo cristalino blanco, blanco amarillento o blanco rosado. Moderadamente soluble en acetona; poco soluble en alcohol; muy poco soluble en agua y cloruro de metileno. Se disuelve en soluciones de hidróxidos alcalinos y ácidos minerales diluidos. Funde aproximadamente a 235 °C, con descomposición.

Sustancia de referencia - Sulfamerazina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Sustancias relacionadas*. La mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra B* se debe corresponder en tamaño, intensidad y valor de R_f con la mancha obtenida en la *Solución estándar A*.

Acidez

Reducir a polvo fino una porción de Sulfamerazina. A 1,25 g del polvo agregar 40 ml de agua libre de dióxido de carbono y calentar a 70 °C durante 5 minutos. Enfriar durante 15 minutos en un baño de hielo y filtrar. A 20 ml del filtrado agregar 0,1 ml de azul de bromotimol (SR1). No deben requerirse más de 0,2 ml de hidróxido de sodio 0,1 N para cambiar el color del indicador.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromato-*

grafía) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Dioxano, nitrometano, agua y amoníaco diluido (50:40:5:3).

Diluyente - Metanol y amoníaco concentrado (96:4).

Solución muestra A - Disolver 100 mg de Sulfamerazina en 3 ml de *Diluyente* y diluir a 5 ml con el mismo solvente.

Solución muestra B - Diluir 1 ml de *Solución muestra A* a 10 ml con *Diluyente*.

Solución estándar A - Disolver 10 mg de Sulfamerazina SR-FA en 3 ml de *Diluyente* y diluir a 5 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Diluir 2,5 ml de *Solución muestra B* a 50 ml con *Diluyente*.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de las *Soluciones estándar A* y *B* y 5 µl de las *Soluciones muestra A* y *B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente, secar a una temperatura entre 100 y 105 °C y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm: a excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra A*, ninguna mancha debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar B* (0,5 %).

Límite de metales pesados <590>

Método IV. Emplear 1,0 g de Sulfamerazina para preparar la *Solución muestra* y preparar la *Solución estándar* a partir de 2 ml de *Solución estándar de plomo* (10 ppm). El límite es 0,002 %.

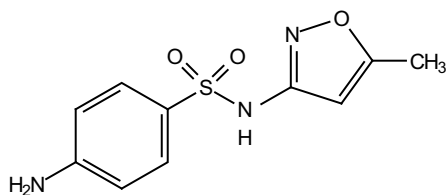
Pérdida por secado <680>

Secar entre 100 y 105 °C: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 250 mg de Sulfamerazina y transferir a un vaso de precipitados de 100 ml. Disolver en una mezcla de 50 ml de agua y 20 ml de ácido clorhídrico al 7,3 %. Agregar 3 g de bromuro de potasio y enfriar en un baño de hielo. Titular con nitrito de sodio 0,1 M (SV), agregado lentamente y con agitación, determinando el punto final electrométicamente. Cada ml de nitrito de sodio 0,1 M equivale a 26,43 mg de $C_{11}H_{12}N_4O_2S$.

SULFAMETOXAZOL



$C_{10}H_{11}N_3O_3S$ PM: 253,3 723-46-6

Definición - Sulfametoxazol es 4-Amino-*N*-(5-metil-3-isoxazolil)bencenosulfonamida. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{10}H_{11}N_3O_3S$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en acetona y en soluciones diluidas de hidróxido de sodio; moderadamente soluble en alcohol; prácticamente insoluble en agua, éter y cloroformo.

Sustancias de referencia - Sulfametoxazol SR-FA. Sulfanilamida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: hidróxido de sodio 1 en 250.

Concentración: 10 μ g por ml.

Las absorptividades a 257 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 2,0 %.

C - Disolver 100 mg de Sulfametoxazol en 2 ml de ácido clorhídrico y agregar 3 ml de solución de nitrito de sodio 1 en 100 y 1 ml de solución de hidróxido de sodio 1 en 10 que contenga 10 mg de 2-naftol: se debe formar un precipitado anaranjado rojizo.

Determinación del punto de fusión <260>

Método I. Entre 168 y 172 °C.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Límite de selenio <610>

No más de 0,003 %, determinado sobre 200 mg.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Alcohol, *n*-heptano, cloroformo y ácido acético glacial (25:25:25:7).

Solución estándar - Disolver 100 mg de Sulfametoxazol SR-FA en 0,10 ml de hidróxido de amonio, diluir a 10,0 ml con metanol y mezclar.

Solución de comparación - Disolver 20 mg de Sulfanilamida SR-FA y 20 mg de ácido sulfanílico en 10 ml de hidróxido de amonio y diluir a 100 ml con metanol. Transferir 2,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, agregar 10 ml de hidróxido de amonio, completar a volumen con metanol y mezclar.

Solución muestra - Disolver 100 mg de Sulfametoxazol en 0,10 ml de hidróxido de amonio, diluir a 10,0 ml con metanol y mezclar.

Revelador 1 - Ácido clorhídrico al 8 % y nitrito de sodio al 5 % (25:1,5).

Revelador 2 - Diclorhidrato de *N*-(1-naftil)-etilendiamina al 0,1 % en *Alcohol absoluto*.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución estándar*, 25 μ l de la *Solución de comparación* y 10 μ l de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 1* y dejar secar a temperatura ambiente. Pulverizar con *Revelador 2* y examinar las manchas: los valores de R_f son aproximadamente 0,7 para sulfametoxazol, 0,5 para sulfanilamida y 0,1 para ácido sulfanílico. Las manchas correspondientes a sulfanilamida y ácido sulfanílico en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no deben ser mayores en tamaño o intensidad a las manchas, a los respectivos valores de R_f , obtenidas para sulfanilamida y ácido sulfanílico con la *Solución de comparación* (0,2 %).

Impurezas orgánicas volátiles <520>

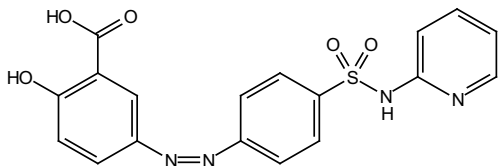
Método II.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Sulfametoxazol, disolver en una mezcla de 20 ml de ácido acético glacial y 40 ml de agua. Agregar 15 ml de ácido clorhídrico y enfriar a 15 °C. De inmediato, titular con nitrito de sodio 0,1 M (SV) y determinar el punto final potenciométricamente,

empleando un sistema de electrodos de platino-calomel. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de nitrito de sodio 0,1 M equivale a 25,33 mg de $C_{10}H_{11}N_3O_3S$.

SULFASALAZINA



$C_{18}H_{14}N_4O_5S$ PM: 398,4 599-79-1

Definición - Sulfasalazina es Ácido 2-hidroxi-5-[[4-[(2-piridinilamino)sulfonyl]fenil]azo]benzoico. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 101,5 por ciento de $C_{18}H_{14}N_4O_5S$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo fino amarillo brillante o amarillo pardusco. Inodoro. Funde aproximadamente a 255 °C, con descomposición. Soluble en soluciones acuosas de hidróxidos alcalinos; muy poco soluble en alcohol; prácticamente insoluble en agua, éter y cloroformo.

Sustancia de referencia - Sulfasalazina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,5 %.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Digerir 2,0 g de Sulfasalazina en 100 ml de agua a 70 °C durante 5 minutos. Enfriar de inmediato a temperatura ambiente y filtrar. Transferir 25 ml del filtrado a un vaso de precipitados de 50 ml (retener el resto de este filtrado para el ensayo de *Sulfato*), agregar 1 ml de ácido nítrico, mezclar y dejar reposar durante 5 minutos. Filtrar a través de papel de filtro: el filtrado no debe presentar más cloruro que el correspondiente a 0,10 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,014 %).

Sulfato - Transferir una porción de 25 ml del filtrado obtenido en el ensayo para *Cloruro* a un vaso de precipitados de 50 ml. Agregar 1 ml de ácido clorhídrico 3 N, mezclar y dejar reposar durante 5 minutos. Filtrar a través de papel de filtro: el filtrado no debe presentar más sulfato que el correspondiente a 0,20 ml de ácido sulfúrico 0,020 N (0,04 %).

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, acetona y ácido fórmico (60:30:5).

Diluyente - Alcohol e hidróxido de amonio 2 M (4:1).

Solución estándar - Disolver una porción de Sulfasalazina SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 10 mg por ml.

Soluciones estándar diluidas - Diluir alícuotas de la *Solución estándar* cuantitativamente y en etapas con *Diluyente* para obtener soluciones con las siguientes concentraciones:

Solución estándar diluida	concentración (µg/ml)	% con respecto a la muestra
A	200	2,0
B	150	1,5
C	100	1,0
D	20	0,2

Solución muestra - Preparar una solución de Sulfasalazina en *Diluyente* de aproximadamente 10 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de la *Solución muestra*, 10 µl de la *Solución estándar* y 10 µl de las *Soluciones estándar diluidas A, B, C y D*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas en una cámara no saturada hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y secar con la ayuda de una corriente de aire caliente. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar al obtenido con la *Solución estándar*; a excepción de la mancha principal en el cromatograma de la *Solución muestra*, ninguna mancha debe ser mayor en tamaño o intensidad que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A* (2 %) y la suma de las intensidades de las manchas secundarias no debe ser mayor de 4 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 150 mg de Sulfasalazina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en hidróxido de sodio 0,1 N, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 1 litro que contenga 750 ml de agua y mezclar. Agregar 20,0 ml de ácido acético 0,1 N, completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 150 mg de Sulfasalazina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en hidróxido de sodio 0,1 N, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 1 litro que contenga 750 ml de agua y mezclar. Agregar 20,0 ml de ácido acético 0,1 N, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 359 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando agua como blanco. Calcular la cantidad de $C_{18}H_{14}N_4O_5S$ en la porción de Sulfasalazina en ensayo.

SULFÚRICO, ÁCIDO

H₂SO₄

PM: 98,1

7664-93-9

Definición - Ácido Sulfúrico debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 98,0 por ciento, en peso, de H₂SO₄ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido transparente, incoloro, oleoso. Miscible con agua y alcohol con generación de calor. Cáustico y corrosivo. Densidad relativa aproximadamente 1,84.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Precaución - Cuando se mezcla Ácido Sulfúrico con otros líquidos, agregar siempre éste al diluyente cuidadosamente. Trabajar bajo campana de extracción.

Identificación

Debe responder a los ensayos para *Sulfato* <410>.

Límite de Cloruro <560>

Una dilución de 1,1 ml de Ácido Sulfúrico, equivalente a 2,0 g, en agua no debe contener más cloruro que el correspondiente a 0,15 ml de ácido clorhídrico 0,02 N (0,005 %).

Arsénico

Transferir 1,6 ml de Ácido Sulfúrico, equivalente a 3,0 g, a una cápsula de porcelana que contenga 3 ml de ácido nítrico y 20 ml de agua. Evaporar hasta formación de gases densos de trióxido de azufre, enfriar y transferir cuidadosamente el remanente a un matraz generador de arsina. Lavar la cápsula con 50 ml de agua y reunir los lavados en el matraz generador de arsina. Proceder según indica en *Procedimiento* en 540. *Límite de arsénico*, excepto que se debe omitir el agregado de 20 ml de ácido sulfúrico 7 N. El límite es 1 ppm.

Metales pesados <590>

Agregar 2,2 ml de Ácido Sulfúrico, equivalente a 4,0 g, a una solución de 1 mg de carbonato de sodio por ml. Calentar hasta casi sequedad, agregar 1 ml de ácido nítrico, evaporar hasta sequedad, agregar al residuo obtenido 2 ml de ácido acético 1 N y diluir con agua a 25 ml. El límite es 5 ppm.

Sustancias reductoras

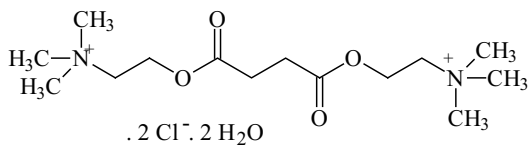
Diluir cuidadosamente 4,4 ml de Ácido Sulfúrico, equivalente a 8,0 g, con aproximadamente 50 ml de agua helada, manteniendo la solución fría durante el agregado. Agregar 0,10 ml de permanganato de potasio 0,10 N: la solución debe permanecer rosada du-

rante 5 minutos.

VALORACIÓN

Transferir 20 ml de agua a un erlenmeyer con tapón de vidrio. Pesar el erlenmeyer y agregar aproximadamente 1 ml de Ácido Sulfúrico. Pesar nuevamente para obtener el peso de la muestra, agregar 25 ml de agua, enfriar, agregar rojo de metilo (SR) y titular con hidróxido de sodio 1 N (SV). Cada ml de hidróxido de sodio 1 N equivale a 49,04 mg de H₂SO₄.

SUXAMETONIO, CLORURO DE



C₁₄H₃₀Cl₂N₂O₄ · 2H₂O

PM: 397,3

Sinonimia - Cloruro de Succinilcolina.

Definición - Cloruro de Suxametonio es Diclouro de 2,2'-succinildioxibis (*N,N,N*-etiltrimetilamonio). Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de C₁₄H₃₀Cl₂N₂O₄ · 2H₂O, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Higroscópico. Funde aproximadamente a 160 °C determinado sin desecación previa. Fácilmente soluble en agua y poco soluble en alcohol.

Sustancia de referencia - Cloruro de Suxametonio SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos herméticamente cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Responde a los ensayos para Cloruro <410>.

C - Disolver aproximadamente 25 mg de Cloruro de Suxametonio en 1 ml de agua y agregar 0,1 ml de solución de cloruro de cobalto al 1,0 % y 0,1 ml de solución de ferrocianuro de potasio 5,3 %: se debe desarrollar color verde.

Determinación del punto de fusión <260>

Disolver 1,0 g de Cloruro de Suxametonio en agua libre de dióxido de carbono y diluir hasta 20 ml con el mismo solvente. A 1 ml de esta solución agregar 9 ml de agua, 10 ml de ácido sulfúrico diluido y 30 ml de solución de reineckato de amonio al 1,0 %. Se debe formar un precipitado rosa. Dejar reposar durante 30 minutos. Filtrar, lavar con agua, con alcohol y con éter. Secar aproximadamente a 80 °C. El punto de fusión del precipitado debe estar comprendido entre 180 y 185 °C.

Determinación del pH <250>

Entre 4,0 y 5,0, determinado sobre una solución de 50 mg por ml.

Cloruro de colina

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con celulosa microcristalina.

Fase móvil - Butanol, agua y ácido fórmico anhidro (5:4:1).

Solución muestra - Disolver 400 mg de Cloruro de Suxametonio en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar - Disolver 400 mg de Cloruro de Suxametonio SR-FA en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Revelador - Iodobismutato de potasio (SR1).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de la *Solución muestra* y 5 µl de *Solución estándar*, dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar en una corriente de aire. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*. A excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* ninguna mancha debe ser más intensa que la correspondiente a cloruro de colina obtenida con la *Solución estándar* (0,5 %). El cromatograma obtenido con la *Solución estándar* debe presentar dos manchas claramente separadas.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa - Entre 8,0 y 10,0 %, determinada en 300 mg de Cloruro de Suxametonio.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 150 mg de Cloruro de Suxametonio y diluir en 50 ml de anhídrido acético. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 18,07 mg de C₁₄H₃₀Cl₂N₂O₄.

TALCO

$Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2$ PM: 379,3 14087-96-6

Definición - Talco es un polvo natural y seleccionado de silicato de magnesio hidratado que puede contener variables cantidades de minerales asociados, predominando clorita (silicatos de magnesio y aluminio hidratado), magnesita (carbonato de magnesio), calcita (carbonato de calcio) y dolomita (carbonato de calcio y magnesio) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco, ligero y homogéneo. Untuoso al tacto, no abrasivo. Prácticamente insoluble en agua; alcohol y en soluciones diluidas de ácidos e hidróxidos alcalinos.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*, empleando bromuro de potasio: debe presentar bandas de absorción a $3677 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$, $1018 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ y $669 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$.

B - Mezclar aproximadamente 200 mg de carbonato de sodio anhidro y 2 g de carbonato de potasio, fundir en un crisol de platino, agregar 100 mg de Talco, calentar hasta fundir y dejar enfriar. Transferir la mezcla fundida a una placa o vaso de precipitados con la ayuda de aproximadamente 50 ml de agua caliente y agregar ácido clorhídrico hasta que cese la efervescencia. Agregar otros 10 ml de ácido clorhídrico y evaporar a sequedad en baño de vapor y dejar enfriar. Agregar 20 ml de agua, calentar a ebullición y filtrar. A 5 ml del filtrado agregar 1 ml de solución de amoníaco al 67 % y 1 ml de cloruro de amonio (SR) y filtrar. Agregar al filtrado 1 ml de fosfato dibásico de sodio (SR): se debe producir un precipitado blanco cristalino.

Amianto

Se debe verificar que el Talco este exento de amianto mediante difracción de rayos X o absorción infrarroja (ensayo de anfíboles y serpentininas) según se indica a continuación:

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*, empleando bromuro de potasio. La presencia de bandas de absorción o de inflexiones en el intervalo de 600 cm^{-1} a 650 cm^{-1} , empleando la expansión de la escala indicaría la presencia de serpentininas; cualquier banda de absorción a $758 \pm 1 \text{ cm}^{-1}$ con expan-

sión de escala en un intervalo entre 740 cm^{-1} a 760 cm^{-1} indicaría la presencia de tremolita o de clorita. Luego de someter a ignición a $850 \text{ }^\circ\text{C}$ durante un mínimo de 30 minutos, cualquier banda de absorción a $758 \pm 1 \text{ cm}^{-1}$ con expansión de escala indicaría la presencia de tremolita.

B - Difracción de rayos X.

Radiación monocromática: $CUK\alpha$, 40KV, de 24 mA a 30 mA.

Rendija incidente: 1°

Rendija de detección: $0,2^\circ$

Velocidad del goniómetro: $1/10^\circ 2\theta/\text{min}$.

Intervalo de barrido: 10° a $13^\circ 2\theta$ y 24° a $26^\circ 2\theta$.

Muestra: no orientada. Colocar sobre un porta-objetos de vidrio y nivelar con un cubreobjeto de vidrio.

Procedimiento: Registrar los difractogramas: la detección de un pico de difracción a $10,5 \pm 0,1^\circ 2\theta$ indica la presencia de anfíboles; la detección de un pico de difracción a $24,3^\circ \pm 0,1^\circ 2\theta$ y a $12,1 \pm 0,1^\circ 2\theta$ indica la presencia de serpentininas.

Si por uno de los ensayos se detecta la presencia de anfíboles y/o serpentininas examinar una porción de Talco por microscopía óptica: la relación entre longitud y anchura debe ser 20:1 a 100:1 o más elevadas para las fibras de longitud superior a $5 \mu\text{m}$ con la posibilidad de dividirse en fibrillas muy finas; las fibras paralelas se pueden presentar en haces con extremos deshilachados, las fibras pueden tener forma de finas agujas y las fibras individuales se pueden presentar enmarañadas y/o curvadas.

Acidez o alcalinidad

Agregar 2,5 g de Talco a 50 ml de agua libre de dióxido de carbono, calentar a ebullición bajo reflujo y filtrar al vacío. A 10 ml del filtrado agregar 0,1 ml de una solución de azul de bromotimol (SR1): no se debe consumir más de 0,4 ml de ácido clorhídrico 0,01 N para virar el indicador. A 10 ml del filtrado agregar fenoltaleína (SR1): no debe consumirse más de 0,3 ml de hidróxido de sodio 0,01 N para virar el indicador a color rosa.

Sustancias solubles en agua

A 10 g de Talco agregar 50 ml de agua libre de dióxido de carbono, calentar a ebullición con un refrigerante a reflujo durante 30 minutos y dejar enfriar. Filtrar y diluir a 50 ml con agua libre de dióxido de carbono. Transferir 25 ml del filtrado a un recipiente apropiado, evaporar a sequedad y calentar a $105 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 1 hora: el residuo no debe pesar más de 10 mg (0,2 %).

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Cuando en el rótulo se indique que Talco esté destinado a la administración tópica, el recuento de microorganismos aerobios viables totales no debe ser mayor de 10^2 bacterias aerobias y hongos por gramo.

Cuando en el rótulo se indique que Talco esté destinado a la administración oral, el recuento de microorganismos aerobios viables totales no debe ser mayor de 10^3 bacterias aerobias por gramo y 10^2 hongos por gramo.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 7,0 % entre 1.050 y 1.100 °C.

Límite de aluminio

Solución estándar - Transferir 10 ml de ácido clorhídrico y 10 ml de una solución de 25,34 mg de cloruro de cesio por ml a 4 matraces aforados de 100 ml, agregar 5,0 ml, 10,0 ml, 15,0 ml y 20,0 ml de solución de aluminio (100 ppm) (SL), respectivamente y completar a volumen con agua.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 0,5 g de Talco, transferir a una cápsula de 100 ml de politetrafluoretileno, agregar 5 ml de ácido clorhídrico, 5 ml de ácido nítrico libre de plomo y 5 ml de ácido perclórico y agitar. Agregar 35 ml de ácido fluorhídrico y evaporar lentamente hasta sequedad sobre una placa calefactora. Agregar 5 ml de ácido clorhídrico al residuo, tapar la cápsula con un vidrio de reloj, calentar a ebullición y dejar enfriar. Enjuagar el vidrio de reloj y la cápsula con agua, transferir a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con agua. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, agregar 10 ml de una solución de 25,34 g de cloruro de cesio por litro y completar a volumen con agua.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de las *Soluciones estándar* y la *Solución muestra* a 309,3 nm, con un espectrofotómetro de absorción atómica apropiado (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*) equipado con una lámpara de aluminio de cátodo hueco y una llama de aire de óxido nitroso-acetileno. Graficar las absorbancias de las *Soluciones estándar* en función de la concentración de aluminio y trazar la recta que mejor ajuste. Del gráfico obtenido determinar la concentración de aluminio en la *Solución muestra*: no debe contener más de 2,0 % de aluminio.

Límite de calcio

Solución estándar - Transferir 10 ml de ácido clorhídrico y 10 ml de cloruro de lantano (SR) a 4 matraces aforados de 100 ml, agregar 1,0 ml, 2,0 ml, 3,0 ml y 4,0 ml de solución de calcio

(100 ppm) (SL), respectivamente y completar a volumen con agua.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 0,5 g de Talco, transferir a una cápsula de 100 ml de politetrafluoretileno, agregar 5 ml de ácido clorhídrico, 5 ml de ácido nítrico libre de plomo y 5 ml de ácido perclórico y agitar. Agregar 35 ml de ácido fluorhídrico y evaporar lentamente hasta sequedad sobre una placa calefactora. Agregar 5 ml de ácido clorhídrico al residuo, tapar la cápsula con un vidrio de reloj, calentar a ebullición y dejar enfriar. Enjuagar el vidrio de reloj y la cápsula con agua, transferir a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con agua. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, agregar 10 ml de ácido clorhídrico, 10 ml de cloruro de lantano (SR) y completar a volumen con agua.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de las *Soluciones estándar* y la *Solución muestra* a 422,7 nm, con un espectrofotómetro de absorción atómica apropiado (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*) equipado con una lámpara de calcio de cátodo hueco y una llama de aire de óxido nitroso-acetileno. Graficar las absorbancias de las *Soluciones estándar* en función de la concentración de calcio y trazar la recta que mejor ajuste. Del gráfico obtenido determinar la concentración de calcio en la *Solución muestra*: no debe contener más de 0,9 % de calcio.

Límite de plomo

Solución estándar - Transferir 50 ml de ácido clorhídrico 0,5 N a 4 matraces aforados de 100 ml, agregar 5,0 ml, 7,5 ml, 10,0 ml y 12,5 ml de solución de plomo (10 ppm) (SL), respectivamente y completar a volumen con agua.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 10 g de Talco, transferir a un balón, agregar gradualmente y con agitación 50 ml de ácido clorhídrico 0,5 N y calentar a reflujo en un baño de agua durante 30 minutos. Dejar enfriar, transferir a un vaso de precipitado y dejar sedimentar la sustancia no disuelta. Filtrar el sobrenadante, transferir a un matraz aforado de 100 ml, reteniendo el residuo en el vaso de precipitado, lavar el residuo y el vaso de precipitado con 3 porciones de 10 ml de agua caliente y lavar el filtro con 15 ml de agua caliente. Dejar enfriar el filtrado y completar a volumen con agua caliente.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de las *Soluciones estándar* y de la *Solución muestra* a 217,0 nm, con un espectrofotómetro de absorción atómica apropiado (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*) equipado con una lámpara de plomo de cátodo hueco y una llama de

aire-acetileno. Graficar las absorbancias de las *Soluciones estándar* en función de la concentración de aluminio y trazar la recta que mejor ajuste. Del gráfico obtenido determinar la concentración de plomo en la *Solución muestra*: no debe contener más de 10 ppm de plomo.

Límite de hierro

Solución estándar - Transferir 50 ml de ácido clorhídrico 0,5 N a 4 matraces aforados de 100 ml, agregar 2,0 ml, 2,5 ml, 3,0 ml y 4,0 ml de solución de hierro (250 ppm) (SL), respectivamente y completar a volumen con agua.

Solución muestra - Transferir 2,5 ml de la *Solución muestra* empleada en el ensayo *Límite de plomo* a un matraz aforado de 100 ml, agregar 50 ml de ácido clorhídrico 0,5 N y completar a volumen con agua.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de las *Soluciones estándar* y de la *Solución muestra* a 248,3 nm, con un espectrofotómetro de absorción atómica apropiado (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*) equipado con una lámpara de hierro de cátodo hueco y una llama de aire-acetileno y hacer las correcciones por interferencia del deuterio. Graficar las absorbancias de las *Soluciones estándar* en función de la concentración de hierro y trazar la recta que mejor ajuste. Del gráfico obtenido determinar la concentración de hierro en la *Solución muestra*: no debe contener más de 0,25 % de hierro.

Límite de magnesio

Solución estándar - Transferir 10 ml de ácido clorhídrico y 10 ml de cloruro de lantano (SR) a 4 matraces aforados de 100 ml, agregar 2,5 ml, 3,0 ml, 4,0 ml y 5,0 ml de solución de magnesio (10 ppm) (SR1), respectivamente y completar a volumen con agua.

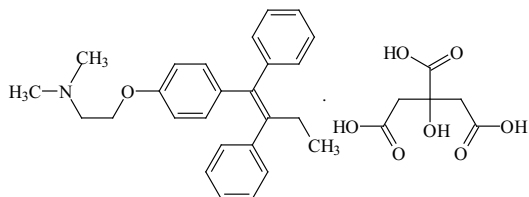
Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 0,5 g de Talco, transferir a una cápsula de 100 ml de politetrafluoretileno, agregar 5 ml de ácido clorhídrico, 5 ml de ácido nítrico libre de plomo y 5 ml de ácido perclórico y agitar. Agregar 35 ml de ácido fluorhídrico y evaporar lentamente hasta sequedad sobre una placa calefactora. Agregar 5 ml de ácido clorhídrico al residuo, tapar la cápsula con un vidrio de reloj, calentar a ebullición y dejar enfriar. Enjuagar el vidrio de reloj y la cápsula con agua, transferir a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con agua. Transferir 0,5 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua. Transferir 4,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, agregar 10 ml de ácido clorhídrico y 10 ml de solución de cloruro de lantano y completar a volumen con agua.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de las *Soluciones estándar* y de la *Solución muestra* a 285,2 nm, con un espectrofotómetro de absorción atómica apropiado (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*) equipado con una lámpara de magnesio de cátodo hueco y una llama de aire-acetileno. Graficar las absorbancias de las *Soluciones estándar* en función de la concentración de magnesio y trazar la recta que mejor ajuste. Del gráfico obtenido determinar la concentración de magnesio en la *Solución muestra*: debe contener entre 17,0 y 19,5 % de magnesio.

ROTULADO

Indicar en el rótulo cuando Talco esté destinado para la administración oral o tópica.

TAMOXIFENO, CITRATO DE



$C_{26}H_{29}NO \cdot C_6H_8O_7$ PM: 563,6 54965-24-1

Definición - Citrato de Tamoxifeno es Citrato de (Z)-2-[4-(1,2-difenil-1-butenil)fenoxi]-N,N-dimetiletanamina. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{26}H_{29}NO \cdot C_6H_8O_7$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco, fino. Funde aproximadamente a 142 °C, con descomposición. Soluble en metanol; muy poco soluble en acetona, agua, alcohol y cloroformo.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Citrato de Tamoxifeno SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.* Debe presentar una banda única entre 1.700 y 1.740 cm^{-1} . [NOTA: si los espectros obtenidos presentan diferencias, disolver la muestra y la *Sustancia de referencia* en acetona, evaporar hasta sequedad y registrar nuevamente los espectros].

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: metanol

Concentración: 20 μg por ml

Examinar entre 220 y 350 nm: se deben observar dos máximos de absorción a 237 y 275 nm; la relación entre las absorbancias a dichos máximos, A_{237}/A_{275} , debe estar comprendida entre 1,45 y 1,65.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Límite de isómero E

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm \times 4,0 mm con fase estacionaria constituida

por grupos fenilo químicamente unidos a partículas porosas de sílice de 5 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 0,7 ml por minuto.

Fase móvil - Emplear una solución metanólica que contenga en cada litro, 320 ml de agua, 2 ml de ácido acético glacial y 1,08 g de 1-octanosulfonato de sodio. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Disolver una porción exactamente pesada de Citrato de Tamoxifeno SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 600 μg por ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 30 mg de Citrato de Tamoxifeno y proceder según se indica para *Solución estándar*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el tiempo de retención relativo para el pico correspondiente al isómero E con respecto al pico del isómero Z no debe ser mayor de 0,93; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 3,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos secundarios correspondientes al isómero E. Calcular la cantidad de isómero E ($C_{26}H_{29}NO \cdot C_6H_8O_7$) en la porción de Citrato de Tamoxifeno en ensayo, con respecto al contenido de isómero E (citrato) declarado en la *Sustancia de referencia*. No debe contener más de 0,3 % de isómero E.

Límite de hierro <580>

Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Citrato de Tamoxifeno y transferir a un crisol apropiado. Humedecer con ácido sulfúrico y someter a ignición a baja temperatura hasta carbonizar completamente [NOTA: cubrir el crisol durante la ignición]. Agregar a la masa carbonizada 2,0 ml de ácido nítrico y 5 gotas de ácido sulfúrico y calentar cuidadosamente hasta que no se desarrollen más humos blancos. Someter a ignición a una temperatura comprendida entre 500 y 600 °C, hasta que el residuo carbonoso se quemé por completo. Enfriar, agregar 10 ml de ácido clorhídrico 0,1 N caliente y digerir durante aproximadamente 5 minutos. Transferir el contenido del crisol con la ayuda de pequeñas porciones de agua a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 10 ml de esta solución a un tubo de Nessler y diluir con agua a 45 ml. Agregar 2,0 ml de ácido clorhídrico y mezclar. El límite es 0,005 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 1 m × 4,0 mm con fase estacionaria líquida al 5 % constituida por 75 % de fenilpolisiloxano y 25 % de metilpolisiloxano sobre un soporte de tierra silícea para cromatografía de malla 100 a 120, que ha sido calcinada a 900 °C mezclando diatomea con Na₂CO₃ [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido y luego con agua hasta neutralidad, pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener la columna a 300 °C durante 24 horas antes del ensayo. Mantener la columna y el inyector aproximadamente a 260 °C y el detector a 300 °C. Se debe emplear helio seco como gas transportador con un caudal de aproximadamente 60 ml por minuto.

Solución muestra A - Dispersar aproximadamente 3,0 g de Citrato de Tamoxifeno en 100 ml de agua en una ampolla de decantación. Agregar, mezclando durante 10 minutos, 50 ml de hidróxido de sodio 0,5 N. Extraer con dos porciones de 50 ml de éter y combinar los extractos. Lavar con 20 ml de agua, descartar la fase acuosa y secar la fase etérea sobre sulfato de sodio anhidro. Evaporar bajo atmósfera de nitrógeno y secar al vacío durante 2 horas a temperatura ambiente. Pesar exactamente 1,5 g del residuo obtenido, transferir a un matraz aforado de 10 ml, agregar 5,0 ml de una mezcla de piridina y anhídrido acético (95:5) y calentar a 60 °C durante 10 a 15 minutos. Enfriar y completar a volumen con la misma mezcla de solventes y mezclar.

Solución muestra B - Diluir 1 en 200, la *Solución muestra A* con una mezcla de piridina y anhídrido acético (95:5).

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución muestra B* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 3,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 2 µl) de las *Soluciones muestra A* y *B*, registrar los cromatogramas desde 0,1 hasta 5,0, en relación al tiempo de retención del pico principal, y medir las respuestas de todos los picos. A excepción del pico principal y del pico debido al solvente en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra A*, la respuesta de ningún pico debe ser mayor a la

respuesta del pico principal obtenido con la *Solución muestra B* (0,5 %); la suma de todos los picos, a excepción del pico principal y el correspondiente al solvente, en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra A*, no debe ser mayor a dos veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar B* (1,0 %).

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

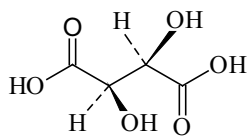
Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Citrato de Tamoxifeno, disolver en 150 ml de ácido acético glacial y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente, empleando un electrodo indicador de vidrio y un electrodo de plata-cloruro de plata como referencia. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 56,36 mg de C₂₆H₂₉NO · C₆H₈O₇.

TARTÁRICO, ÁCIDO



$C_4H_6O_6$

PM: 150,1

87-69-4

Definición - Ácido Tartárico es Ácido [R-(R*,R*)]-2,3-dihidroxiбутanodioico. Debe contener no menos de 99,7 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_4H_6O_6$, previamente secado sobre pentóxido de fósforo durante 3 horas y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino fino o granular de color blanco o cristales incoloros, translúcidos. Inodoro y estable al aire. Muy soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe responder a los ensayos para *Tartrato* <410>.

B - Someter a ignición una porción de Ácido Tartárico: se debe descomponer gradualmente, emitiendo un olor similar al del azúcar quemada.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre + 12,0° y + 13,0°.

Solución muestra: 200 mg por ml.

Pérdida por secado <680>

Secar sobre pentóxido de fósforo durante 3 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de oxalato

A 10 ml de una solución de Ácido Tartárico 1 en 10, agregar hidróxido de amonio 6 N para neutralizar y agregar 10 ml de sulfato de calcio (SR): no se debe producir turbidez.

Sulfato

A 10 ml de una solución de Ácido Tartárico 1 en 100, agregar 3 gotas de ácido clorhídrico y 1 ml de cloruro de bario (SR): no se debe producir turbidez.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,001 %.

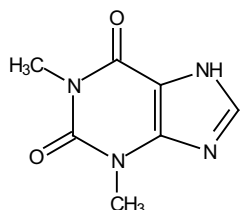
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 2 g de Ácido Tartárico, previamente secado, transferir a un erlenmeyer y disolver en 40 ml de agua. Agregar fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 1 N (SV). Cada ml de hidróxido de sodio 1 N equivale a 75,04 mg de $C_4H_6O_6$.

TEOFILINA



$C_7H_8N_4O_2$ PM: 180,2 58-55-9

$C_7H_8N_4O_2 \cdot H_2O$ PM: 198,2 5967-84-0

Definición - Teofilina es 3,7-Dihidro-1,3-dimetil-1*H*-purina-2,6-diona o su monohidrato. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_7H_8N_4O_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco, inodoro. Estable al aire. Fácilmente soluble en soluciones de hidróxidos alcalinos y amoníaco; moderadamente soluble en alcohol, cloroformo y éter; poco soluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Teofilina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención, relativo al estándar interno, del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 270 y 274 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 3 °C.

Acidez

Disolver 500 mg de Teofilina en 75 ml de agua y agregar 1 gota de rojo de metilo (SR): no se debe requerir más de 1,0 ml de hidróxido de sodio 0,020 N para virar de rojo a amarillo.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 4 horas: el monohidrato debe perder entre 7,5 y 9,5 % de su peso y la forma anhidra no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,15 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 30 cm × 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1 ml por minuto.

Solución reguladora - Transferir 2,72 g de acetato de sodio trihidratado a un matraz aforado de 2 litros, agregar aproximadamente 200 ml de agua y agitar hasta completar la disolución. Agregar 10,0 ml de ácido acético glacial, completar a volumen con agua y mezclar.

Fase móvil - *Solución reguladora* y acetonitrilo (93:7). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución del estándar interno - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de teobromina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en 10,0 ml de hidróxido de amonio 6 N, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Teofilina SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, agregar 20,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Teofilina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar aproximadamente 50 ml de *Fase móvil* y agitar mecánicamente hasta disolución completa. Completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, agregar 20,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 1,0 para teobromina y 1,6 para teofilina; la resolución *R* entre los picos de teofilina y teobromina no debe ser menor de 2,0; el factor de asimetría para el pico de teofilina no debe

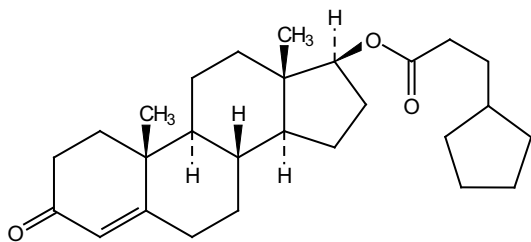
ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,5 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (entre 10 y 25 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_7H_8N_4O_2$ en la porción de Teofilina en ensayo.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si la Teofilina es anhidra o monohidrato.

TESTOSTERONA, CIPIONATO DE



$C_{27}H_{40}O_3$ PM: 412,6 58-20-8

Definición - Cipionato de Testosterona es 17β - (Ciclopentanopropionato) de androst-4-en-3-ona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_{27}H_{40}O_3$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Estable al aire. Fácilmente soluble en alcohol, cloroformo, dioxano y éter; soluble en aceites vegetales. insoluble en agua

Sustancias de referencia - Cipionato de Testosterona SR-FA. Caprilato de Colesterilo SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 98 y 104 °C.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +85° y +92°.

Solución muestra: 20 mg por ml, en cloroformo.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío sobre gel de sílice durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Ácido ciclopentanopropiónico libre

Disolver 500 mg de Cipionato de Testosterona en 10 ml de alcohol previamente neutralizado hasta un color azul débil después de agregar 2 ó 3 gotas de azul de bromotimol (SR) y titular de inmediato con hidróxido de sodio 0,01 N (SV): no deben consumirse más de 0,70 ml de hidróxido de sodio 0,01 N (0,20 %).

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 1,2 m × 3 mm con fase estacionaria constituida por trifluorpropilmetilpolisiloxano al 1 % p/p sobre un soporte constituido por tierra silícea calcinada para cromatografía de gases que ha sido calcinada a 900 °C mezclando diatomea con Na_2CO_3 y lavada con ácido y álcali. Mantener la columna a 260 °C. Emplear helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 50 ml por minuto.

Solución del estándar interno - Transferir 80 mg de Caprilato de Colesterilo SR-FA a un matraz aforado de 100 ml, disolver en una mezcla de metanol y cloroformo (4:1) y completar a volumen con la misma mezcla de solventes.

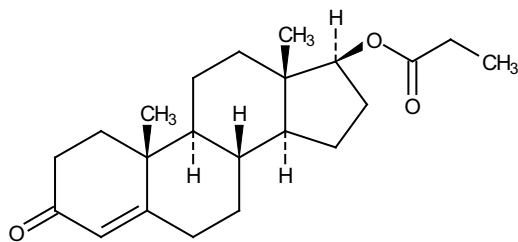
Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Cipionato de Testosterona SR-FA, transferirlos a un recipiente con tapa y agregar 10,0 ml de *Solución del estándar interno* y mezclar.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Cipionato de Testosterona, transferirlos a un recipiente con tapa y agregar 10,0 ml de *Solución del estándar interno* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos del estándar interno y de cipionato de testosterona no debe ser menor de 3,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 % calculado a partir del cociente de las respuestas de cipionato de testosterona y del estándar interno.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 1 μ l) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{27}H_{40}O_3$ en la porción de Cipionato de Testosterona en ensayo, relacionando las respuestas de los picos del cipionato de testosterona y del estándar interno obtenidos a partir de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*.

TESTOSTERONA, PROPIONATO DE



$C_{22}H_{32}O_3$ PM: 344,5 57-85-2

Definición - Propionato de Testosterona es 17 β -(Propionato) de androst-4-en-3-ona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_{22}H_{32}O_3$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino o cristales blancos o casi blancos. Es estable al aire. Fácilmente soluble en alcohol, dioxano, éter y en otros solventes orgánicos; soluble en aceites vegetales; insoluble en agua.

Sustancias de referencia - Propionato de Testosterona SR-FA. Acetato de Testosterona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>. *Solvente: alcohol.*

Concentración: 10 μ g por ml.

Las absorbividades a 241 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

C - Calentar a reflujo 25 mg de Propionato de Testosterona con 2 ml de una solución de hidróxido de potasio en metanol 1 en 100 durante 1 hora. Enfriar la mezcla, agregar 10 ml de agua, filtrar y lavar el precipitado con agua hasta que el último lavado sea neutro frente al tornasol. Secar el precipitado al vacío a 60 °C durante 3 horas: la testosterona obtenida debe fundir entre 151 y 157 °C.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 118 y 123 °C.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +83° y +90°.

Solución muestra: 20 mg por ml, previamente secados, en dioxano.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío sobre gel de sílice durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de *n*-butilo, éter de petróleo y ácido acético glacial (70:30:1).

Solución muestra - Disolver 0,25 g de Propionato de Testosterona en cloroformo y diluir a 5 ml con el mismo solvente.

Solución estándar - Diluir 1,0 ml de la *Solución muestra* a 10,0 ml con cloroformo. Diluir 1,0 ml de esta solución hasta 10,0 ml con cloroformo.

Solución estándar de acetato de testosterona - Disolver 10 mg de Acetato de Testosterona SR-FA en cloroformo y diluir a 10,0 ml con el mismo solvente.

Solución de resolución - A 5,0 ml de la *Solución estándar de acetato de testosterona* agregar 1,0 ml de la *Solución muestra* y diluir a 15,0 ml con cloroformo.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 2 μ l de la *Solución muestra*, 2 μ l de la *Solución estándar*, 2 μ l de la *Solución estándar de acetato de testosterona* y 2 μ l de la *Solución de resolución*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: el ensayo solo es válido si en el cromatograma obtenido con la *Solución de resolución* se observan dos manchas completamente separadas. La mancha correspondiente al acetato de testosterona en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar de acetato de testosterona* (2,0 %). A excepción de la mancha principal y la correspondiente al acetato de testosterona en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ninguna mancha debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar* (1,0 %).

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

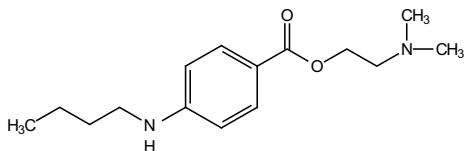
VALORACIÓN

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 40 mg de Propionato de Testosterona, disolver en cloroformo para obtener 100 ml y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con cloroformo y mezclar.

Preparación estándar - Disolver una cantidad de Propionato de Testosterona SR-FA, exactamente pesada, en cloroformo y diluir cuantitativamente y en etapas con cloroformo para obtener una solución de aproximadamente 40 µg por ml.

Procedimiento - Transferir 5,0 ml de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* a sendos erlenmeyers de 50 ml con tapón de vidrio y colocar 5,0 ml de cloroformo en un erlenmeyer similar para preparar un blanco. Agregar a cada erlenmeyer 10,0 ml de una solución de 375 mg de *Isoniazida* y 0,47 ml de ácido clorhídrico en 500 ml de metanol, mezclar y dejar reposar durante 45 minutos. Determinar concomitantemente las absorbancias de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 380 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando el blanco para llevar a cero la lectura del aparato. Calcular la cantidad de $C_{22}H_{32}O_3$ en la porción de Propionato de Testosterona en ensayo.

TETRACAÍNA



$C_{15}H_{24}N_2O_2$

PM: 264,4

94-24-6

Definición - Tetracaína es Éster 2-(dimetilamino)etílico del ácido 4-(butilamino)benzoico. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{15}H_{24}N_2O_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Sólido ceroso blanco o amarillento. Soluble en alcohol, éter y cloroformo; muy poco soluble en agua.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Tetracaína SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Disolver 100 mg de Tetracaína en 10 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 120) y agregar 1 ml de solución de tiocianato de potasio 1 en 4: se debe formar un precipitado cristalino. Recristalizar el precipitado en agua y secar a 80 °C durante 2 horas: debe fundir entre 130 y 132 °C (ver 260. *Determinación del punto de fusión*).

B - Pesar exactamente alrededor de 90 mg de Tetracaína, transferir a un matraz aforado de 500 ml, disolver en 10 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 120), completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, agregar 2 ml de *Solución reguladora N° 6* (ver 770. *Valoración microbiológica de antibióticos*), completar a volumen con agua y mezclar: el espectro de absorción ultravioleta de esta solución (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) debe presentar máximos y mínimos a las mismas longitudes de onda que el de una solución 1 en 100.000 de Clorhidrato de Tetracaína SR-FA en una mezcla de agua y *Solución reguladora N° 6* (ver 770. *Valoración microbiológica de antibióticos*) (50:1) y las absorptividades molares respectivas, calculadas sobre la sustancia seca, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 310 nm, no deben diferir en más de 2,0 %. [NOTA: el peso molecular de clorhidrato de tetracaína ($C_{15}H_{24}N_2O_2 \cdot HCl$) es 300,8].

Determinación del punto de fusión <260>

Método I. Entre 41 y 46 °C.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío sobre pentóxido de fósforo durante 18 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol e isopropilamina (98:7:2).

Solución muestra - Disolver una cantidad exactamente pesada de Tetracaína en cloroformo para obtener una solución de aproximadamente 50 mg por ml.

Solución estándar - Preparar una solución de ácido 4-butilamino benzoico en metanol de aproximadamente 0,2 mg por ml.

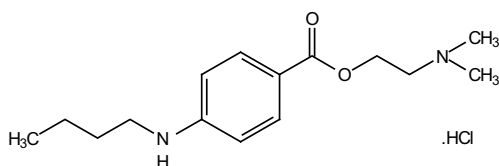
Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de la *Solución muestra* y 5 µl de la *Solución estándar*, dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara y secar con una corriente de aire caliente. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: a excepción de la mancha principal, ninguna mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser más intensa que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar* (0,4 %) y la suma de las intensidades de todas las manchas no debe ser mayor de 0,8 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Tetracaína y transferir a un recipiente apropiado. Agregar 5 ml de ácido clorhídrico, 50 ml de agua y enfriar a 15 °C. Agregar aproximadamente 25 g de hielo triturado y titular lentamente con nitrito de sodio 0,1 M (SV), agitando vigorosamente, hasta que una varilla de vidrio sumergida en la solución titulada produzca de inmediato un anillo azul cuando se la pone en contacto con papel de ioduroalmidón (ver *Papeles indicadores en Indicadores, papeles y papeles indicadores*). Cuando se completa la titulación, el punto final es reproducible luego que la mezcla se ha dejado en reposo durante 1 minuto. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780.

Volumetria). Cada ml de nitrito de sodio 0,1 M
equivale a 26,44 mg de $C_{15}H_{24}N_2O_2$.

TETRACAÍNA, CLORHIDRATO DE



$C_{15}H_{24}N_2O_2 \cdot HCl$ PM: 300,8 136-47-0

Definición - Clorhidrato de Tetracaína es Monoclorhidrato del ácido 4-(butilamino)benzoico 2-(dimetilamino)etil éster. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{15}H_{24}N_2O_2 \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco cristalino, fino, inodoro. Higroscópico. Sus soluciones son neutras frente al tornasol. Muy soluble en agua; soluble en alcohol; insoluble en éter.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Tetracaína SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción ultravioleta <470>

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Clorhidrato de Tetracaína y disolver en agua para obtener un volumen de 250,0 ml. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, agregar 2 ml de *Solución reguladora N° 6* (ver 770. *Valoración microbiológica de antibióticos*), completar a volumen con agua y mezclar.

Las absorptividades a 310 nm, calculadas sobre la sustancia anhidra, no deben diferir en más de 2,0 %.

B - Disolver 100 mg de Clorhidrato de Tetracaína en 10 ml de agua y agregar 1 ml de solución de tiocianato de potasio 1 en 4: se debe formar un precipitado cristalino. Recristalizar el precipitado en agua y secar a 80 °C durante 2 horas: debe fundir entre 130 y 132 °C.

C - Una solución de 100 mg de Clorhidrato de Tetracaína en 5 ml de agua debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 2,0 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria, Fase móvil, Solución estándar - Proceder según se indica para *Pureza cromatográfica* en *Tetracaína*.

Solución muestra - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Tetracaína en agua para obtener una solución con una concentración de aproximadamente 50 mg por ml.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Pureza cromatográfica* en *Tetracaína*.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que el Clorhidrato de Tetracaína es estéril, no debe contener más de 0,7 Unidades de Endotoxinas por mg de Clorhidrato de Tetracaína.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que el Clorhidrato de Tetracaína es estéril, debe cumplir con los requisitos.

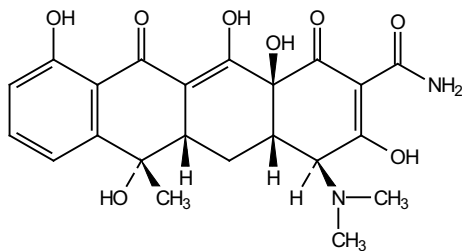
VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Clorhidrato de Tetracaína, transferir a un recipiente apropiado, agregar 5 ml de ácido clorhídrico y 50 ml de agua. Proceder según se indica en 730. *Titulación con nitrito*, comenzando donde dice: “enfriar hasta aproximadamente 15 °C...”. Cada ml de nitrito de sodio 0,1 M equivale a 30,08 mg de $C_{15}H_{24}N_2O_2 \cdot HCl$.

ROTULADO

Cuando el Clorhidrato de Tetracaína esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas inyectables, en el rótulo se debe indicar que es estéril.

TETRACICLINA



$C_{22}H_{24}N_2O_8$ PM: 444,4 60-54-8

Trihidrato PM: 498,5 6416-04-2

Definición - Tetraciclina es [4S-(4 α ,4a α ,5a α ,6 β ,12a α)]4-(Dimetilamino)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahidro-3,6,10,12,12a-pentahidroxi-6-metil-1,11-dioxo-2-naftacenocarboxamida. Debe tener una potencia no menor de 975 μ g de $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$ por mg, calculada sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino amarillo, inodoro. Estable al aire. Se oscurece por exposición a la luz solar fuerte. Pierde potencia en soluciones de pH menores a 2 y se degrada rápidamente en soluciones de hidróxidos alcalinos. Fácilmente soluble en ácidos diluidos y en soluciones de hidróxidos alcalinos; moderadamente soluble en alcohol; muy poco soluble en agua; prácticamente insoluble en cloroformo y éter.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Tetraciclina SR-FA. Clorhidrato de 4-Epianhidrotetraciclina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: hidróxido de sodio 0,25 N.

Concentración: 20 μ g por ml.

La absorbancia, calculada sobre la sustancia anhidra, medida 6 minutos después de la preparación a 380 nm, debe estar comprendida entre 104,5 y 111,95 % de la del Clorhidrato de Tetraciclina SR-FA, considerando la potencia de la *Sustancia de Referencia*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Pre-*

paración muestra se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

C - A 0,5 mg de Tetraciclina agregar 2 ml de ácido sulfúrico: se debe producir un color rojo violáceo. Agregar la solución a 1 ml de agua: el color se debe tornar amarillo.

D - Proceder según se indica en 500. *Identificación de tetraciclinas*, empleando una *Solución muestra* en metanol que contenga el equivalente a 1 mg de clorhidrato de tetraciclina por ml.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -260° y -280° , calculada sobre la sustancia anhidra.

Solución muestra: 5 mg por ml, en ácido clorhídrico 0,1 N.

Determinación del pH <250>

Entre 3,0 y 7,0, determinado sobre una suspensión acuosa con una concentración de 10 mg por ml.

Cristalinidad

Colocar partículas de Tetraciclina en aceite mineral, sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas presentan birrefringencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 13,0 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,005 %.

Límite de 4-epianhidrotetraciclina

Sistema cromatográfico, Diluyente y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de 4-Epianhidrotetraciclina SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 10 μ g por ml.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 20 μ l de la *Solución estándar*. Empleando este cromatograma y el cromatograma obtenido con la *Preparación muestra* en *Valoración*, calcular el porcentaje de 4-Epianhidrotetraciclina en la porción de Tetraciclina en ensayo, a partir de la respuesta del pico de 4-Epianhidrotetraciclina obtenida con la *Preparación muestra* y la *Solución estándar*. No debe contener más de 2,0 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector

ultravioleta ajustado a 280 nm, una precolumna de 3 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas totalmente porosas de sílice de 10 µm de diámetro y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas totalmente porosas de sílice de 5 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2 ml por minuto.

Fase móvil - Mezclar 680 ml de oxalato de amonio 0,1 M, 270 ml de dimetilformamida y 50 ml de fosfato dibásico de amonio 0,2 M. Ajustar a pH entre 7,6 a 7,7, si fuera necesario, con hidróxido de amonio 3 N o ácido fosfórico 3 N. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Mezclar 680 ml de oxalato de amonio 0,1 M y 270 ml de dimetilformamida.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Tetraciclina SR-FA en *Diluyente* y diluir cuantitativamente con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 45 mg de Tetraciclina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Solución de resolución - Preparar una solución de aproximadamente 100 µg de Clorhidrato de Tetraciclina SR-FA y 25 µg de Clorhidrato de 4-Epianhidrotetraciclina SR-FA por ml en *Diluyente*.

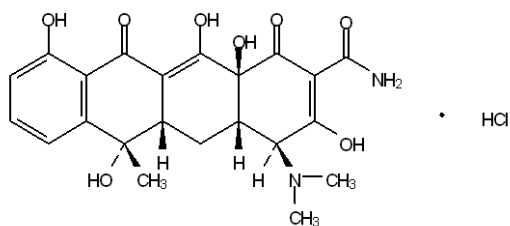
Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,9 para 4-epianhidrotetraciclina y 1,0 para tetraciclina; la resolución *R* entre los picos de 4-epianhidrotetraciclina y tetraciclina no debe ser menor de 1,2. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad equivalente en µg de C₂₂H₂₄N₂O₈ · HCl en cada mg de Tetraciclina en ensayo.

ROTULADO

Indicar en el rótulo que Tetraciclina no se debe emplear para la preparación de formas farmacéuticas inyectables.

TETRACICLINA, CLORHIDRATO DE



$C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$ PM: 480,9 64-75-5

Definición - Clorhidrato de Tetraciclina es Monoclorhidrato de [4S-(4 α ,4a α ,5a α ,6 β ,12a α)]-4-(dimetilamino)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahidro-3,6,10,12,12a-pentahidroxi-6-metil-1,11-dioxo-2-naftacenocarboxamida. Debe tener una potencia no menor de 900 μ g de $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$ por mg y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino amarillo, inodoro. Moderadamente higroscópico. Estable al aire, se oscurece por exposición a la luz solar fuerte y al aire húmedo. Pierde potencia en soluciones de pH por debajo de 2 y se degrada rápidamente en soluciones de hidróxidos alcalinos. Soluble en agua y en soluciones de hidróxidos alcalinos y carbonatos; poco soluble en alcohol; prácticamente insoluble en cloroformo y éter.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Tetraciclina SR-FA. Clorhidrato de 4-Epianhidrotetraciclina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*
[NOTA: no secar la muestra.]

B - Absorción ultravioleta <470>.

Solvente: hidróxido de sodio 0,25 N.

Concentración: 20 μ g por ml.

La absorbividad medida 6 minutos después de la preparación, calculada sobre la sustancia seca, a 380 nm debe estar comprendida entre 96,0 y 104,0 % de la del Clorhidrato de Tetraciclina SR-FA considerando la potencia de la *Sustancia de Referencia*.

C - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

D - A 0,5 mg de Clorhidrato de Tetraciclina, agregar 2 ml de ácido sulfúrico: se debe producir un color rojo púrpura. Agregar la solución a 1 ml de agua: el color se debe tornar amarillo.

E - Preparar una *Solución muestra* en metanol de aproximadamente 1 mg por ml y proceder según se indica en 500. *Identificación de tetraciclinas*.

F - Una solución de Clorhidrato de Tetraciclina debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -240° y -255° , calculada sobre la sustancia seca.

Solución muestra: 5 mg por ml, en ácido clorhídrico 0,1 N.

Determinación del pH <250>

Entre 1,8 y 2,8, determinado sobre una solución de aproximadamente 10 mg por ml.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,005 %.

Cristalinidad

Colocar partículas de Clorhidrato de Tetraciclina en aceite mineral, sobre un portaobjetos de vidrio. Examinar la mezcla empleando un microscopio óptico con luz polarizada: las partículas presentan birrefringencia y posiciones de extinción cuando se gira la platina del microscopio.

Pérdida por secado <680>

Secar aproximadamente 100 mg de Clorhidrato de Tetraciclina exactamente pesados en un pesafiltro provisto de tapa con perforación capilar, al vacío y a una presión que no exceda los 5 mm Hg, a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 2,0 % de su peso.

Límite de 4-Epianhidrotetraciclina

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Diluyente y Aptitud del sistema proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Proceder según se indica en *Solución estándar* en *Límite de 4-Epianhidrotetraciclina* en *Tetraciclina*.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* en *Límite de 4-Epianhidrotetraciclina* en *Tetraciclina*.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que el Clorhidrato de Tetraciclina es estéril, debe cumplir con los requisitos según se indica en *Método de filtración por membrana*, empleando *Solución D* en lugar de *Solución A*.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que el Clorhidrato

de Tetraciclina es estéril, no debe contener más de 0,5 Unidades de Endotoxina por mg de Clorhidrato de Tetraciclina.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Diluyente, Preparación estándar, Solución de resolución y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Tetraciclina*.

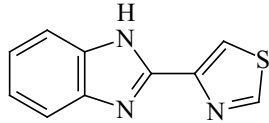
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Clorhidrato de Tetraciclina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en *Diluyente*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad en μ g de $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$ en cada mg de Clorhidrato de Tetraciclina en ensayo.

ROTULADO

Cuando el Clorhidrato de Tetraciclina esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas inyectables, en el rótulo se debe indicar que es estéril.

TIABENDAZOL



$C_{10}H_7N_3S$

PM: 201,2

148-79-8

Definición - Tiabendazol es 2-(4-Tiazolil)-1H-benzimidazol. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{10}H_7N_3S$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Funde aproximadamente a 300 °C. Se disuelve en ácidos minerales diluidos. Poco soluble en alcohol y cloruro de metileno; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Tiabendazol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En Fase sólida.*

B - Disolver 25 mg de Tiabendazol en ácido clorhídrico 0,1 N y diluir a 100 ml. Diluir 2,0 ml de esta solución a 100 ml con ácido clorhídrico 0,1 N y examinar entre 230 y 350 nm (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*): la solución debe presentar dos máximos a 243 y 302 nm; y la relación de las absorbancias medidas a 302 y 243 nm, A_{302}/A_{243} , se debe encontrar entre 1,8 y 2,1.

C - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Sustancias relacionadas*, bajo luz ultravioleta a 254 nm. La mancha principal obtenida a partir de la *Solución muestra B* se debe corresponder en valor de R_f , tamaño e intensidad con la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A*.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,5 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno, ácido acético glacial, acetona y agua (62,5:25:10:2,5).

Solución muestra A - Disolver 100 mg de Tiabendazol en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución muestra B - Diluir 2,0 ml de *Solución muestra A* a 20 ml con metanol.

Solución estándar A - Disolver 20 mg de Tiabendazol SR-FA en metanol y diluir a 20 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Diluir 1,0 ml de *Solución muestra B* a 10 ml con metanol.

Solución estándar C - Diluir 1,0 ml de *Solución muestra B* a 25 ml con metanol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 20 μ l de las *Soluciones estándar A, B y C* y 20 μ l de las *Soluciones muestra A y B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: a excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra A*, ninguna mancha debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar B* (1,0 %) y solo una mancha puede ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar C* (0,4 %).

Límite de selenio <610>

No más de 0,003 %; determinado sobre 100 mg.

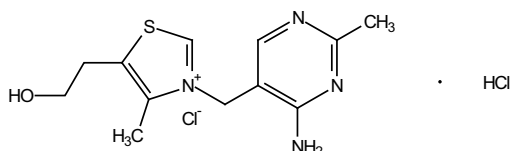
Límite de metales pesados <590>

Método VII. Preparar la *Solución muestra* a partir de 1,0 g de Tiabendazol y la *Solución estándar* empleando 2 ml de *Solución estándar de plomo* (10 ppm). No más de 0,002 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 150 mg de Tiabendazol y disolver en 30 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 20,12 mg de $C_{10}H_7N_3S$.

TIAMINA, CLORHIDRATO DE



$C_{12}H_{17}ClN_4OS \cdot HCl$ PM: 337,3 67-03-8

Definición - Clorhidrato de Tiamina es Monoclorhidrato del cloruro de 3-[(4-amino-2-metil-5-pirimidinil)metil]-5-(2-hidroxi-etil)-4-metiltiazolio. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{12}H_{17}ClN_4OS \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales blancos o polvo cristalino. Cuando se expone al aire, el producto anhidro absorbe rápidamente alrededor de 4 % de agua. Funde aproximadamente a 248 °C, con descomposición parcial. Fácilmente soluble en agua; soluble en glicerina; poco soluble en alcohol; insoluble en éter.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Tiamina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. [NOTA: secar la muestra a 105 °C durante 2 horas.]

B - Una solución de Clorhidrato de Tiamina 1 en 50 debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 2,7 y 3,4, determinado sobre una solución de Clorhidrato de Tiamina 1 en 100.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 5,0 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Absorbancia de la solución

Disolver 1,0 g de Clorhidrato de Tiamina en 10 ml de agua y filtrar a través de un embudo de vidrio sinterizado de porosidad fina. La absorban-

cia de esta solución, determinada en celdas de 1 cm, a 400 nm, con un espectrofotómetro, empleando agua como blanco. No debe ser mayor a 0,025.

Límite de nitrato

A 2 ml de una solución de Clorhidrato de Tiamina 1 en 50, agregar 2 ml de ácido sulfúrico, enfriar y depositar sin mezclar 2 ml de sulfato ferroso (SR): no se debe producir un anillo marrón en la superficie de contacto entre las dos fases.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

Pureza cromatográfica

Solución A, Solución B y Fase móvil - Proceder según se indica en *Valoración*.

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 15 cm × 4,0 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 0,75 ml por minuto.

Solución muestra - Disolver cuantitativamente una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Tiamina en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 1,0 mg por ml.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 10 μl de la *Solución muestra* y continuar la cromatografía durante no menos de tres veces el tiempo de retención del pico principal. Registrar el cromatograma y medir las respuestas de todos los picos: la suma de las respuestas de todos los picos secundarios no debe ser mayor de 1,0 % de la respuesta total de todos los picos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm × 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1 ml por minuto. [NOTA: el caudal puede ajustarse según sea necesario para obtener un tiempo de retención de aproximadamente 12 minutos para el Clorhidrato de Tiamina].

Solución A - Preparar una solución de 1-octanosulfonato de sodio 0,005 M en ácido acético glacial diluido (1 en 100).

Solución B - Metanol y acetonitrilo (3:2).

Fase móvil - *Solución A* y *Solución B* (60:40). Filtrar y degasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución del estándar interno - Transferir 2,0 ml de benzoato de metilo a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

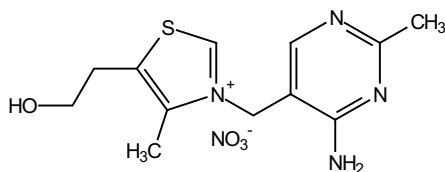
Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Tiamina SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml. Transferir 20,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, agregar 5,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 400 µg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Clorhidrato de Tiamina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, agregar 5,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de tiamina y benzoato de metilo no debe ser menor de 4,0; el factor de asimetría para el pico de tiamina no debe ser mayor de 2,0; la eficiencia de la columna determinada a partir del pico de tiamina no debe ser menor de 1.500 platos teóricos; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₁₂H₁₇ClN₄OS · HCl en la porción de Clorhidrato de Tiamina en ensayo.

TIAMINA, MONONITRATO DE



$C_{12}H_{17}N_5O_4S$

PM: 327,4

532-43-4

Definición - Mononitrato de Tiamina es Mononitrato de 3-[4-amino-2-metil-5-pirimidinil]metil]-5-(2-hidroxietil)-4-metiltiazolio. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{12}H_{17}N_5O_4S$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales blancos o polvo cristalino. Generalmente con un débil olor característico. Moderadamente soluble en agua; poco soluble en alcohol; muy poco soluble en cloroformo.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Tiamina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - A 2 ml de una solución de Mononitrato de Tiamina 1 en 50 agregar 2 ml de ácido sulfúrico, enfriar y dejar deslizar por las paredes 2 ml de sulfato ferroso (SR): se debe producir un anillo pardo en la interfase de los dos líquidos.

B - Disolver aproximadamente 5 mg de Mononitrato de Tiamina en una mezcla de 1 ml de acetato de plomo (SR) y 1 ml de hidróxido de sodio 2,5 N: se debe producir color amarillo. Calentar la mezcla durante varios minutos en un baño de vapor: el color cambia a pardo y al reposar aparece un precipitado de sulfuro de plomo.

C - Una solución de Mononitrato de Tiamina debe producir un precipitado blanco con cloruro mercuríco (SR) y un precipitado pardo rojizo con yodo (SR). También debe producir un precipitado con iodomercuriato de potasio (SR) y con trinitrofenol (SR).

D - Disolver aproximadamente 5 mg de Mononitrato de Tiamina en 5 ml de hidróxido de sodio 0,5 N, luego agregar 0,5 ml de ferricianuro de potasio (SR) y 5 ml de alcohol isobutílico, agitar la

mezcla vigorosamente durante 2 minutos y dejar separar las fases: cuando la solución es iluminada desde arriba por un haz vertical de luz ultravioleta y se lo observa en ángulo recto a este haz, el menisco superior presenta una fluorescencia azul intensa, que desaparece cuando la mezcla se acidifica moderadamente, pero reaparece nuevamente cuando se alcaliniza.

Determinación del pH <250>

Entre 6,0 y 7,5; determinado sobre una solución de Mononitrato de Tiamina 1 en 50.

Pérdida por secado <680>

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Mononitrato de Tiamina, secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Una porción de 500 mg de Mononitrato de Tiamina no debe presentar más cloruro que el que corresponde a 0,40 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,06 %).

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico, Solución A, Solución B y Fase móvil - Proceder según se indica en *Pureza cromatográfica en Clorhidrato de Tiamina*.

Solución muestra - Disolver cuantitativamente una cantidad exactamente pesada de Mononitrato de Tiamina en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 1,0 mg por ml.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 10 µl de la *Solución muestra* y continuar la cromatografía durante no menos de tres veces el tiempo de retención del pico principal. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos: la suma de las respuestas de todos los picos secundarios no debe ser mayor de 1,0 % de la respuesta total de todos los picos.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método II.

VALORACIÓN

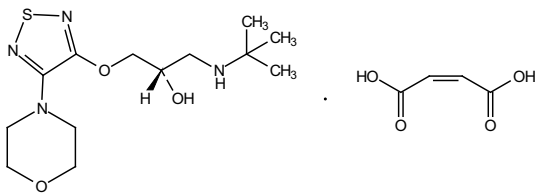
Sistema cromatográfico, Solución A, Solución B, Fase móvil, Solución del estándar interno, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Clorhidrato de Tiamina*.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Mononitrato de Tiamina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en *Fase móvil*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, agregar 5,0 ml de *Solu-*

ción del estándar interno, completar a volumen con Fase móvil y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{12}H_{17}N_5O_4S$ en la porción de Mononitrato de Tiamina en ensayo.

TIMOLOL, MALEATO DE



$C_{13}H_{24}N_4O_3S \cdot C_4H_4O_4$ PM: 432,5 26921-17-5

Definición - Maleato de Timolol es (Z)-2-Butenodioato de (S)-1-[(1,1-Dimetiletil)amino]-3-[[4-(4-morfolinil)-1,2,5-tiadiazol-3-il]oxi]-2-propanol, (1:1). Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{13}H_{24}N_4O_3S \cdot C_4H_4O_4$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Inodoro o prácticamente inodoro. Soluble en agua, alcohol y metanol; moderadamente soluble en cloroformo y propilenglicol; insoluble en éter y ciclohexano.

Sustancia de referencia - Maleato de Timolol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*.

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: ácido clorhídrico 0,12 N.

Concentración: 25 µg por ml.

Las absorptividades a 294 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre - 5,7° y - 6,2°.

Solución muestra: 100 mg por ml, en ácido clorhídrico 1,0 N.

Determinación del pH <250>

Entre 3,8 y 4,3, determinado sobre una solución de aproximadamente 20 mg por ml.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 100 °C hasta peso constante: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol e hidróxido de amonio (80:20:1).

Soluciones estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Maleato de Timolol SR-FA en metanol y diluir cuantitativamente y en etapas con el mismo solvente para obtener *Soluciones estándar* con las siguientes concentraciones:

Solución estándar	Concentración (µg por ml)	% con respecto a la muestra
A	200	0,4
B	100	0,2
C	50	0,1

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Maleato de Timolol, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver en metanol y completar a volumen con el mismo solvente.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de la *Solución muestra* y 10 µl de cada *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Exponer la placa a vapores de yodo durante 2 horas y examinarla bajo luz ultravioleta a 254 nm: a excepción de la mancha en el origen debida al anión maleato, ninguna mancha secundaria en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser más intensa que la mancha principal obtenida a partir de la *Solución estándar A* (0,4 %) y la suma de las intensidades de todas las manchas secundarias, a excepción de las de intensidades menores a la de la mancha principal obtenida a partir de la *Solución estándar C*, no debe ser mayor de 1,0 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

Límite de metales pesados <590>

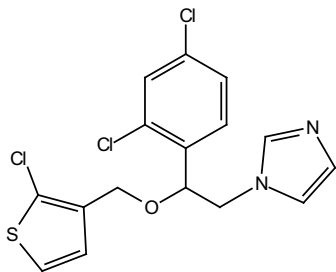
Método II. No más de 0,002 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 800 mg de Maleato de Timolol, disolver en 90 ml de ácido acético glacial y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV). Determinar el punto final potenciométricamente

empleando un electrodo de platino y un electrodo de calomel con manga que contenga perclorato de litio 0,1 N en anhídrido acético. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 43,25 mg de $C_{13}H_{24}N_4O_3S \cdot C_4H_4O_4$.

TIOCONAZOL



$C_{16}H_{13}Cl_3N_2OS$ PM: 387,7 65899-73-2

Definición - Tioconazol es 1-[2-[(2R,S)-2-(2,4-diclorofenil)etil]-2-(2,4-diclorofenil)etil]-1H-imidazol. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{16}H_{13}Cl_3N_2OS$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Sólido cristalino blanco o casi blanco. Moderadamente soluble en acetato de etilo, cloroformo, etanol y metanol; prácticamente insoluble en agua.

Sustancias de referencia - Tioconazol SR-FA. Impureza A de Tioconazol SR-FA: 1-[(2R,S)-2-(2,4-diclorofenil)-2-(2,4-diclorofenil)etil]-1H-imidazol. Impureza B de Tioconazol SR-FA: 1-[(2R,S)-2-(2,4-diclorofenil)-2-[2,5-diclorotien-3-il)metoxi]etil]-1H-imidazol. Impureza C de Tioconazol SR-FA: 1-[(2R,S)-2-[(5-bromo-2-clorotien-3-il)metoxi]-2-(2,4-diclorofenil)etil]-1H-imidazol. Impureza D de Tioconazol SR-FA: (1R,S)-1-(2,4-diclorofenil)-2-[1H-imidazol-1-il)etanol.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Sustancias Relacionadas*. El tiempo de retención del pico de tioconazol en el cromatograma obtenido en la solución muestra, se debe corresponder con el obtenido con la *Solución de resolución*.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,5 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,2 %.

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Una porción de 0,7 g de Tioconazol, disuelta en metanol no debe presentar más cloruro que el que corresponde a 0,50 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,05 %).

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,005 %.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 218 nm con una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución reguladora de pH 7,4 - Transferir 1,7 g de sulfato ácido de tetrabutilamonio a un recipiente apropiado, agregar 800 ml de agua y agitar. Ajustar a pH 7,40 ± 0,05 con amoníaco al 5 %, diluir a 1 litro y mezclar.

Fase móvil - Solución reguladora de pH 7,4 y metanol (25:75). Desgasificar y filtrar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución madre de resolución - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Impureza A de Tioconazol SR-FA, 25 mg de Impureza B de Tioconazol SR-FA, 25 mg de Impureza C de Tioconazol SR-FA y 25 mg de Impureza D de Tioconazol SR-FA, transferir a un matraz aforado de 25 ml, agregar 20 ml de *Fase móvil* y sonicar durante 5 minutos. Completar a volumen y mezclar. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución de resolución - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Tioconazol SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, agregar 40 ml de *Fase móvil* y agitar durante 5 minutos. Agregar 3 ml de *Solución madre de resolución*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Tioconazol, transferir a un matraz aforado de 50 ml, agregar 40,0 ml de *Fase móvil* y agitar hasta disolución completa. Completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución estándar - Transferir 1,0 ml de *Solución muestra* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Transferir 2,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Pro-*

cedimiento: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,20 para la impureza D de tioconazol, 0,61 para la impureza A de tioconazol, 1,00 para el tioconazol, 1,78 para la impureza B de tioconazol y 1,88 para la impureza C de tioconazol; la resolución entre las impurezas B y C debe ser mayor de 1,0. Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 5,0 %.

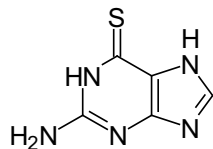
Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos.

Calcular los porcentajes de Impureza A, Impureza B, Impureza C e Impureza D de Tioconazol en la porción de Tioconazol en ensayo con respecto a la respuesta del pico principal en la *Solución estándar* [NOTA: multiplicar las respuestas de los picos de impureza B e impureza C por un factor de corrección de 1,7]: no debe contener más de 0,3 % de Impureza A, Impureza B e Impureza C de Tioconazol; no debe contener más de 0,1 % de Impureza D de Tioconazol; no debe contener más de 0,1 % de cualquier otra impureza individual y la suma de impurezas totales no debe ser mayor de 1,0 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 700 mg de Tioconazol y transferir a un recipiente apropiado. Agregar 40 ml de ácido acético glacial, agitar hasta disolver y titular con ácido perclórico 0,1 N determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 38,77 mg de $C_{16}H_{13}Cl_3N_2OS$.

TIOGUANINA



$C_5H_5N_5S$ PM: 167,2 154-42-7
Hemihidrato PM: 176,2 5580-03-0

Definición - Tioguanina es 2-amino-1,7-dihidro-6H-purina-6-tiona. Puede ser anhídrido o contener media molécula de agua de hidratación. Debe contener no menos de 96,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_5H_5N_5S$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino ligeramente amarillo. Fácilmente soluble en soluciones diluidas de hidróxidos alcalinos; insoluble en agua, alcohol y cloroformo.

Sustancia de referencia - Tioguanina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - El espectro de absorción ultravioleta de una solución de Tioguanina 1 en 200.000, preparada según se indica en *Valoración*, debe presentar máximos y mínimos a las mismas longitudes de onda que una solución similar de Tioguanina SR-FA.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 105 °C durante 5 horas: no debe perder más de 6,0 % de su peso.

Límite de selenio <610>

No debe contener más de 0,003 %; determinado sobre 200 mg.

Sustancias que contienen fósforo

Solución de molibdato de amonio - Disolver 8,3 g de molibdato de amonio en 40 ml de agua, agregar 33 ml de ácido sulfúrico diluido (2 en 7), diluir a 100 ml con agua y mezclar. [NOTA: esta solución es estable durante aproximadamente dos semanas.]

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 50,0 mg de Tioguanina, transferir a un tubo de ensayo, agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido (2 en 7) y calentar en un baño de agua a ebullición durante 5 minutos. Agregar

cuidadosamente gota a gota ácido nítrico, continuar calentando hasta 1 minuto después de que la solución se torne incolora. Dejar enfriar, diluir con agua aproximadamente a 10 ml y transferir la solución a un matraz aforado de 25 ml con la ayuda de unos pocos ml de agua. Agregar 0,75 ml de *Solución de molibdato de amonio* y 1,0 ml de ácido aminonaftosulfónico (SR), completar a volumen con agua y mezclar.

Solución estándar de fosfato - Preparar una solución de fosfato monobásico de potasio en agua de aproximadamente 10 µg de fosfato (PO_4) por ml.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y la *Solución estándar* en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 620 nm, con un espectrofotómetro, realizando un blanco de reactivo para llevar a cero la lectura del instrumento: la absorbancia de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la de la *Solución estándar* (0,03 % como fosfato).

Azufre libre

Disolver 50 mg de Tioguanina en 5 ml de hidróxido de sodio 1 N: la solución debe ser clara.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

Determinación de nitrógeno <200>

Método II. Emplear aproximadamente 100 mg de Tioguanina exactamente pesados. Cada ml de ácido sulfúrico 0,1 N equivale a 1,401 mg de nitrógeno (N). No debe contener menos de 40,2 % ni más de 43,1 %, calculado sobre la base seca.

Límite de guanina

Sistema cromatográfico y Fase móvil - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de guanina en hidróxido de sodio 0,01 N y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, para obtener una solución de aproximadamente 0,04 mg por ml. Transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,4 µg por ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 40 mg de Tioguanina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con hidróxido de sodio 0,01 N y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en

Procedimiento: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,6 para guanina y 1,0 para tioguanina; la resolución *R* entre los picos de guanina y tioguanina no debe ser menor de 3,0; el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; y la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas para el pico de guanina no debe ser mayor de 5,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el porcentaje de guanina en la porción de Tioguanina en ensayo. No debe contener mas de 2,5 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 248 nm y una columna de 5 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Fosfato monobásico de sodio 0,05 M. Ajustar a pH 3,0 con ácido fosfórico. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de ácido fosfórico - Transferir cuidadosamente 1 ml de ácido fosfórico a un recipiente conteniendo 99 ml de agua y mezclar.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Tioguanina SR-FA con hidróxido de sodio 0,01 N cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, para obtener una solución de aproximadamente 0,4 mg por ml. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Solución de ácido fosfórico* para obtener una solución de aproximadamente 0,04 mg de Tioguanina por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 40 mg de Tioguanina y transferir a un matraz aforado de 100 ml. Disolver en hidróxido de sodio 0,01 N, completar a volumen con hidróxido de sodio 0,01 N y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Solución de ácido fosfórico* y mezclar.

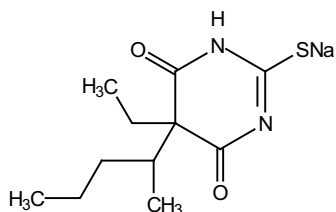
Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento:* los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,6 para guanina y 1,0 para tioguanina; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₅H₅N₅S en la porción de Tioguanina en ensayo.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si Tioguanina es anhidra o hemihidrato.

TIOPENTAL SODICO



$C_{11}H_{17}N_2NaO_2S$ PM: 264,3 71-73-8

Definición - Tiopental Sódico es la Sal monosódica de 5-etildihidro-5-(1-metil-butil)-2-tioxo-4,6(1*H*,5*H*)-piridinodiona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{11}H_{17}N_2NaO_2S$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco o polvo higroscópico blanco amarillento a amarillo-verdoso. Sus soluciones son alcalinas al tornasol, se descomponen en reposo y precipitan a ebullición. Soluble en agua y alcohol; insoluble en éter absoluto y éter de petróleo.

Sustancia de referencia - Tiopental SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.* Transferir 500 mg de Tiopental Sódico a una ampolla de decantación, disolver en 10 ml de agua, agregar 10 ml de ácido clorhídrico 3 N y extraer el tiopental liberado con dos porciones de 25 ml de cloroformo. Evaporar los extractos clorofórmicos combinados hasta sequedad. Agregar 10 ml de éter, evaporar nuevamente y secar a 105 °C durante 2 horas: el espectro de absorción infrarroja de una dispersión en bromuro de potasio del residuo así obtenido debe presentar máximos sólo a las mismas longitudes de onda que una preparación similar de Tiopental SR-FA.

B - Someter a ignición aproximadamente 500 mg de Tiopental Sódico: el residuo debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

C - Disolver 200 mg de Tiopental Sódico en 5 ml de hidróxido de sodio 1 N y agregar 2 ml de acetato de plomo (SR): se debe formar un precipitado blanco, que se oscurece gradualmente cuando la mezcla se calienta a ebullición. Acidificar la mezcla con ácido clorhídrico: los vapores de sulfuro de

hidrógeno liberados deben oscurecer el papel de acetato de plomo humedecido.

Pérdida por secado <680>

Secar a 80 °C durante 4 horas: no debe perder más de 2,0 % de su peso.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Impurezas comunes <510>

Solución muestra: 10 mg de Tiopental Sódico por ml de metanol.

Solución estándar: 9,2 mg de Tiopental SR-FA por ml, en metanol.

Volumen de aplicación: 40 µl.

Fase móvil: tolueno y metanol (85:15).

Revelador: 1.

VALORACIÓN

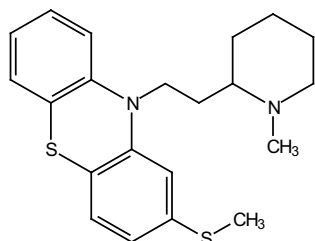
Diluyente - Solución de hidróxido de sodio 1 en 250.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Tiopental SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 5 µg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Tiopental Sódico, transferir a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 500 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Procedimiento - Determinar concomitantemente las absorbancias de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 304 nm, con un espectrofotómetro, empleando *Diluyente* como blanco. Calcular la cantidad de $C_{11}H_{17}N_2NaO_2S$ en la porción de Tiopental Sódico en ensayo.

TIORIDAZINA



$C_{21}H_{26}N_2S_2$

PM: 370,6

50-52-2

Definición – Tioridazina es 10-[2-(1-Metil-2-piperidinil)etil]-2-(metiltio)-10H-fenotiazina.

Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{21}H_{26}N_2S_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo fino cristalino de color blanco o ligeramente amarillo. Inodoro. Muy soluble en cloroformo; fácilmente soluble en alcohol absoluto y éter; prácticamente insoluble en agua.

Sustancia de referencia - Tioridazina SR-FA.

CONSERVACION

En envases inactínicos bien cerrados.

ENSAYOS

[NOTA: proteger de la luz tanto la muestra, la *Sustancia de referencia* y las soluciones que las contienen; realizando los procedimientos rápidamente, bajo luz tenue o empleando material de vidrio inactínico].

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Pureza cromatográfica*. El valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución estándar*.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 50 °C durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, alcohol isopropílico e hidróxido de amonio (74:25:1).

Diluyente - Metanol e hidróxido de amonio (49:1).

Solución estándar A - Disolver una cantidad exactamente pesada de Tioridazina SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 50 µg por ml (0,5 %).

Solución estándar B - Disolver una cantidad exactamente pesada de Tioridazina SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 20 µg por ml (0,2 %).

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Tioridazina, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver en *Diluyente*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de la *Solución muestra* y 5 µl de las *Soluciones estándar A* y *B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar evaporar. Examinar la placa bajo luz ultravioleta de 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar al obtenido con la *Solución estándar*. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ninguna mancha secundaria debe ser más intensa que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A* (0,5 %); y la suma de las intensidades de todas las manchas secundarias no debe ser mayor de 0,5 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

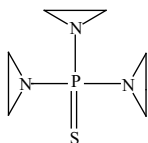
Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACION

Pesar exactamente alrededor de 300 mg de Tioridazina y disolver en 60 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*) Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 37,06 mg de $C_{21}H_{26}N_2S_2$.

TIOTEPA



C₆H₁₂N₃PS

PM: 189,2

52-24-4

Sinonimia - Trietilentiofosforamida.

Definición - Tiotepa es 1,1',1''-Fosfinitioilidinitrisaziridina. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de C₆H₁₂N₃PS, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Escamas finas cristalinas de color blanco. Fácilmente soluble en agua, alcohol, cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Tiotepa SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto, en un refrigerador [NOTA: a temperaturas mayores de 8 °C se polimeriza e inactiva].

Precaución - Manipular al Tiotepa con sumo cuidado, evitando la inhalación de sus partículas y el contacto de este agente con la piel. Trabajar bajo campana.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. En solución.

Solvente: disulfuro de carbono

Concentración: 3 en 400

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Preparación estándar*.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 52 y 57 °C.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,5 %; determinado sobre 1,2 g [NOTA: realizar todo el procedimiento lo más rápido posible].

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 215 nm y una columna de 15 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida

por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Solución reguladora de fosfato pH 7,0 (ver *Soluciones reguladoras* en *Reactivos y Soluciones*) y acetonitrilo (85:15). Filtrar y desgaseificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra A - Preparar una solución de Tiotepa en agua de aproximadamente 3,5 mg por ml.

Solución muestra B - Preparar una solución de Tiotepa en agua de aproximadamente 3,5 µg por ml.

Solución de resolución - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución de derivado clorado - Disolver 15 mg de Tiotepa en 10 ml de agua, agregar 1 g de cloruro de sodio, calentar en un baño de agua durante 10 minutos y dejar enfriar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 1,3 para metoxitiotepa y 1,0 para tiotepa; la resolución *R* entre los picos de metoxitiotepa y tiotepa no debe ser menor de 3,0. Cromatografiar la *Solución de derivado clorado* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el tiempo de retención relativo para el derivado clorado debe ser aproximadamente 3,75.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de las *Soluciones muestra A* y *B* y la *Solución de derivado clorado*. Registrar el cromatograma de la *Solución muestra A* durante al menos cuatro veces el tiempo de retención del pico de tiotepa y medir las respuestas de todos los picos. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra A*, la respuesta del pico correspondiente al derivado clorado no debe ser mayor que 1,5 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución muestra B* (0,15 %); la respuesta de cualquier otro pico obtenido con la *Solución muestra A*, no debe ser mayor que la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución muestra B* (0,1 %) y la suma de las respuestas de todos los picos no debe ser mayor que dos veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución muestra B* (0,2 %).

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 215 nm y una columna de

15 cm × 4,0 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 0,8 ml por minuto.

Fase móvil - Agua y acetonitrilo (9:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de resolución - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Tiotepa SR-FA, transferir a un recipiente con tapa de 4,0 ml, agregar 2,0 ml de metanol y mezclar. Agregar 50 µl de solución de ácido fosfórico al 0,1 %, tapar y calentar a 65 °C durante 50 segundos. Enfriar, agregar 1,0 ml de metanol y mezclar.

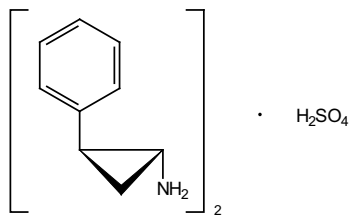
Preparación estándar - Disolver una porción exactamente pesada de Tiotepa SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 1,5 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 75 mg de Tiotepa y transferir a un matraz aforado de 50 ml. Disolver y completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 1,25 para metoxitiotepa y 1,0 para tiotepa; la resolución *R* entre los picos de metoxitiotepa y tiotepa no debe ser menor de 3,0. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 2.600 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 1,8; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₆H₁₂N₃PS en la porción de Tiotepa en ensayo.

TRANILCIPROMINA, SULFATO DE



$(\text{C}_9\text{H}_{11}\text{N})_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$ PM: 364,5 13492-01-8

Definición - Sulfato de Tranilcipromina es Sulfato de trans-(±)-2-fenilciclopropanamina. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $(\text{C}_9\text{H}_{11}\text{N})_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Inodoro o con un débil olor similar al del cinamaldehído. Soluble en agua; muy poco soluble en alcohol y éter; insoluble en cloroformo.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. Proceder según se indica en *Identificación por medio de espectros de referencia*.

B - Debe responder a los ensayos para Sulfato <410>.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C hasta peso constante: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación de residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 1,5 m × 4 mm rellena con un 3 % de fase líquida constituida por 25 % de fenilsilicona, 25 % de ciano propilsilicona y 50 % de metilsilicona sobre un soporte de tierra silícea para cromatografía de granulometría entre 100 a 120 mesh, que ha sido calcinada a 900 °C mezclando diatomea con Na_2CO_3 [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido y luego con agua hasta neutralidad. La tierra silícea puede

ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener la columna aproximadamente a 170 °C. Se debe emplear nitrógeno como gas transportador.

Solución del estándar interno - Disolver 10 mg de 4-cloroanilina en 20 ml de ácido clorhídrico 0,1 N.

Solución estándar - A 1 ml de *Solución del estándar interno*, agregar 5 ml de hidróxido de sodio 1 N y extraer con 10 ml de diclorometano. Agregar 1 ml de anhídrido trifluoroacético al extracto clorofórmico y dejar reposar durante 10 minutos. Evaporar a una presión de 7,5 mm Hg empleando un evaporador rotatorio y un baño de agua a 20 °C y disolver el residuo en 2 ml de diclorometano.

Solución muestra A - Pesarse exactamente alrededor de 100 mg de Sulfato de Tranilcipromina, disolver en 5 ml de agua y agregar 1 ml de hidróxido de sodio 5 N. Proceder según se indica para la *Solución estándar* comenzando donde dice: “*extraer con...*”.

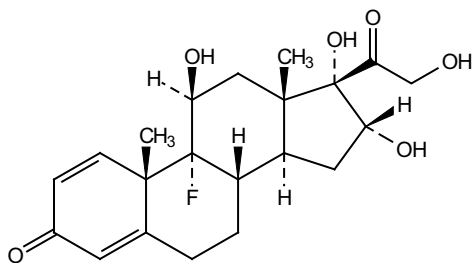
Solución muestra B - Pesarse exactamente alrededor de 100 mg de Sulfato de Tranilcipromina, disolver en 5 ml de agua, agregar 1 ml de hidróxido de sodio 5 N y 1 ml de *Solución del estándar interno*. Proceder según se indica para la *Solución estándar* comenzando donde dice: “*extraer con...*”.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales de la *Solución estándar* y las *Soluciones muestra A* y *B*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos: a excepción del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra B* la respuesta de ningún pico debe ser mayor a la respuesta del pico correspondiente al trifluoroacetil derivado de 4-cloroanilina obtenido con la *Solución estándar* (0,5 %).

VALORACIÓN

Pesarse exactamente alrededor de 300 mg de Sulfato de Tranilcipromina, disolver en ácido acético glacial, previamente neutralizado, y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 36,45 mg de $(\text{C}_9\text{H}_{11}\text{N})_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$.

TRIAMCINOLONA



$C_{21}H_{27}FO_6$

PM: 394,4

124-94-7

Definición - Triamcinolona es (11 β ,16 α)-9-Fluoro-11,16,17,21-tetrahidroxipregna-1,4-dieno-3,20-diona. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{21}H_{27}FO_6$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o prácticamente blanco, inodoro. Poco soluble en alcohol y metanol; muy poco soluble en agua, cloroformo y éter.

Sustancia de referencia - Triamcinolona SR-FA.

CONSERVACION

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: metanol.

Concentración: 20 μ g por ml.

Las absorptividades a 238 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 3,0 %.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +65° y +72°.

Solución muestra: 2 mg por ml, en dimetilformamida.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 60 °C durante 4 horas: no debe perder más de 2,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,5 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,0025 %.

VALORACION

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm \times 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol y agua (60:40). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución del estándar interno - Disolver Hidrocortisona en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,3 mg por ml.

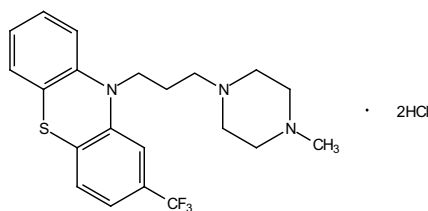
Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 10 mg Triamcinolona SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver con *Solución del estándar interno*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Triamcinolona, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver con *Solución del estándar interno*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención para triamcinolona e hidrocortisona deben ser aproximadamente 5 y 10 minutos, respectivamente; la resolución *R* entre los picos de triamcinolona e hidrocortisona no debe ser menor de 3,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{21}H_{27}FO_6$ en la porción de Triamcinolona en ensayo.

TRIFLUOPERAZINA, CLORHIDRATO DE



$C_{21}H_{24}F_3N_3S \cdot 2HCl$ PM: 480,4 440-17-5

Definición - Clorhidrato de Trifluoperazina es Diclорhidrato de 10-[3-(4-metil-1-piperazinil)propil]-2-(trifluorometil)-10H-fenotiazina. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{21}H_{24}F_3N_3S \cdot 2HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco a amarillo pálido. Inodoro. Funde aproximadamente a 242 °C, con descomposición. Fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol; moderadamente soluble en cloroformo; insoluble en éter y benceno.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Trifluoperazina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

[NOTA: efectuar los siguientes procedimientos rápidamente, bajo luz tenue, empleando material de vidrio inactivo.]

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: ácido clorhídrico 0,1 N.

Concentración: 10 µg por ml.

Las absorbividades a 255 nm, calculadas sobre la sustancia seca, no deben diferir en más de 2,0 %.

C - Una solución de Clorhidrato de Trifluoperazina 1 en 100 debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

D - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetona e hidróxido de amonio (200:1).

Solución estándar - Preparar una solución de Clorhidrato de Trifluoperazina SR-FA en metanol de aproximadamente 1,2 mg por ml.

Solución muestra - Preparar una solución de Clorhidrato de Trifluoperazina en metanol de aproximadamente 1,2 mg por ml.

Revelador - Disolver 100 mg de ácido cloroplático en 1 ml de ácido clorhídrico 1 N. Agregar 25 ml de solución de ioduro de potasio 1 en 25, diluir a 100 ml con agua y luego agregar 0,5 ml de ácido fórmico.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de la *Solución muestra* y 5 µl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución estándar*.

Determinación del pH <250>

Entre 1,7 y 2,6, determinado sobre una solución 1 en 20.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 60 °C durante 4 horas: no debe perder más de 1,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

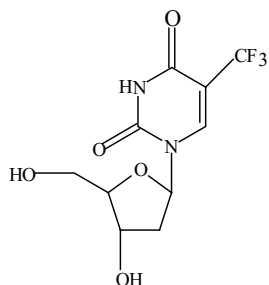
Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Clorhidrato de Trifluoperazina, previamente secados, disolver en 50 ml de ácido acético glacial y agregar cristal violeta (SR) y 15 ml de acetato mercúrico (SR). Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) hasta punto final de color verde azulado. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 24,02 mg de $C_{21}H_{24}F_3N_3S \cdot 2HCl$.

TRIFLURIDINA



$C_{10}H_{11}F_3N_2O_5$

PM: 296,2

70-00-8

Definición - Trifluridina es α, α, α -Trifluorotimidina. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{10}H_{11}F_3N_2O_5$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco. Al microscopio se observan cristales en forma de bastones. Funde aproximadamente a 175 °C, con sublimación.

Sustancias de referencia - Trifluridina SR-FA. Impureza A de Trifluridina SR-FA: 5-Carboxi-2'-deoxiuridina.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>.

Solvente: ácido clorhídrico 0,1 N.

Concentración: 25 µg por ml.

C - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Preparación estándar*

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: entre +47° y +51°.

Solución muestra: 30 mg por ml.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Emplear la *Preparación estándar* según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* según se indica en *Valoración*.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración*. Calcular el porcentaje de impureza A de trifluridina y de

5-(trifluorometil)uracilo en la porción de Trifluridina en ensayo. No debe contener más de 1,0 % de impureza A de trifluridina ni más de 1,0 % de 5-(trifluorometil)uracilo.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C al vacío durante 4 horas: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,2 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Citrato de sodio al 0,15 %, ajustar a pH 6,8 con ácido clorhídrico 1 N. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Preparación madre del estándar - Disolver porciones exactamente pesadas de Trifluridina SR-FA, Impureza A de Trifluridina SR-FA y 5-(trifluorometil)uracilo en agua para obtener una solución de aproximadamente 1; 0,01 y 0,01 mg por ml, respectivamente. [NOTA: esta solución puede ser almacenada durante tres meses a una temperatura entre 0 y 5 °C.]

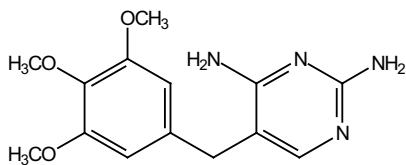
Preparación estándar - Transferir 10,0 ml de *Preparación madre del estándar* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Trifluridina, transferir a un matraz aforado de 250 ml, disolver y completar a volumen con agua y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de 5-(trifluorometil)uracilo e impureza A de trifluridina no debe ser menor de 3,0; la resolución *R* entre los picos de impureza A de trifluridina y trifluridina no debe ser menor de 4,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{10}H_{11}F_3N_2O_5$ en la porción de Trifluridina en ensayo.

TRIMETOPRIMA



$C_{14}H_{18}N_4O_3$ PM: 290,3 738-70-5

Definición - Trimetoprima es 5-[(3,4,5-Trimetoxifenil)metil]-2,4-pirimidinodiazina. Debe contener no menos de 98,5 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{14}H_{18}N_4O_3$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cristales o polvo cristalino de color blanco o blanco amarillento, inodoro. Soluble en alcohol bencílico; moderadamente soluble en cloroformo y metanol; poco soluble en alcohol y acetona; muy poco soluble en agua; prácticamente insoluble en éter y tetracloruro de carbono.

Presenta polimorfismo.

Sustancia de referencia - Trimetoprima SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Trimetoprima, transferir a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con hidróxido de sodio 0,1 N. Diluir 1 ml de esta solución con hidróxido de sodio 0,1 N a 10 ml y examinar entre 230 y 350 nm (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*): el espectro de absorción ultravioleta de esta solución debe presentar un máximo a 287 nm y el coeficiente de absorción específica $E(1\%, 1\text{ cm})$ a esta longitud de onda debe estar comprendido entre 240 y 250.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 199 y 203 °C.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,3 ml por minuto.

Solución reguladora de pH 3,6 - Preparar una solución de perclorato de sodio 10 mM en agua. Ajustar a pH 3,6 con ácido fosfórico y mezclar.

Fase móvil - Solución reguladora de pH 3,6 y metanol (7:3) - Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de resolución - Disolver cantidades exactamente pesadas de Trimetoprima SR-FA y diaveridina, diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 10 y 5 μg por ml, respectivamente.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Trimetoprima y transferir a un matraz aforado de 25 ml. Disolver en *Fase móvil*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar la respuesta de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución R entre los picos de trimetoprima y diaveridina no debe ser menor de 2,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 20 μl de la *Solución muestra*, registrar el cromatograma durante no menos de 11 veces el tiempo de retención del pico de trimetoprima y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Trimetoprima en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$100 \{Fr_i / [\sum(Fr_i) + Fr_T]\}$$

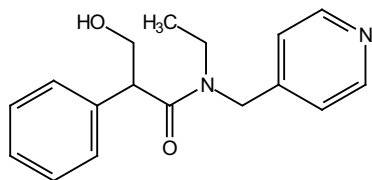
en la cual F es el factor de respuesta relativo y es 0,5 para cualquier pico con un tiempo de retención de 0,9; 2,3; 2,7 ó 10,3; y es igual a 1,0 para todos los otros picos, r_i es la respuesta de cada impureza individual y r_T es la respuesta del pico de trimetoprima: no debe contener más de 0,1 % de cada impureza individual y la suma de todas las impurezas no debe ser mayor de 0,2 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 300 mg de Trimetoprima, disolver en 60 ml de ácido acético glacial y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), de-

terminando el punto final potenciométricamente.
Realizar una determinación con un blanco y hacer
las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*).
Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a
29,03 mg de $C_{14}H_{18}N_4O_3$.

TROPICAMIDA



$C_{17}H_{20}N_2O_2$

PM: 284,4

1508-75-4

Definición - Tropicamida es (\pm) *N*-Etil- α -(hidroximetil)-*N*-(4-piridinilmetil)-bencenoacetamida. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{17}H_{20}N_2O_2$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco, inodoro o con olor débil. Fácilmente soluble en cloroformo y en soluciones de ácidos fuertes; poco soluble en agua.

Sustancia de referencia - Tropicamida SR-FA

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: ácido clorhídrico 3 N.

Concentración: 25 μ g por ml.

Determinación del punto de fusión <260>

Método I. Entre 96 y 100 °C.

Pérdida por secado <680>

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Tropicamida, secar al vacío sobre pentóxido de fósforo a 80 °C durante 4 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloruro de metileno, metanol y amoníaco concentrado (95:5:0,5).

Solución muestra - Disolver 100 mg de Tropicamida en cloruro de metileno y diluir a 5 ml con el mismo solvente.

Solución muestra diluida - Transferir 1,0 ml de *Solución muestra* a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con cloruro de metileno y mezclar.

Solución madre del estándar - Transferir 5 ml de la *Solución muestra diluida* a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con cloruro de metileno y mezclar.

Solución estándar A - Transferir 1,0 ml de la *Solución madre del estándar* a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con cloruro de metileno y mezclar.

Solución estándar B - Transferir 2,0 ml de la *Solución estándar A* a un matraz aforado de 5 ml, completar a volumen con cloruro de metileno y mezclar.

Solución de referencia - Disolver 10 mg de Tropicamida SR-FA en cloruro de metileno y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución de resolución - Disolver 10 mg de 4[(etilamino)metil]piridina en cloruro de metileno y diluir a 10 ml con el mismo solvente. Diluir 1 ml de esta solución y 1 ml de la *Solución de referencia* a 10 ml con cloruro de metileno.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra*, 10 μ l de las *Soluciones estándar A* y *B*, 10 μ l de la *Solución de referencia* y 10 μ l de la *Solución de resolución*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar las manchas bajo luz ultravioleta a 254 nm: a excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ninguna mancha debe ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar A* (0,5 %) y sólo una mancha puede ser más intensa que la obtenida con la *Solución estándar B* (0,2 %). El ensayo sólo es válido si el cromatograma obtenido con la *Solución de resolución* presenta dos manchas completamente separadas.

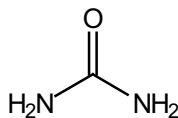
Ácido trópico

A 10,0 mg de Tropicamida agregar 5 mg de borato de sodio y 0,35 ml de una solución recientemente preparada de *p*-dimetilaminobenzaldehído al 10 % en una mezcla de ácido sulfúrico y agua (9:1). Calentar en un baño de agua durante 3 minutos. Enfriar en agua helada y agregar 5 ml de anhídrido acético: no debe aparecer coloración rojo-violáceo (0,05 %).

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 750 mg de Tropicamida, disolver en 80 ml de ácido acético glacial, agregar 4 gotas de cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) hasta punto final verde azulado. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 28,44 mg de $C_{17}H_{20}N_2O_2$.

UREA



CH₄N₂O

PM: 60,1

57-13-6

Definición - Urea es la Carbamida. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de CH₄N₂O, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o cristales prismáticos blancos a incoloros. Sus soluciones son neutras frente al papel de tornasol. Fácilmente soluble en agua y en alcohol a ebullición; prácticamente insoluble en cloroformo y éter.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Urea, transferir a un tubo de ensayo y calentar: se debe licuar y desprende amoníaco. Continuar el calentamiento hasta que el líquido se enturbie y luego enfriar. Disolver la masa fundida en una mezcla de 10 ml de agua y 1 ml de solución de hidróxido de sodio 1 en 10 y agregar 1 gota de sulfato cúprico (SR): se debe producir un color violeta rojizo.

B - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Urea, disolver en 1 ml de agua y agregar 1 ml de ácido nítrico: se debe formar un precipitado cristalino blanco de nitrato de urea.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 132 y 135 °C.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Materia insoluble en alcohol

Pesar exactamente alrededor de 5,0 g de Urea, disolver en 50 ml de alcohol caliente y si quedara un residuo insoluble remanente, filtrar la solución a través de un filtro previamente pesado. Lavar el residuo y el filtro con 20 ml de alcohol caliente y secar a 105 °C durante 1 hora: el peso del residuo no debe ser mayor de 2 mg (0,04 %).

Límite de cloruro y sulfato <560>

Cloruro - Una porción de 2,0 g de Urea no debe presentar más cloruro que el que corresponde a 0,20 ml de ácido clorhídrico 0,020 N (0,007 %).

Sulfato - Una porción de 2,0 g de Urea no debe presentar más sulfato que el que corresponde a 0,20 ml de ácido sulfúrico 0,020 N (0,010 %).

Límite de metales pesados <590>

Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Urea, disolver en 20 ml de agua y agregar 5 ml de ácido clorhídrico 0,1 N (0,002 %).

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que la Urea es estéril no debe contener más de 0,003 Unidades de Endotoxina por mg de Urea.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que la Urea es estéril, debe cumplir con los requisitos.

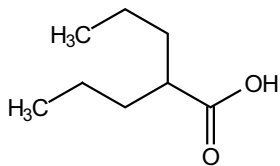
VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Urea, transferir a un matraz aforado de 200 ml, disolver en agua, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 2 ml de esta solución a un matraz de digestión microkjeldahl y proceder según se indica en *Determinación de nitrógeno <200>*. *Método II*, comenzando donde dice: "Agregar 1 g de una mezcla pulverizada...". [NOTA: en este procedimiento, continuar calentando el matraz hasta que empiecen a desprenderse vapores y luego calentar durante 1 hora]. Cada ml de ácido sulfúrico 0,01 N equivale a 0,3003 mg de CH₄N₂O.

ROTULADO

Cuando la Urea esté destinada para la preparación de formas farmacéuticas inyectables, en el rótulo se debe indicar que es estéril.

VALPROICO, ÁCIDO



$C_8H_{16}O_2$

PM: 144,2

99-66-1

Definición - Ácido Valproico es Ácido 2-propil pentanoico. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_8H_{16}O_2$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido transparente, algo viscoso, incoloro o amarillo pálido, de olor característico. Posee un índice de refracción de aproximadamente 1,423 a 20 °C. Fácilmente soluble en hidróxido de sodio 1 N, metanol, alcohol, acetona, cloroformo, éter y n-heptano; poco soluble en agua y ácido clorhídrico 0,1 N.

Sustancias de referencia - Ácido Valproico SR-FA. Impureza A de Ácido Valproico SR-FA: Ácido dialil acético.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto de vidrio, acero inoxidable o polietileno de alta densidad.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En película fina.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 1,0 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de 60 m × 0,32 mm recubierta internamente con una capa de 0,3 μm de espesor de polietilenglicol esteri-

ficado con ácido tereftálico (conocido comercialmente como Carbowax 20M-TPA). Se emplea helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 150 ml por minuto y una relación flujo dividido de 100:1. Mantener el inyector y el detector a 240 y 260 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se programa según se indica en *Procedimiento*.

Solución de aptitud del sistema - Mezclar cantidades apropiadas de ácido butírico, ácido valérico e Impureza A de Ácido Valproico SR-FA en Ácido Valproico para obtener una solución con concentraciones de aproximadamente 1,0; 1,0 y 0,1 μl por ml, respectivamente.

Solución muestra - Emplear Ácido Valproico.

Aptitud del sistema (ver 100. Cromatografía) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,38 para ácido butírico; 0,52 para ácido valérico; 1,64 para impureza A de ácido valproico SR-FA y 1,0 para ácido valproico; la resolución *R* entre los picos de ácido butírico y ácido valérico no debe ser menor de 23,0; la eficiencia de la columna para el pico de ácido valérico no debe ser menor de 100.000 platos teóricos; el factor de asimetría para el pico de ácido valérico no debe ser mayor de 1,5. El pico para impureza A de ácido valproico SR-FA debe eluir entre los 41 y 50 minutos y debe tener una respuesta no menor de 0,01 % relativo al pico de ácido valproico.

Procedimiento - Equilibrar la columna a 145 °C, inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 0,5 μl de la *Solución muestra*, luego de 48 minutos, incrementar linealmente la temperatura de la columna a razón de 5 °C por minuto hasta 190 °C, mantener esta temperatura hasta el final del cromatograma de 60 minutos. Registrar los cromatogramas, medir las respuestas de los picos y calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Ácido Valproico en ensayo, en relación a la suma de las respuestas de todos los picos. No debe contener más de 0,1 % de cada impureza y no más de 0,3 % de impurezas totales.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 1,8 m × 2,0 mm con fase estacionaria constituida por poliéster de succinato de dietilenglicol estabilizado con ácido fosfórico al 10 % sobre un soporte

constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases calcinada a 900 °C, N° 80 a 100. [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido, luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Emplear helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 35 ml por minuto. Mantener la columna, el inyector y el detector a aproximadamente 175, 275 y 300 °C, respectivamente.

Solución del estándar interno - Transferir 1,2 g de ácido nonanoico a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a volumen con heptano.

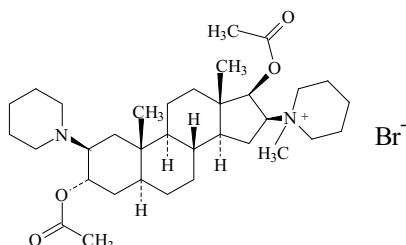
Preparación estándar - Preparar una solución de Ácido Valproico SR-FA en heptano de aproximadamente 10,0 mg por ml. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, agregar 5,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con heptano y mezclar.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Ácido Valproico, transferir a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con heptano y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, agregar 5,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con heptano y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 1,0 para ácido valproico y 2,0 para ácido nonanoico; la resolución *R* entre los picos de ácido valproico y ácido nonanoico no debe ser menor de 8,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 3 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₈H₁₆O₂ en la porción de Ácido Valproico en ensayo.

VECURONIO, BROMURO DE



$C_{34}H_{57}BrN_2O_4$ PM: 637,7 50700-72-6

Definición - Bromuro de Vecuronio es Bromuro de 1-[(2 β ,3 α ,5 α ,16 β ,17 β)-3,17-bis(acetiloxi)-2-(1-piperidinil)androstan-16-il]-1-metilpiperidinio. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{34}H_{57}BrN_2O_4$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino o cristales de color blanco o blanco cremoso. Moderadamente soluble en alcohol; muy poco soluble en acetona y agua.

Sustancias de referencia - Bromuro de Vecuronio SR-FA. Mezcla para identificación de picos de Vecuronio SR-FA (contiene Impurezas A, B, C y D).

CONSERVACIÓN

En envases herméticos a temperatura ambiente.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: entre -16° y -20° , a 20°C .

Solución muestra: preparar una solución de Bromuro de Vecuronio de 10 mg por ml en alcohol absoluto.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener no más de 10 Unidades de Endotoxinas por mg de Bromuro de Vecuronio.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105°C durante dos horas: no debe perder más de 2,5 % de su peso.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta, ajustado a 210 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm rellena con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μm de diámetro. Mantener la columna a 40°C . El caudal debe ser de aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Solución de hidróxido de tetrametilamonio - Preparar una solución de hidróxido de tetrametilamonio de aproximadamente 18 mg por ml y ajustar a pH 6,5 con ácido fosfórico.

Fase móvil - Acetonitrilo, metanol y *Solución de hidróxido de tetrametilamonio* (700:250:50). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Diluyente - Preparar una solución de ácido clorhídrico en metanol de aproximadamente 0,2 mg por ml.

Solución para identificación de picos de Vecuronio - Disolver 4 mg de Mezcla para identificación de picos de Vecuronio SR-FA en *Diluyente* y diluir a 2 ml con el mismo solvente.

Solución muestra - Preparar una solución de Bromuro de Vecuronio en *Diluyente* de aproximadamente 2 mg por ml.

Solución estándar A - Transferir 5 ml de *Solución muestra* a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Diluyente*. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con el mismo solvente.

Solución estándar B - Transferir 10 ml de *Solución estándar A* a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con *Diluyente*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) -

Cromatografiar la *Solución para identificación de picos de Vecuronio* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos al Vecuronio deben ser

para 1-[17 β -(acetiloxi)-3 α -hidroxi-2 β -(piperidin-1-il)-5 α -androstan-16 β -il]-1-metilpiperidinio (Impureza B) aproximadamente 0,8; para 1-[3 α ,17 β -dihidroxi-2 β -(piperidin-1-il)-5 α -androstan-16 β -il]-1-metilpiperidinio (Impureza C) 0,9; para 1-[3 α -(acetiloxi)-17 β -hidroxi-2 β -(piperidin-1-il)-5 α -androstan-16 β -il]-1-metilpiperidinio (Impureza D) 1,2 y para 2 β ,16 β -bis(piperidin-1-il)-5 α -androstan-3 α ,17 β -diildiacetil (Impureza A) 1,3. El cociente entre la altura del pico de impureza C de bromuro de vecuronio y la altura del valle entre el pico de impureza D de bromuro de vecuronio y el

pico principal no debe ser menor de 2,0; el factor de asimetría debe ser menor de 3,5.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución estándar A*, *Solución estándar B* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas durante no menos de 2,5 veces el tiempo de retención de bromuro de vecuronio y medir las respuestas de todos los picos. Calcular la cantidad de impurezas multiplicando las respuestas de los picos por los siguientes factores de corrección: 0,6 para Impureza A y 1,4 para Impureza B. La respuesta para cualquier impureza individual obtenida a partir de la *Solución muestra* en el cromatograma no debe ser mayor a la respuesta del pico principal obtenida con la *Solución estándar A* (0,25 %); cualquier otra respuesta obtenida a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor al doble de la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar B* (0,10 %); la suma de las respuestas de todos los picos no debe ser mayor a 2,8 veces la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (0,7 %). Ignorar cualquier respuesta con un área mayor a la obtenida con la *Solución estándar B* (0,05 %).

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 215 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. Mantener la columna aproximadamente a 40 °C. El caudal debe ser aproximadamente 0,5 ml por minuto.

Solución A - Transferir 8,0 g de perclorato de sodio a un matraz aforado de 1 litro, disolver en 6,0 ml de agua, completar a volumen con acetonitrilo, mezclar, filtrar y desgasificar.

Solución B - Transferir 3,2 g de cloruro de amonio a un matraz aforado de 2 litros, disolver en 16 ml de hidróxido de amonio, completar a volumen con metanol, mezclar, filtrar y desgasificar. [NOTA: evitar la desgasificación excesiva para prevenir la pérdida de amoníaco].

Fase móvil - *Solución A* y *Solución B* (3:2). Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Transferir 1,0 ml de ácido clorhídrico 1 M a un matraz aforado de 1 litro, completar a volumen con acetonitrilo y mezclar.

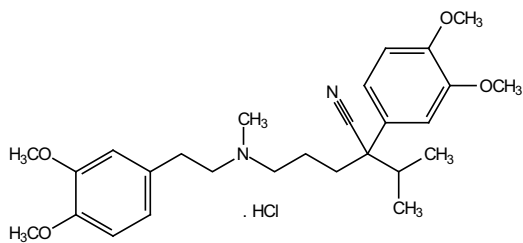
Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Bromuro de Vecuronio SR-FA con *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Bromuro de Vecuronio, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver y diluir con *Diluyente* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 5.000 platos teóricos y la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₃₄H₅₇BrN₂O₄ en la porción de Bromuro de Vecuronio en ensayo.

VERAPAMILO, CLORHIDRATO DE



$C_{27}H_{38}N_2O_4 \cdot HCl$ PM: 491,1 152-11-4

Definición - Clorhidrato de Verapamilo es Monoclorhidrato de $(\pm)\text{-}\alpha\text{-}[3\text{-}[[2\text{-}(3,4\text{-dimetoxifenil)etil]metilamino]propil]]\text{-}3,4\text{-dimetoxi-}\alpha\text{-}(1\text{-metiletil)benzoacetronitrilo}$. Debe contener no menos de 99,0 por ciento y no más de 100,5 por ciento de $C_{27}H_{38}N_2O_4 \cdot HCl$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco, inodoro. Fácilmente soluble en cloroformo; soluble en agua; moderadamente soluble en alcohol; prácticamente insoluble en éter.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Verapamilo SR-FA. Impureza B de Verapamilo SR-FA: Monoclorhidrato de $\alpha\text{-}[2\text{-}[[2\text{-}(3,4\text{-dimetoxifenil)etil]metilamino]etil]\text{-}3,4\text{-dimetoxi-}\alpha\text{-}(1\text{-metiletil)benzoacetronitrilo}$.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Pureza cromatográfica*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe ser corresponder con el obtenido con la *Solución estándar B*.

C - Una solución de Clorhidrato de Verapamilo debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación del punto de fusión <260>

Entre 140 y 144 °C.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 6,5, determinado sobre una solución de aproximadamente 50 mg por ml, preparada calentando suavemente.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 278 nm y una columna de 12,5 a 15 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 0,9 ml por minuto.

Solución de acetato de sodio - Preparar una solución de acetato de sodio 0,015 N en ácido acético al 3,3 % v/v.

Fase móvil - *Solución de acetato de sodio*, acetronitrilo y 2-aminoheptano (70:30:0,5). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Solución estándar A - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Verapamilo SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 5,7 μ g por ml.

Solución estándar B - Proceder según se indica para *Solución estándar A* para obtener una solución de aproximadamente 9,5 μ g por ml.

Solución muestra - Preparar una solución de Clorhidrato de Verapamilo en *Fase móvil* de aproximadamente 1,9 mg por ml.

Solución de aptitud del sistema - Disolver cantidades apropiadas de Clorhidrato de Verapamilo SR-FA e Impureza B de Verapamilo SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 1,9 y 1,5 mg por ml, respectivamente.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de verapamilo e impureza B de verapamilo no debe ser menor de 1,5; los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,88 para impureza B de verapamilo y 1,0 para verapamilo; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de las *Soluciones estándar A* y *B*, y la *Solución muestra*. Cromatografiar la *Solución muestra* durante al menos cuatro veces el tiempo de retención de verapamilo. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. A excepción del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la suma de las respuestas de todos los picos no debe ser mayor que la respuesta del pico de verapamilo obtenido con la *Solución estándar B* (0,5 %) y la respuesta de

ningún pico debe ser mayor que la obtenida con la *Solución estándar A* (0,3 %).

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 0,5 % de su peso.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

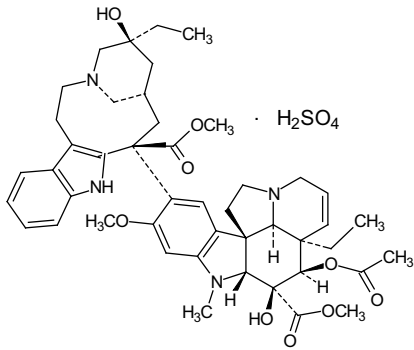
Método III.

Solvente: *n*-propanol al 0,1 %.

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 400 mg de Clorhidrato de Verapamilo y disolver en 40 ml de ácido acético glacial. Agregar 10 ml de acetato mercuríco (SR) y 5 ml de anhídrido acético. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 49,11 mg de $C_{27}H_{38}N_2O_4 \cdot HCl$.

VINBLASTINA, SULFATO DE



$C_{46}H_{58}N_4O_9 \cdot H_2SO_4$ PM: 909,1 143-67-9

Definición - Sulfato de Vinblastina es Vincalucoblastina. Debe contener no menos de 96,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{46}H_{58}N_4O_9 \cdot H_2SO_4$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino o amorfo, blanco a ligeramente amarillo. Higroscópico. Fácilmente soluble en agua.

Sustancias de referencia - Sulfato de Vinblastina SR-FA. Sulfato de Vincristina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto, en un freezer.

Precaución - Manipular el Sulfato de Vinblastina con mucho cuidado, ya que es un potente citotóxico.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. En fase sólida. Secar previamente el Sulfato de Vinblastina y Sulfato de Vinblastina SR-FA al vacío a 60 °C durante 16 horas.

B - Una solución de Sulfato de Vinblastina 10 % p/v, debe responder a los ensayos para Sulfato <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 3,5 y 5,0; determinado sobre una solución preparada disolviendo 3 mg de Sulfato de Vinblastina en 2 ml de agua.

Pérdida por secado

[NOTA: realizar las pesadas rápidamente con una mínima exposición de la sustancia al aire.]

Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Sulfato de Vinblastina. Determinar el porcentaje de

sustancias volátiles mediante un análisis termogravimétrico (ver 20. Análisis térmico), calentando la muestra a una velocidad de 5 °C por minuto, desde temperatura ambiente hasta 200 °C, bajo atmósfera de nitrógeno, con un caudal de aproximadamente 40 ml por minuto. A partir del termograma obtenido, determinar la pérdida de peso acumulada entre la temperatura ambiente y un punto de la meseta antes de que se inicie la descomposición (aproximadamente a 160 °C): no debe perder más de 15 % de su peso.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en Valoración.

Solución muestra - Preparar según se indica en Preparación muestra en Valoración.

Solución muestra diluida - Transferir 1,0 ml de Solución muestra a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 200 µl) de la Solución muestra diluida y la Solución muestra. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje total de impurezas, por la fórmula siguiente:

$$100r_i/(r_t + 25r_v)$$

en la cual r_t es la sumatoria de las respuestas individuales r_i ; y r_v es la respuesta correspondiente al pico de vinblastina en el cromatograma obtenido a partir de la Solución muestra diluida: no debe contener más de 3,0 %. Calcular el porcentaje de cada impureza individual, por la fórmula siguiente:

$$100r_i/(r_t + 25r_v)$$

en la cual los términos son los descriptos anteriormente: no debe contener más de 1,0 %.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que el Sulfato de Vinblastina está destinado a la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral que no deben someterse a un tratamiento posterior de esterilización, debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que el Sulfato de Vinblastina está destinado a la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral, debe contener menos de 10 Unidades de Endotoxina por mg de sulfato de vinblastina.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 262 nm, una precolumna constituida por gel de sílice poroso y una columna de 15 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Solución A - Agua y dietilamina (986:14). Ajustar a pH 7,5 con ácido fosfórico y mezclar.

Solución B - Metanol y acetonitrilo (80:20). Ajustar a pH 7,5 con ácido fosfórico y mezclar.

Fase móvil - *Solución B* y *Solución A* (62:38). Filtrar y desgasificar al vacío. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Sulfato de Vinblastina SR-FA con agua y diluir con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 0,4 mg por ml.

Preparación muestra - Disolver una cantidad exactamente pesada de Sulfato de Vinblastina con agua y diluir con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 0,4 mg por ml.

Solución de aptitud del sistema - Disolver una cantidad exactamente pesada de Sulfato de Vincristina SR-FA en una porción de *Preparación estándar* para obtener una solución de aproximadamente 0,4 mg de cada sustancia de referencia por ml.

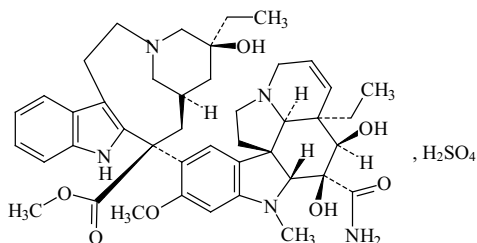
Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de vincristina y vinblastina no debe ser menor de 4,0. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{46}H_{58}N_4O_9 \cdot H_2SO_4$ en la porción de Sulfato de Vinblastina en ensayo.

ROTULADO

Cuando el Sulfato de Vinblastina esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral, indicar en el rótulo que es estéril.

VINDESINA, SULFATO DE



$C_{43}H_{57}N_5O_{11}S$ PM: 852,2 59917-39-4

Definición - Sulfato de Vindesine es Sulfato de 3-(aminocarbonil)- O^4 -deacetil-3-de(metoxicarbonil) vincalécoblastina. Debe contener no menos de 96,0 por ciento y no más de 103,0 por ciento de $C_{43}H_{57}N_5O_{11}S$, calculado sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Sustancia amorfa blanca o casi blanca. Higroscópica. Fácilmente soluble en agua y metanol; prácticamente insoluble en ciclohexano.

Sustancias de referencia - Sulfato de Vindesine SR-FA. Desacetilvinblastina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases herméticos de polipropileno, con tapón de polipropileno, a una temperatura no mayor de $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. Proceder según se indica en *Identificación por medio de espectros de referencia*.

Determinación del pH <250>

Entre 3,5 y 5,5; determinado sobre una solución de aproximadamente 5 mg por ml, en agua libre de dióxido de carbono.

Sustancias relacionadas

[NOTA: mantener las soluciones en un baño de hielo hasta el momento de su uso].

Sistema cromatográfico - Proceder según se indica en *Valoración*, excepto que el caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto y se debe programar el cromatógrafo del siguiente modo:

Tiempo	Solución A (%v/v)	Solución B (%v/v)	Etapas
0-40	49	51	Isocrático
40-49	49→30	51→70	Gradiente lineal
49-fin	30	70	Isocrático

Solución A - Solución de dietilamina al 1,5 %v/v, ajustada a pH 7,4 con ácido fosfórico. Filtrar y desgasificar.

Solución B - Metanol. Filtrar y desgasificar.

Fase móvil - Emplear mezclas variables de *Solución A* y *Solución B*, según se indica en *Sistema cromatográfico*. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Disolver 10,0 mg de Sulfato de Vindesine en agua y diluir hasta 10,0 ml con el mismo solvente.

Solución estándar A - Diluir 1,0 ml de *Solución muestra* hasta 50,0 ml con agua.

Solución estándar B - Disolver 1,0 mg de Desacetilvinblastina SR-FA en agua, agregar 1,0 ml de *Solución muestra* y diluir hasta 50,0 ml con agua.

Solución estándar C - Diluir 1,0 ml de *Solución estándar A* hasta 200,0 ml con agua.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar B* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el tiempo de retención para el pico de vindesine debe ser menor de 40 minutos; el factor de asimetría determinado a partir del pico de vindesine no debe ser mayor de 2,0; la resolución *R* entre los picos de vindesine y desacetilvinblastina no debe ser menor de 2,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 200 μl) de las *Soluciones estándar A* y *C* y la *Solución muestra*. Mantener la concentración final de la *Fase móvil* durante al menos dos veces el tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos: a excepción del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta de ningún pico debe ser mayor que la mitad de la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (1,0 %); y la suma de las respuestas de todos los picos, a excepción del pico principal, no debe ser mayor que la respuesta del pico principal obtenido con la *Solución estándar A* (2,0 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta inferior que la del pico principal obtenido con la *Solución estándar C*.

Acetonitrilo

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de 1,25 m \times 3,0 mm con fase estacionaria constituida por un copolímero de etilvinilbenceno-divinilbenceno. Mantener el inyector, la columna y el detector a 250, 170 y 250 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente. Se debe emplear helio como gas transportador y el

caudal debe ser aproximadamente 60 ml por minuto.

Solución del estándar interno A - Diluir 500 mg de alcohol *n*-propílico hasta 100,0 ml con agua.

Solución del estándar interno B - Diluir 10,0 ml de *Solución del estándar interno A* hasta 50,0 ml con agua.

Solución estándar - Diluir 10,0 g de acetonitrilo hasta 100,0 ml con agua. Transferir 3,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, agregar 10,0 ml de *Solución del estándar interno A* y completar a volumen con agua.

Solución muestra - Disolver 40 mg de Sulfato de Vindesina en 1,0 ml de *Solución del estándar interno B*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de acetonitrilo y alcohol *n*-propílico no debe ser menor de 1,5; el factor de asimetría para el pico de acetonitrilo no debe ser mayor de 1,6.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 3 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos: no debe contener más de 1,5 % p/p de acetonitrilo.

Pérdida por secado

Calentar 9,00 mg de Sulfato de Vindesina a 200 °C, a razón de 5 °C por minuto, bajo corriente de nitrógeno a un caudal de 40 ml por minuto. Proceder por *Análisis termogravimétrico (ATG)*, según se indica en 20. *Análisis térmico*. No debe perder más de 10,0 % de su peso.

VALORACIÓN

[NOTA: mantener las soluciones en un baño de hielo hasta el momento de su uso].

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 270 nm y una columna de 15 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol y solución de dietilamina al 1,5 %v/v, ajustada a pH 7,4 con ácido fosfórico (62:38). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 5,0 mg de Sulfato de Vindesina, transferir a un matraz aforado de 10 ml y disolver en agua.

Completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

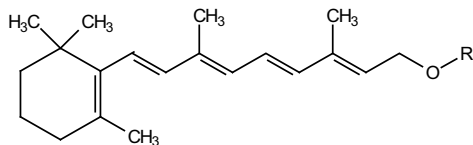
Preparación estándar A - Disolver y diluir una cantidad apropiada de Sulfato de Vindesina SR-FA con agua para obtener una solución de aproximadamente 0,50 mg por ml.

Preparación estándar B - Agregar 1,00 mg de Desacetilvinblastina SR-FA a 2,0 ml de *Solución estándar A*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar B* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de vindesina y desacetilvinblastina no debe ser menor de 1,5; el factor de asimetría para el pico de vindesina no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,5 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar A* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad en mg de C₄₃H₅₇N₅O₁₁S en la porción de Sulfato de Vindesina en ensayo.

VITAMINA A



R=H	C ₂₀ H ₃₀ O	PM: 286,5
R=CO-CH ₃	C ₂₂ H ₃₂ O ₂	PM: 328,5
R=CO-C ₂ H ₅	C ₂₃ H ₃₄ O ₂	PM: 342,5
R=CO-C ₁₅ H ₃₁	C ₃₆ H ₆₀ O ₂	PM: 524,9

Sinonimia - Palmitato de Retinol.

Definición - La Vitamina A refiere a un número de sustancias de estructura muy similar (incluyendo los isómeros (*Z*), que se encuentran en tejidos animales y que poseen actividad semejante). La sustancia principal y biológicamente más activa es aquella que posee todos sus enlaces en posición (*E*): todo-(*E*)-3,7-dimetil-9-(2,6,6-trimetilciclohex-1-enil)nona-2,4,6,8-tetra-en-1-ol (C₂₀H₃₀O). La vitamina A se emplea en forma de ésteres tales como acetato, propionato y palmitato. La expresión *éster de retinol sintético* se refiere a un éster de retinol sintético (acetato, propionato o palmitato) o una mezcla de ésteres de retinol sintético.

La actividad de la Vitamina A se debe expresar en equivalentes de retinol (ER). 1 mg de ER corresponde a la actividad de 1 mg de todo-(*E*)-retinol. La actividad de los otros ésteres de retinol se calcula estequiométricamente, de modo que 1 mg de ER de Vitamina A equivale a la actividad de:

- 1,147 mg de acetato de todo-(*E*)-retinol,
- 1,195 mg de propionato de todo-(*E*)-retinol,
- 1,832 mg de palmitato de todo-(*E*)-retinol.

Se emplean también las Unidades Internacionales (UI) para expresar la actividad de la Vitamina A. 1 UI de Vitamina A equivale a la actividad de 0,300 µg de todo-(*E*)-retinol. La actividad de los otros ésteres de retinol se calcula estequiométricamente, de modo que 1 UI de Vitamina A equivale a la actividad de:

- 0,344 µg de acetato de todo-(*E*)-retinol,
- 0,359 µg de propionato de todo-(*E*)-retinol,
- 0,550 µg de palmitato de todo-(*E*)-retinol,
- 1 mg de equivalente de retinol corresponde a 3333 UI.

Caracteres generales - El acetato de retinol se presenta como cristales de color amarillo pálido, con un punto de fusión de aproximadamente 60 °C. Cuando funde, el acetato de retinol, tiende a formar una masa sobreenfriada.

El propionato de retinol se presenta como un líquido oleoso pardo rojizo.

El palmitato de retinol es un sólido lipóideo amarillo claro, o si se funde, un líquido oleoso amarillo, con un punto de fusión de aproximadamente 26 °C.

Todos los ésteres de retinol son solubles o parcialmente solubles en etanol, miscibles con solventes orgánicos y prácticamente insolubles en agua. La Vitamina A y sus ésteres son muy sensibles a la acción del aire, luz, calor y los agentes oxidantes y ácidos.

Sustancia de referencia - Ésteres de retinol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

[NOTA: efectuar la valoración y todos los ensayos tan rápidamente como sea posible, evitando la exposición a la luz actínica y al aire, a los agentes oxidantes, a los catalizadores de oxidación, como por ej., cobre, hierro), a los ácidos y al calor.

Identificación

Aplicar la siguiente técnica cromatográfica:

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Ciclohexano y éter (80:20).

Solución estándar - Preparar una solución de aproximadamente 0,01 mg de Ésteres de retinol SR-FA por µl (3,3 UI de cada éster por µl) en ciclohexano. Estabilizar con una solución de butilhidroxitolueno al 0,1 %.

Solución muestra - Preparar una solución de aproximadamente 3,3 UI de Vitamina A por µl en ciclohexano. Estabilizar con una solución de butilhidroxitolueno al 0,1 %.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 3 µl de *Solución muestra* y 3 µl de *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar* debe presentar las manchas individuales de los ésteres correspondientes. El orden de migración debe ser: acetato, propionato y palmitato de retinol. La composición de la *Solución muestra* se debe confirmar por la correspondencia de la o las manchas principales obtenidas a partir de la *Solución estándar*.

Límite de retinol

Fase estacionaria y Fase móvil - Proceder según se indica en *Identificación*.

Solución muestra - Preparar una solución de aproximadamente 330 UI de Vitamina A por μl en ciclohexano. Estabilizar con una solución de butilhidroxitolueno al 0,1 %.

Solución estándar - Agitar 1 ml de la *Solución muestra* con 20 ml de solución de hidróxido de tetrabutilamonio 0,1 M en alcohol isopropílico, durante 2 minutos y diluir a 100 ml con ciclohexano. Estabilizar con una solución de butilhidroxitolueno al 0,1 %.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 3 μl de *Solución muestra* y 3 μl de *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: a excepción de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ninguna mancha debe ser más intensa que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar* (1 %). [NOTA: en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar* se debe observar sólo trazas o no se debe observar ninguna mancha correspondiente al éster de retinol.]

Sustancias relacionadas

Determinar el máximo de absorción de la solución empleada en el ensayo *Actividad* (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*). La solución debe presentar un máximo de absorción entre 325 y 327 nm. Medir las absorbancias A_λ a 300, 350 y 370 nm y calcular la relación A_λ/A_{326} para cada longitud de onda: ninguna de las relaciones A_λ/A_{326} debe ser mayor de:

0,593 a 300 nm.

0,537 a 350 nm,

0,142 a 370 nm.

ACTIVIDAD

Examinar por espectrofotometría de absorción ultravioleta (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*). Pesar exactamente entre 25 y 100 mg de Vitamina A, disolver en 5 ml de pentano y diluir con alcohol isopropílico hasta una concentración de 10 a 15 UI por ml. Determinar la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 326 nm. Calcular la actividad de la Vitamina A en Unidades Internacionales por g por la fórmula siguiente:

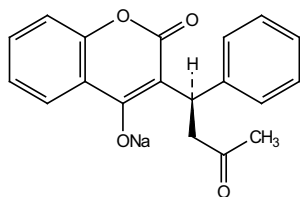
$$\frac{A_{326}V1.900}{100P}$$

en la cual A_{326} es la absorbancia a 326 nm, P es el peso de Vitamina A en g, V es el volumen total al que ha sido diluida la Vitamina A para dar una concentración de 10 a 15 UI por ml y 1.900 es el factor de conversión de la absorbancia específica de los ésteres de retinol en Unidades Internacionales por g.

ROTULADO

En el rótulo se debe indicar el número de Unidades Internacionales por g y el nombre del éster o ésteres.

WARFARINA SÓDICA



C₁₉H₁₅NaO₄

PM: 330,3

129-06-6

Definición - Warfarina Sódica es Sal sódica de 4-hidroxi-3-(3-oxo-1-fenilbutil)-2H-1-benzopirano-2-ona. Es un sólido amorfo o un clatrato cristalino. El clatrato puede presentarse principalmente como warfarina sódica y alcohol isopropílico, en una relación 2:1; este debe contener no menos de 8,0 por ciento y no más de 8,5 por ciento de alcohol isopropílico y debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de C₁₉H₁₅NaO₄, calculado sobre la sustancia anhidra y libre de solvente, y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo amorfo o cristalino blanco. Se decolora en presencia de luz. Muy soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol; muy poco soluble en cloroformo y éter.

Sustancias de referencia - Warfarina SR-FA. Impureza A de Warfarina SR-FA: 3-(*o*-hidroxifenil)-5-fenil-2-ciclohexen-1-ona.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. Emplear como muestra, el residuo de warfarina obtenido en el ensayo de *Identificación B*.

B - Disolver aproximadamente 100 mg de Warfarina Sódica en 25 ml de agua y ajustar con ácido clorhídrico hasta un pH menor a 3. Agitar la mezcla y dejar que coagule el precipitado. Filtrar la mezcla, lavar el precipitado con cuatro porciones de 5 ml de agua y secar al vacío sobre pentóxido de fósforo durante 4 horas: el residuo así obtenido debe fundir entre 157 y 167 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 4 °C.

C - Una solución de Warfarina Sódica debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>. El filtrado obtenido en el ensayo de *Identificación B* debe responder al ensayo a la llama para *Sodio* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 7,2 y 8,3, determinado sobre una solución 1 en 100.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 4,5 % para la forma amorfa y no más de 0,3 % para el clatrato cristalino.

Límite de metales pesados <590>

Disolver 4,0 g de Warfarina Sódica en 45 ml de agua, agregar 5 ml de ácido acético glacial y agitar hasta que se forme un precipitado. Filtrar y emplear 25 ml del filtrado, ajustando el pH con ácido acético glacial, si fuera necesario: no más de 0,001 %.

Absorbancia de la solución alcalina

Pesar exactamente alrededor de 1,25 g de Warfarina Sódica y disolver en 10 ml de una solución de hidróxido de sodio 1 en 20. Filtrar a través de una membrana filtrante y dentro de los 15 minutos siguientes, determinar la absorbancia de la solución, en una celda de 1 cm, a 385 nm con un espectrofotómetro, empleando solución de hidróxido de sodio 1 en 20 como blanco. La absorbancia de la solución no debe ser mayor de 0,1.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 260 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por grupos nitrilo químicamente unidos a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, acetonitrilo y ácido acético glacial (68:32:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Agua y metanol (75:25).

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 24 mg de Warfarina SR-FA y 24 mg de Impureza A de Warfarina SR-FA y transferir a un matraz aforado de 200 ml. Agregar 4,0 ml de hidróxido de sodio 0,1 N, 50 ml de metanol y disolver. Completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Transferir 20,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 80 mg de Warfarina Sódica, transferir a un matraz aforado de 100 ml y disolver en *Diluyente*. Completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las

respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución R entre los picos de warfarina e impureza A de warfarina no debe ser menor de 3; los tiempos de retención relativos para warfarina y para impureza A de warfarina deben ser 1,0 y 1,2, respectivamente; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 5,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Warfarina Sódica en ensayo, relacionando la respuesta de cada impureza individual con la respuesta del pico de warfarina obtenido con la *Solución estándar*. No debe contener más de 0,3 % de cualquier impureza individual y no más de 1,0 % de impurezas totales.

Contenido de alcohol isopropílico (para el clatrato cristalino)

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de 1,8 m \times 4 mm con un soporte constituido por un copolímero de estireno-divinilbenceno con un área superficial nominal no menor de 50 m² por g y un diámetro de poro promedio de 0,3 a 0,4 μ m, de malla N° 80 a 100. Mantener la columna, el inyector y el detector a 140, 200 y 250 °C, respectivamente. Emplear nitrógeno como gas transportador, el caudal debe ser aproximadamente 40 ml por minuto.

Solución del estándar interno - Transferir 2 ml de alcohol *n*-propílico a un matraz aforado de 100,0 ml y completar a volumen con agua.

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 1,6 g de alcohol isopropílico, transferir a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, agregar 10,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con agua y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 1,6 mg de alcohol isopropílico por ml.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 1,85 g de Warfarina Sódica, transferir a un matraz aforado de 100 ml y disolver en aproximadamente 50 ml de agua. Agregar 10,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con agua y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - [NOTA: la temperatura de la columna puede variar para que se cumplan los siguientes parámetros]. Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las

respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución R entre los picos de alcohol *n*-propílico y alcohol isopropílico no debe ser menor de 2,0; el factor de asimetría para el pico de alcohol isopropílico no debe ser mayor de 1,5; la desviación estándar relativa del cociente entre las respuestas de los picos de alcohol isopropílico y de alcohol *n*-propílico no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 5 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el porcentaje de alcohol isopropílico en la porción de Warfarina Sódica en ensayo, relacionando las respuestas del pico de alcohol isopropílico y del estándar interno, obtenidas a partir de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método I.

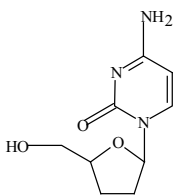
VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Warfarina Sódica, disolver en hidróxido de sodio 0,01 M y diluir hasta 100 ml con el mismo solvente. Diluir 10,0 ml de esta solución a 100 ml con hidróxido de sodio 0,01 M. Diluir 10,0 ml de esta solución a 100 ml con hidróxido de sodio 0,01 M. Medir la absorbancia de esta solución a 308 nm. Calcular el contenido en C₁₉H₁₅NaO₄, empleando como coeficiente de extinción específica E (1 %, 1 cm) un valor de 431.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si la Warfarina Sódica es amorfa o cristalina.

ZALCITABINA



$C_9H_{13}N_3O_3$ PM: 211,2 7481-89-2

Definición - Zalcitabina es 2',3'-Dideoxicitidina. Debe contener no menos de 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_9H_{13}N_3O_3$, calculado sobre la anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Soluble en agua y metanol; moderadamente soluble en acetonitrilo, alcohol, cloroformo y cloruro de metileno; poco soluble en ciclohexano.

Sustancias de referencia - Zalcitabina SR-FA. Impureza A de Zalcitabina SR-FA: 2',3'-Didehidro-2',3'-dideoxicitidina.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Precaución - Manipular la Zalcitabina con sumo cuidado, evitando su inhalación y el contacto con la piel.

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. En fase sólida.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Preparación estándar*.

C - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Emplear la fase inferior transparente de una mezcla de alcohol, diclorometano y agua (3:2:2).

Diluyente - Metanol y agua (1:1).

Solución estándar - Preparar una solución de Zalcitabina SR-FA en *Diluyente* de aproximadamente 50 mg por ml.

Solución muestra - Preparar una solución de Zalcitabina en *Diluyente* de aproximadamente 50 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución estándar* y 10 μ l de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Solución estándar*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre +73° y +77°.

Solución muestra: 7 mg por ml, en agua.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,3%.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,1 %.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico, Solución reguladora de fosfato, Fase móvil, Diluyente, Solución de resolución y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Emplear la *Preparación estándar*.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra*.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 20 μ l de la *Solución muestra*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza individual en la porción de Zalcitabina en ensayo, en relación a la suma de las repuestas de todos los picos. No debe contener más de 0,3 % de ninguna impureza individual y la suma de todas las impurezas no debe ser mayor de 2,0 %.

Límite de metales pesados <590>

Método II. No más de 0,002 %.

Impurezas comunes <510>

Solución muestra: 50 mg por ml en una mezcla de metanol y agua (1:1).

Solución estándar: emplear una mezcla de metanol y agua (1:1) como solvente.

Fase móvil: Emplear la fase inferior transparente de una mezcla de alcohol, diclorometano y agua (3:2:2).

Revelador: 1.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 270 nm y una columna de 15 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución reguladora de fosfato - Transferir 3,4 g de fosfato monobásico de potasio y 4,4 g de fosfato dibásico de potasio a un recipiente apropiado. Disolver y diluir a un litro con agua y ajustar a pH $6,80 \pm 0,05$, si fuera necesario, con una solución de hidróxido de potasio 1 en 10 o con ácido fosfórico diluido. Completar a volumen con agua y mezclar.

Fase móvil - *Solución reguladora de fosfato* y acetonitrilo (97:3). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Acetonitrilo y agua (3 en 100).

Solución de resolución - Disolver cantidades apropiadas de Zalcitabina SR-FA e Impureza A de Zalcitabina SR-FA en *Diluyente* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 0,024 mg de cada una por ml.

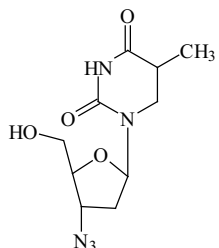
Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Zalcitabina SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Zalcitabina, transferir a un matraz aforado de 200 ml, disolver en *Diluyente*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de zalcitabina e impureza A de zalcitabina no debe ser menor de 2,0. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría para el pico de zalcitabina no debe ser mayor de 1,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₉H₁₃N₃O₃ en la porción de Zalcitabina en ensayo.

ZIDOVUDINA



$C_{10}H_{13}N_5O_4$

PM: 267,2

30516-87-1

Sinonimia - AZT.

Definición - Zidovudina es 3'-Azido-3'-deoxitimidina. Debe contener no menos de 97,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de $C_{10}H_{13}N_5O_4$, calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco a amarillento. Funde aproximadamente a 124 °C. Soluble en alcohol; moderadamente soluble en agua.

Presenta polimorfismo.

Sustancias de referencia - Zidovudina SR-FA. Impureza A de Zidovudina SR-FA: 3'-cloro-3'-desoxitimidina. Impureza B de Zidovudina SR-FA: timina.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre + 60,5° y + 63°.

Solución muestra: 10 mg por ml, en alcohol.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 1,0 %.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 0,25 %.

Pureza cromatográfica

ENSAYO A

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo y metanol (9:1).

Solución estándar A - Transferir 50 µl de la *Solución muestra* a un matraz aforado de 10ml y completar a volumen con metanol (0,5 %).

Solución estándar B - Transferir 30 µl de la *Solución muestra* a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con metanol (0,3 %).

Solución estándar C - Transferir 10 µl de la *Solución muestra* a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con metanol (0,1 %).

Solución I de trifenilmetanol - Disolver una cantidad exactamente pesada de trifenilmetanol en metanol para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml (0,5 %).

Solución II de trifenilmetanol - Transferir 15 µl de la *Solución I* a un matraz aforado de 25 ml y completar con metanol (0,3 %).

Solución III de trifenilmetanol - Transferir 4 µl de la *Solución I* a un matraz aforado de 20 ml y completar con metanol (0,1 %).

Solución muestra - Disolver una cantidad exactamente pesada de Zidovudina en metanol para obtener una solución de aproximadamente 20 mg por ml.

Revelador - Emplear una mezcla de 0,5 g de carbazol en 95 ml de alcohol y 5 ml de ácido sulfúrico.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 20 µl de la *Solución muestra* y 20 µl de cada una de las *Soluciones estándar A, B y C* y de las *Soluciones I, II y III de trifenilmetanol*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: comparar las intensidades de cualquier mancha secundaria observada en el cromatograma de la *Solución muestra* con las intensidades de las manchas principales en los cromatogramas obtenidos con las *Soluciones estándar*. Ninguna mancha secundaria en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser mayor en tamaño e intensidad que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A* (0,5 %) y la suma de las intensidades de todas las manchas secundarias en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor de 3,0 %. Pulverizar la placa con *Revelador*, calentar durante 10 minutos a 120 °C. Comparar las intensidades de cualquier otra mancha secundaria observada en el cromatograma de la *Solución muestra* con las intensidades de las manchas principales en los cromatogramas obtenidos con las *Soluciones estándar* y la mancha correspondiente a trifenilmetanol (con un R_f de

aproximadamente 2,3 relativo al R_f de Zidovudina) con las *Soluciones de trifenilmetanol*. Ninguna mancha correspondiente a trifenilmetanol en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser más intensa que la mancha obtenida en el cromatograma de la *Solución I de trifenilmetanol* (0,5 %), ninguna mancha secundaria (exceptuando a la de trifenilmetanol) en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser mayor en tamaño e intensidad que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A* (0,5 %) y la suma de las intensidades de las manchas secundarias en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor de 3,0 %.

ENSAYO B

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución madre del estándar, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* obtenida según se indica en *Valoración*.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración*. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de Zidovudina en ensayo, en relación a la suma de las respuestas de todos los picos. No debe contener más de 1,0 % de Impureza A de Zidovudina y no más de 2,0 % de Impureza B de Zidovudina y la suma de todas las impurezas del *Ensayo A* y el *Ensayo B* no debe ser mayor de 3,0 %.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Método III.

Solvente: dimetilsulfóxido.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 265 nm y una columna de 25 cm × 4,0 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro y un guardacolumna de 1,5 cm × 3,2 mm con la misma fase estacionaria. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua y metanol (80:20). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Zidovudina SR-FA en metanol y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con metanol para obtener una solución con una concentración de aproximadamente 1,0 mg por ml.

Solución madre de Impureza A de Zidovudina - Disolver una cantidad exactamente pesada de Impureza A de Zidovudina SR-FA en metanol y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con metanol para obtener una solución con una concentración de aproximadamente 0,1 mg por ml.

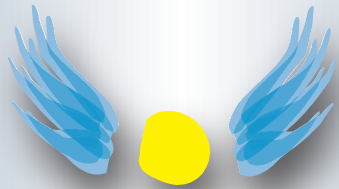
Solución madre de Impureza B de Zidovudina - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Impureza B de Zidovudina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 75 ml de metanol, sonicar durante 15 minutos, completar a volumen con metanol y mezclar.

Preparación estándar - Transferir 10,0 ml de *Solución madre del estándar*, 1,0 ml de *Solución madre de Impureza A de Zidovudina* y 1,0 ml de *Solución madre de Impureza B de Zidovudina* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Zidovudina, transferir a un matraz aforado de 100 ml y disolver con metanol. Completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,25 para impureza B de zidovudina, 1,0 para zidovudina, y 1,17 para impureza A de zidovudina; la resolución R entre los picos de zidovudina y de impureza A de zidovudina no debe ser menor de 1,4; el factor de asimetría no debe ser mayor de 1,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{10}H_{13}N_5O_4$ en la porción de Zidovudina en ensayo.



Farmacopea Argentina

VOLUMEN III



**FARMACOPEA
ARGENTINA**

SÉPTIMA EDICIÓN



Farmacopea Argentina

VOLUMEN
III

FARMACOPEA ARGENTINA

SÉPTIMA EDICIÓN



Ministerio de Salud de la Nación

Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos

ANMAT

Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

INAME

Instituto Nacional de Medicamentos

FARMACOPEA ARGENTINA

SÉPTIMA EDICIÓN

Presidente de la Nación

Dra. Cristina Fernández de Kirchner

Jefe de Gabinete de Ministros

Dr. Juan Manuel Abal Medina

Ministro de Salud de la Nación

Dr. Juan Luís Manzur

Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos

Dr. Gabriel Eduardo Yedlin

Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

Dr. Carlos A. Chiale

Instituto Nacional de Medicamentos

Farm. Rodolfo H. Mocchetto

**FARMACOPEA
ARGENTINA**

SÉPTIMA EDICIÓN

VOLUMEN
III

COMISIÓN PERMANENTE
FARMACOPEA ARGENTINA

Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina

PRESIDENTE: Dr. Carlos A. Chiale

DIRECTOR EJECUTIVO: Bioq. y Farm. Héctor Giuliani

SECRETARÍA TÉCNICA:

Farm. Melina I. Assalone

Farm. Melina A. Dal Mas

Farm. María Celeste De Angelis

VOCALES:

Dr. Sem M. Albónico

Dr. Daniel Allemandi

Dr. Arnaldo Luis Bandoni

Dr. Pablo Bazerque

Dra. Clyde Carducci

Dr. Mario A. Copello (†)

Dr. Miguel D´Aquino

Dr. Juan M. Dellacha

Dra. Graciela Ferraro

Dr. Teodoro S. Kaufman

Dra. Marcela Longhi

Dr. Eloy Mandrile (†)

Dr. Rubén Manzo

Dra. Eugenia Olivera

Dra. Cristina Ortiz

Dra. María Teresa Pizzorno

Dr. Edgardo Poskus

Dra. Maria Praturlon

Dr. Modesto Rubio

Dr. Norberto A. Terragno

Dra. María Guillermina Volonté

COMPOSICIÓN DE LAS SUBCOMISIONES TÉCNICAS DE LA FARMACOPEA ARGENTINA

Aguas y Soluciones Parenterales de Gran Volumen

Achilli, Estela; Bichman, Mario; Colombari, Daniel; Cravzov Alicia; Duda, Guillermo; Fiore, Esteban; Menéndez Viviana; Neder, Jorge; Nista, Liliana; Petracca, Antonia; Ploder, Peter; Silveti, Omar Alfredo; Szyszkowsky, Juiz Rubén; Vedoya, Gabriela Silvia.

Biodisponibilidad, Bioequivalencia y Equivalencia Farmacéutica

Bignone, Inés; Bolaños, Ricardo; Bramuglia, Guillermo; Abalos, Ivana; Debattista, Gabriela; De Leone, Héctor (†); Giarcovich, Silvia; Granero, Gladys; Niselman, Ada Viviana; Pano, Viviana; Pesce, Graciela; Pesce, Guido; Peretti Mariana; Rey, Andrea; Romañuk Carolina; Seoane, Martín; Sperandeo, Norma; Steeman, Gabriela; Torres, Adriana; Viñas, María Alicia.

Colorantes, Excipientes y Aditivos

Brunet, Noemí; Bustos, Mónica; Ciura, Juan M. Emilio; Corseti, Héctor; Dabbene, Viviana; Dobrecky, José; Ferrari, Jorge; Jacobi, Carlos; Rivas, Viviana; Rubio García, Rodolfo; Taschetti, Mabel; Trokán, Francisco; Vallese, María Cristina.

Controles Toxicológicos

Araldi, Héctor (†); Bindstein, Edith; Bulgach, Delia; Cereceto Marina, Fulginiti, Ana Susana; Gruñeiro, Elena; López, Clara; Pazos, Liliana; Pico, José Carlos; Quiroga, Pablo; Rodriguez Carolina, Rodriguez Yanina; Roses, Otmaro; Salseduc, Marta; Santiesteban, Raquel.

Estabilidad y Envases

Ariosti, Alejandro; Blanco, Mirta; Briñon, Margarita; Gorisknik, Adriana; Gruc, Olga; Alejandra; Mandrile, Alejandra; Nudelman, Norma; Pico, Guillermo; Pilatti, Carina; Riera, Mónica; Spinetto, Marta; Sandrone, Ariel; Sánchez, Eduardo; Tamasi, Diego.

Farmacia Hospitalaria

Bernal Castro, Federico; Bernavei, Alicia; Buontempo, Fabian; Elías, Mónica; Fernandez, María Cristina; Drunday, Fabian; Fernández, Fillinger, Ester, María Laura; García, Angélica;

Hermida, Miguel; Iglesias, Fabiana; Lagomarsino, Eduardo; Mato, Gabriel; Melero, Marcia; Menéndez, Ana María; Montemerlo, Hugo; Pita Martin de Portela, María Luz; Raviolo, Rodolfo; Rodríguez, Luis A.; Slobodianik de Gurevich, Haydeé; Soifer, Graciela.

Farmacia Oficial

Alvárez, Jorgelina; Andiñach, Guido; Callegari, Fernando; Ferrero, Horacio; Fitanovich, Nora; Fridman, Gerardo; Garcia, Roberto; Gatica, Karina; Gomez, Juan; Gonzalez, Ana María; Julián, Silvia; Kleinlein, Patricia; López de Souza, María del Carmen; Lopez, Guillermo; Maino, Héctor; Mollardo, María Teresa; Mendez, Raquel; Moreno, Patricia; Nadal, Ana María; Paura, Andrea; Perez González, Rocio; Policelli, Gabriela; Quijano, Rubén Darío; Quiroga, Eduardo; Rencoret, María Mercedes; Ruggieri, José; Salas, Vivian; Tokumoto, Fernanda; Torres, Hugo; Uema, Sonia; Valverde, Javier.

Gases Medicinales

Arcos, Marcelo; Bernaus, Carlos; Cordera, Mónica; Elgadbán, Javier; Fischer, Alfredo; Marceca, Ernesto; Mildenberger, Maria Amalia; Sturtz Nelson; Testa, Graciela; Tourville, Antonio; Zavala, Estela.

Ingredientes Farmacéuticos Activos y Productos Terminados

Abelaira, Sara; Acevedo, Maria Eugenia; Alarcon, Gabriela; Alassia de Torres, Liliana; Avancini Noceti, Constanza; Barredo, Silvia; Barros, Carmen; Bava, Adriana; Berndt, Sandra; Bianchi, Dario; Bianchini, Romina; Blanc, José; Boggian, Dora; Brandolini, Andres; Bruno, Claudia; Cancio, Julieta; Capellino, Víctor; Castellano, Patricia; Centrone, Claudio; Constanza; Ceresole, Rita; Chiarelli, Silvia; Circón de Vidal, Noemí; Calandri, Daniela; Carro, Vanesa; Castaña, Eduardo; Cereijo, María Inés (†); Chiamonte, Eduardo; Chiarelli, Silvia; Ciccio, Enrique; Diez, María Ester; Dominguez, Silvia; Ercolano, Irma; Fariña, Mirta; Faroppa, María; Fasanella, Marta; Fernández Otero, Germán; Ferrari, Maria; Gabor, Juliana; Garcia, Marcela; Garnero, Claudia; Giornelli, Gabriela; Gonzalez Cecilia; González, Soledad; Gonzalez

Vidal, Noelia; Greco, Olga; Herr, Victoria; Hoyos de Rossi, María; Irurtia, Lucila; Jimenez Kairuz, Alvaro; Lamas, María Celina; Larrinaga, Alicia; Larghi Enrique; Luque, Graciela; Laba, Raul; Lavaselli, Susana; Lloret, M. Antonia; Lopez, Marcelo; Lucangioli, Silvia; Luna, Julio; Lynch, Josefina; Maggio, Rubén; Manghi, Marcela; Marinero, Bautista; Martinez, Juan L.; Meneghini, Alejandro; Milazzo, Cecilia; Montes de Oca, Federico; Nacucchio, Marcelo; Ortega, Claudia; Palacios, Marcelo Luis; Palacios de Ortiz, Sara; Perez, Vanina; Pinet, Ana María; Piñeyro, Luisa; Ponce, Claudia; Porta, Raúl; Pozzo, María del Carmen; Prado, Hector; Quatrocchi, Oscar; Quijano, Ruben; Quiroga, Gladys; Raviolo, Mónica; Rivas, Raúl; Robles, Juan; Ricchiuti, Andrea; Roberto, Mónica; Rosasco, María Ana; Saavedra, Abel; Saint Martin, Eduardo; Sakson, Mario; Salomon, Claudio; Sanpedro, Pura; Safierowicz, Rosa; Scala, Mariela; Sedeño, Cristina; Segall, Adriana; Serrao, Rosa; Simionato, Laura; Soto, Pablo; Sproviero, Jorge; Suarez, Marcelo; Szeliga, María; Tombari, Dora; Valente, Gladys; Vazquez, Ana; Vega, Julio César; Varela López, Ramón; Vessuri, María; Vidal, Noelia; Yapur, Gustavo; Zan, Mercedes; Zinni, Elvira; Zoppi, Ariana; Zubata, Patricia.

Medicamentos Herbarios

Agnese, Alicia; Amat, Aníbal; Bucciarelli, Alejandro; Cabrera, José Luis; Chico, Sandra; Debenedetti, Silvia; Del Vitto, Luis Angel; Flores, María Luján; Gattuso, Martha; Gattuso, Susana; Gurni, Alberto; Lopez, Paula; Nadinic, Elena; Padula, Laura Z.; Petenatti, Elisa; Rizzo, Inés; Rondina, Rubén; Schvarzberg, Nora; Skliar, Mario; Spagazzini, Etile; Wagner, Marcelo; Wilson, Erica; Zeichen, Rita.

Microbiología

Albesa de Eraso, Inés; Arakaki, Regina; Balanian, Silvia Gladys; Belixán, Norma; Calvete, Javier; Cerra, Hector; Frade, Horacio; Franco, Mirta; Garcia, Carolina; Giraudo, Federico; Gutkin, Gabriel; Lagomarsino, Monica; Magariños María del Carmen, Pietrasanta, Beatriz; Raffo Palma, Martha; Salazar, Germán; Sordelli, Daniel; Stagnaro, Stella Maris; Telli, Herminia; Teves, Sergio; Torno, Graciela; Vivas, Ariel.

Productos Biológicos y Biotecnológicos

Albertengo, María Elisa (†); Aprea, Patricia; Barravecchia de Dehó, Martha; Brero, María Luisa; Caminos, Andrea; Copello, Cecilia; Dabsys,

Susana; Dokmetjian, José; Drucaroff, María Alejandra; Cascone; Corley, Esteban; Criscuolo, Marcelo; Esnaola, María Margarita; Fraga, Griselda; Francinelli, Luisa; García, Salvador; García Franco, Susana; Giampaolo, Beatriz; Gorzalczany, Susana; Goyogana, Francisco; Iglesias, Sergio; Mammarella, Carlos; Mondelo, Nélide; Nisenbaum, Isaac; Oliva, Liliana; Ostrowski, Héctor; Pardo, Verónica; Perez, Analia (†); Pombo, María Luz; Rodríguez, María Eugenia; Rossi, Marina; Seigelchifer, Mauricio; Sobrero, Cecilia; Yantorno, Osvaldo. Zarzur, Jorge.

Productos Médicos

Benitez, Sergio; Carbone, Nora; Costanzo, Ricardo; De Rose, María; Gago, Daniel; Gonzalez, María Celeste; Graña, Nora; Graziano, María Del Carmen; Herrera, Fanny; Iervasi, Liliana; Metz, Rita; Mosconi, Andrea; Peralta, Laura; Saba, Fernando; Sager de Agostini, Helga; Sialino, Rodolfo; Staravijosky, Alejandra; Tarletta, Patricia; Olivera de O'Connell, Lucía.

Radiofármacos

Aletti, Sabrina; Baigorria, Sergio; Bergoc, Rosa; Boccio, José; Cañelas, Carlos; Caro, Ricardo; Duran, Adrián; Fraga de Suarez, Amanda; Furnari, Juan Carlos; Nicolini, Jorge; Ruty Solá, Gisela; Samson, José Cembal; Zubillaga, Marcela.

Secretaría Técnica

Assalone, Melina Isabel; Dal Mas, Melina Andrea; De Angelis, María Celeste.

Revisores Técnicos

Compagnucci, María Eugenia; Gear, Jorgelina; Martinez, Andrea Verónica; Martinez, Valeria Soledad.

Agradecimientos

Silvia Boni, Patricia Zubata, Silvia Lavaselli, Soledad Risso Patrón y Giovanna Sibay Nughes por su colaboración en el capítulo 1050. *Formas Farmacéuticas*.

Ana María Chan y María José Arrechea por su colaboración en el capítulo 345. *Ensayo de Salmonella/fracción microsomal (Test de Ames) para detección de mutagenicidad*.

A los Laboratorios que colaboraron en la presente Edición.

NUEVAS CONSIDERACIONES GENERALES

NUEVAS CONSIDERACIONES GENERALES

La Farmacopea es el texto oficial que codifica los principios activos, excipientes y productos farmacéuticos y contiene las especificaciones que éstos deben cumplir para demostrar su calidad y resguardar la salud de la población.

Generalidades

Estas consideraciones generales se aplicarán a las monografías, capítulos generales u otros textos incluidos en esta Farmacopea.

La expresión “*Oficial*” significa “*de la Farmacopea Argentina*” y se refiere a cualquier título, sustancia, preparación o ensayo incluido en las monografías y capítulos.

Las iniciales *FA*, acompañando al nombre oficial en el rótulo de un producto, indica que el mismo cumple con las especificaciones de la Farmacopea Argentina, aunque esto no constituye una certificación por parte de la misma.

El uso del título de una monografía supone que la sustancia, preparación o producto así designado se ajusta a las especificaciones de la monografía correspondiente. Tales referencias en los textos de la Farmacopea se indican mediante el título de la monografía en letra cursiva.

Tanto las monografías como los capítulos generales pueden contener excepciones a estas Consideraciones Generales, las mismas serán señaladas explícitamente, al igual que el procedimiento a seguir en cada caso. Para destacar la existencia de excepciones, se agregará la expresión: “*A menos que se especifique de otro modo*”. Asimismo, en caso de ausencia de una excepción explícita, las expresiones deberán interpretarse como se indica en este documento.

Los ensayos y valoraciones descriptos son los métodos oficiales sobre los cuales se fundamentan las especificaciones de la Farmacopea.

Para evitar repetir instrucciones comunes a un ensayo determinado, en las monografías, se establecen los requisitos en forma abreviada, indicando el nombre del capítulo correspondiente con un número de orden asignado entre los símbolos <y>, como por ej. <100>. *Cromatografía*, que luego es apropiadamente desarrollado en la sección *Métodos Generales de Análisis*.

Todas las declaraciones contenidas en las monografías, con las excepciones dadas más adelante, constituyen normas para las sustancias oficiales. Una sustancia es de calidad Farmacopea

Argentina cuando cumple con todos los requisitos establecidos en la monografía respectiva.

Los ensayos elegidos se han ideado para detectar o determinar las impurezas más significativas y para fijar el contenido límite de aquellas.

Definiciones

Medicamento: toda preparación o producto farmacéutico empleado para la prevención, diagnóstico y/o tratamiento de una enfermedad o estado patológico, o para modificar sistemas fisiológicos en beneficio de la persona a quien se le administra.

Principio activo o droga farmacéutica: toda sustancia química o mezcla de sustancias relacionadas, de origen natural o sintético, que poseyendo un efecto farmacológico específico, se emplea en medicina humana.

Especialidad medicinal o farmacéutica: todo medicamento, designado por un nombre convencional, sea o no una marca de fábrica o comercial, o por el nombre genérico que corresponda a su composición y contenido, preparado y envasado uniformemente para su distribución y expendio, de composición cuantitativa definida declarada y verificable, de forma farmacéutica estable y acción terapéutica comprobable.

Nombre genérico: denominación de un principio activo o droga farmacéutica o, cuando corresponda, de una asociación o combinación de principios activos a dosis fijas, adoptada por la Autoridad Sanitaria Nacional o, en su defecto, la denominación común internacional de un principio activo recomendada por la Organización Mundial de la Salud.

Excipiente: es toda sustancia de origen natural o sintética presente en una preparación farmacéutica incorporada sin propósito terapéutico.

Producto farmacéutico: es un preparado que contiene uno o varios principios activos y excipientes, formulados bajo una determinada forma farmacéutica. Suele emplearse “preparación farmacéutica” como sinónimo de “producto farmacéutico”, para referirse tanto al producto a granel como al producto terminado.

Forma Farmacéutica: Es el producto proveniente de la transformación de un principio activo o de una asociación de los mismos mediante procedimientos fármacotécnicos, a fin de conferirles características físicas y morfológicas particulares para su adecuada dosificación y

conservación, y que faciliten su administración y acción farmacológica.

Interpretación de los requisitos

Las normas farmacopeicas definen las características de un producto y establecen los ensayos que permiten demostrar que el mismo satisface los requisitos elementales de calidad, exigidos por la Autoridad Sanitaria.

Estas normas se aplican en cualquier momento de la vida útil del producto, desde la elaboración hasta su fecha de vencimiento.

No debe entenderse que el cumplimiento de las especificaciones establecidas en la monografía a muestras de un lote de producción asegure el cumplimiento de las normas farmacopeicas de todos los componentes del lote.

Los datos obtenidos a partir de estudios de validación del proceso de fabricación y de controles efectuados durante el proceso pueden dar mayores garantías del cumplimiento de los requisitos de una monografía en particular, que la información obtenida a partir del examen de un número determinado de unidades de ese lote.

Las tolerancias y límites expresados en las definiciones de las monografías son para compensar las variaciones inevitables durante la preparación del producto y el deterioro normal que se produce durante la vida útil del mismo.

Cuando se expresan límites en forma numérica, los límites superior e inferior de un intervalo incluyen esos dos valores y todos los valores intermedios.

Es recomendable para la liberación de lotes, establecer especificaciones más estrictas que las contempladas bajo el título *Definición*, a fin de que el contenido del producto se encuentre siempre dentro de los límites establecidos pese a la caída de título normal que puede ocurrir durante la vida útil del producto. Dichas especificaciones para la liberación deberían surgir a partir de los datos obtenidos durante el estudio de estabilidad del producto (ver 1040. *Estudios de estabilidad*).

Los límites expresados en las definiciones de las monografías y en las especificaciones de los ensayos, independientemente de que éstos estén expresados en porcentajes o valores absolutos, son valores significativos hasta el último dígito.

En los procedimientos volumétricos, se establece el peso de la sustancia analizada que equivale a cada mililitro del valorante estandarizado. En estos casos, se entiende que el número de cifras significativas en la concentración del valorante corresponde al número de cifras significativas en el peso de la sustancia analizada. Se deberán hacer las correcciones con respecto al

blanco para todas las valoraciones volumétricas según corresponda (ver 780. *Volumetría*).

Cuando el resultado deba calcularse con referencia a la *sustancia seca*, se hará uso de las condiciones de secado que se indiquen en el ensayo *Pérdida por secado* en la monografía. Cuando el resultado se calcule con referencia a la *sustancia anhidra*, el contenido de agua será determinado por el método descrito en la monografía bajo el subtítulo *Agua*.

Actualizaciones

Se considera una *actualización total* cuando todo el texto reemplaza al de la edición anterior; por ej., <590>. *Límite de metales pesados*, identificándose con un asterisco en el índice alfabético (*) y, en el título del texto actualizado, se encontrará la leyenda “*Actualización total*”. Se considera una *actualización parcial* cuando sólo una parte del texto ha sido modificada, identificándose con un asterisco en el índice alfabético (*) y, en el título del texto actualizado, se encontrará la leyenda “*Actualización parcial*”. En este último caso se encontrará subrayado el fragmento del texto que ha sido actualizado.

Expresión de concentraciones

Los porcentajes de concentración se expresan de la siguiente manera:

Porcentaje peso en peso (% p/p): expresa el número de gramos de un soluto en 100 g de solución o mezcla.

Porcentaje peso en volumen (% p/v): expresa el número de gramos de un soluto en 100 ml de solución, y se utiliza prescindiendo de que el diluyente en cuestión sea agua u otro líquido.

Porcentaje volumen en volumen (% v/v): expresa el número de mililitros de un soluto en 100 ml de solución.

La expresión *porcentaje* empleada sin otro calificativo significa: porcentaje peso en peso para mezclas de sólidos y semisólidos, porcentaje peso en volumen para soluciones o suspensiones de sólidos en líquidos, porcentaje volumen en volumen para soluciones de líquidos en líquidos y porcentaje peso en volumen para soluciones de gases en líquidos.

Sustancias de Referencia

Sustancia de Referencia Farmacopea Argentina [SR-FA] - Material de uniformidad comprobada, cuya monografía ha sido incluida en la *Farmacopea Argentina*, desarrollado a través de ensayos colaborativos avalados por esta Farmacopea y A.N.M.A.T – I.N.A.M.E, cuyo empleo se reserva a ensayos químicos y físicos específicos en los que se

comparan sus propiedades con las de un producto problema y que posee un grado de pureza adecuado para el uso al que se destina.

Cuando una *Sustancia de Referencia Farmacopea Argentina* no esté disponible, deberá emplearse aquella equivalente reconocida por esta Farmacopea.

Sustancias auxiliares

Se denomina *Sustancia auxiliar* a cualquier sustancia incorporada a las preparaciones oficiales, tales como colorantes, conservantes saborizantes. La misma deberá ser inocua o agregada en una proporción que garantice la inocuidad, no tener influencia adversa sobre la seguridad y eficacia terapéutica de los principios activos y no interferir en los ensayos y valoraciones.

Sustancia oficial es aquella que no contiene sustancias auxiliares agregadas salvo que se permita específicamente en la monografía correspondiente. En este caso, el rótulo deberá indicar los nombres y las cantidades de las sustancias auxiliares agregadas.

Colorantes: son sustancias auxiliares incorporadas a las preparaciones oficiales exclusivamente para dar color. Deberán satisfacer las especificaciones establecidas (ver 50. *Colorantes de uso farmacéutico*).

Conservantes: son sustancias auxiliares que se agregan a las preparaciones oficiales para protegerlas de la contaminación microbiana. La expresión “*conservante antimicrobiano apropiado*” implica que puede agregarse al preparado una sustancia auxiliar, siempre que cumplan con las especificaciones establecidas (ver 80. *Conservantes*).

Reactivos

La realización correcta de ensayos y valoraciones de esta Farmacopea, así como la obtención de resultados reproducibles y confiables, depende de la calidad de los reactivos empleados.

Todos los reactivos requeridos para los ensayos y valoraciones se definen en *Reactivos* y *Soluciones*.

Abreviaturas

La sigla *SR-FA* corresponde a *Sustancia de referencia de la FA*.

Las siglas (*SC*) y (*SR*) corresponden a *Solución Colorimétrica* y *Solución de Reactivo*, respectivamente indicadas en *Reactivos* y *Soluciones*.

La sigla (*SV*) corresponde a *Solución Volumétrica* e indica que tal solución está estandarizada de acuerdo con las instrucciones

dadas en la monografía respectiva o bajo el título *Soluciones volumétricas en Reactivos y Soluciones*.

La sigla (*SL*) corresponde a *Solución Límite* e indica que dicha solución es empleada para ensayos límite.

Agua

La expresión agua, empleada sin otra calificación significa *Agua purificada* y agua libre de dióxido de carbono, es *Agua purificada* que ha sido calentada a ebullición durante al menos 5 minutos y enfriada en forma tal de evitar la absorción de dióxido de carbono atmosférico.

Agua purificada estéril - Es el *Agua purificada* esterilizada. Se emplea en la preparación de formas farmacéuticas líquidas no parenterales en las que se requiera una forma estéril de *Agua purificada*.

Agua para inyectables - La fuente de agua es agua potable, previamente purificada y sometida a destilación u ósmosis reversa de doble paso. Debe cumplir con todos los requisitos de *Agua purificada* y además con los requisitos del ensayo de endotoxinas bacterianas (ver 330. *Ensayo de endotoxinas bacterianas*).

Agua estéril para inyectables - Es *Agua para inyectables* esterilizada. Se emplea principalmente como solvente de productos parenterales.

Agua bacteriostática para inyectables - Es *Agua estéril para inyectables* a la cual se le ha agregado uno o varios conservantes apropiados. Se utiliza como solvente de preparados parenterales. Puede envasarse en envases monodosis o multidosis de un tamaño no mayor a 30 ml.

Agua estéril para irrigación - Es *Agua para inyectables* esterilizada en envases monodosis de más de 1 litro destinados a una rápida descarga del contenido. No necesita cumplir con el ensayo 650. *Partículas en inyectables*.

Agua estéril para inhalación - Es *Agua para inyectables* envasada en envases monodosis no mayores a 20 ml y esterilizada. Se emplea en nebulizadores y en la preparación de soluciones para nebulizar.

Solución fisiológica

Cuando en las monografías o capítulos generales se indique *Solución fisiológica* emplear una solución de cloruro de sodio al 0,9 % en agua purificada.

Solución fisiológica estéril - Es una solución de cloruro de sodio al 0,9 % en agua para inyectables que cumple con los requisitos de 370. *Ensayo de Esterilidad*.

Solución fisiológica para nebulizar - Es una solución de cloruro de sodio al 0,90 % en agua purificada preparada sin el agregado de

conservantes, conservada en envases monodosis de hasta 20 ml, con ausencia de gérmenes revivificables en un mililitro y en cuyo rótulo se indica: “*Solución fisiológica para nebulizar. No inyectable*”.

MONOGRAFÍAS

Fórmula Química

Cuando se conoce la composición química de una sustancia oficial, se especifica a título informativo la fórmula molecular y desarrollada, el peso molecular y el número CAS (Chemical Abstracts Service). Esta información se refiere a la sustancia químicamente pura y no se considera un indicador de la pureza del material oficial.

Cuando se especifica la configuración estereoquímica absoluta, se emplean los sistemas de designación propuestos por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) *R/S* y *E/Z*.

El nombre químico será otorgado según las reglas propuestas por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC).

Caracteres Generales

Las afirmaciones comprendidas bajo el subtítulo *Caracteres generales* referidas a términos como

inodoro, prácticamente inodoro, con un débil olor característico o expresiones semejantes, se aplican al examen después de la exposición al aire durante 15 minutos de un envase recientemente abierto del producto (envases que contengan no más de 25 g) o de una porción de aproximadamente 25 g del producto (en caso de envases más grandes) que haya sido trasladada de su envase a un cristallizador, con una capacidad de aproximadamente 100 ml. Solo se hará mención a este tipo de características cuando la misma sea un elemento relevante en la descripción del principio activo.

Solubilidad

El término parcialmente soluble se emplea en el caso de una mezcla en la que sólo una parte de sus componentes se disuelve. El término miscible se emplea para describir un líquido que es miscible en todas las proporciones con el solvente indicado.

Las indicaciones de solubilidad que figuran bajo el epígrafe *Caracteres generales* se expresan en términos cuyo significado, referido a una temperatura entre 15 y 30 °C, es el siguiente:

<i>Término descriptivo</i>	<i>Volúmenes aproximados de solvente en mililitros por gramo de sustancia</i>
Muy soluble	Inferior a 1
Fácilmente soluble	De 1 a 10
Soluble	De 10 a 30
Moderadamente soluble	De 30 a 100
Poco soluble	De 100 a 1.000
Muy poco soluble	De 1.000 a 10.000
Prácticamente insoluble	Más de 10.000

Identificación

Los ensayos de la Farmacopea que figuran después del subtítulo *Identificación* no están destinados a proporcionar una confirmación completa de la estructura química o composición del producto; su objeto es confirmar que el producto se ajusta a la descripción dada en el rótulo del envase. Cuando un producto no satisface los requisitos de un ensayo de identificación descripto, indica que el mismo no cumple con las especificaciones. Otros ensayos o especificaciones en la monografía a menudo contribuyen a establecer o confirmar la identidad del producto ensayado.

A menos que se indique lo contrario en la monografía individual, todos los ensayos identificatorios son de carácter obligatorio y por ende, necesarios para demostrar que el producto cumple con la descripción dada en el rótulo.

Ensayos y valoraciones

Los ensayos y las valoraciones descriptas en esta Farmacopea constituyen los métodos oficiales de análisis. Se podrá emplear ensayos alternativos, previamente validados (ver 1130. Validación de métodos analíticos), si éstos demuestran otorgar ventajas desde el punto de vista de la exactitud, precisión, sensibilidad, selectividad o simplificar el procedimiento sin modificar los atributos anteriores. Sin embargo, en caso de indecisión o litigio, los ensayos descriptos en esta Farmacopea serán los definitivos.

La concentración de impurezas establecida en ciertos ensayos se expresa entre paréntesis como porcentaje o partes por millón (ppm). En el caso que corresponda, el cumplimiento de este ensayo

será necesario para establecer la conformidad de un producto. Cuando corresponda, deberán realizarse análisis complementarios según se indica más abajo en *Atributos adicionales*.

Los materiales volumétricos, pesas y balanzas deberán ajustarse a las especificaciones establecidas en los capítulos <620>. *Materiales volumétricos* y <690>. *Pesas y balanzas*.

Cuando en un ensayo o valoración se indique que se debe examinar una cierta cantidad de sustancia o un número exacto de unidades de dosificación, la cantidad especificada representa un número mínimo que se elige únicamente para facilitar la manipulación analítica. Esto de ninguna manera limita la cantidad total de material a emplear.

Procedimientos

En todos los ensayos descritos en esta Farmacopea, se deberá cumplir estrictamente con las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL).

La utilización de las siguientes expresiones se refieren a:

Blanco: cuando se indique que se deben hacer las correcciones necesarias por medio de una determinación con un control, tal determinación se hará empleando las mismas cantidades de los reactivos tratados de igual manera que la solución o mezcla que contiene la sustancia bajo valoración o ensayo, pero omitiendo dicha sustancia.

Baño de agua: cuando se indique el empleo de *baño de agua*, se empleará un baño de agua a ebullición salvo que se indique una temperatura distinta.

Baño de vapor: cuando se indique el empleo de *baño de vapor*, podrá emplearse la exposición al vapor vivo fluente u otra forma de calor regulado, a una temperatura equivalente a la del vapor fluente.

Cepas microbianas: cuando se cita una *cepa microbiana* y se la identifica por el número de catálogo ATCC (American Type Culture Collection) o de otra colección similar, la cepa específica se empleará directamente o, si se subcultiva, se emplearán no más de cinco pasajes a partir de la cepa original.

Comparación de color: cuando se indique una *comparación visual de color o de turbidez*, deberán emplearse tubos de comparación de fondo plano (tubos de Nessler) cuyas medidas internas se correspondan lo más estrechamente posible. Para la comparación del color, los tubos en posición vertical deberán ser observados longitudinalmente a lo largo del tubo con una fuente de luz difusa sobre un fondo blanco, mientras que para la comparación de turbidez deberán ser observados transversalmente, colocados sobre un fondo oscuro,

con ayuda de una fuente luminosa que los ilumine lateralmente.

Cuantitativamente y en etapas: cuando se indique que una solución debe ser diluida cuantitativamente y en etapas, una porción medida con exactitud será disuelta en agua u otro solvente en la proporción indicada en uno o más pasos. La elección del material volumétrico a emplearse deberá tener en cuenta los errores relativamente grandes que generalmente se asocian a materiales volumétricos de volumen pequeño (ver 620. *Materiales volumétricos*).

Densidad relativa: cuando no se indique lo contrario, la densidad relativa se calculará como la relación entre el peso de un volumen determinado de una sustancia en el aire a 25 °C y el peso de un volumen igual de agua a esa misma temperatura.

Desecador: la expresión *en un desecador* especifica el empleo de un recipiente perfectamente cerrado, de tamaño y forma apropiados, que mantenga una atmósfera de bajo contenido de humedad mediante gel de sílice u otro desecante apropiado.

Filtrar: cuando se indique filtrar, sin otra calificación, se entenderá que el líquido debe ser filtrado a través de papel de filtro apropiado o con un medio equivalente de modo que el filtrado sea claro.

Ignición hasta peso constante: significa que deberá continuarse la ignición a 800 ± 25 °C a menos que se indique de otro modo, hasta que dos pesadas consecutivas no difieran en más de 0,50 mg por gramo de sustancia ensayada, haciendo la segunda pesada después de un período de 15 minutos de ignición adicional.

Indicador: cuando una solución de reactivo se utilice como indicador, se agregarán aproximadamente 0,2 ml o 3 gotas de la solución, generalmente cerca del punto final, a menos que se indique de otro modo.

Medidas de presión: el término *mm Hg* empleado en referencia a mediciones de presión se refiere al uso de un manómetro apropiado o un barómetro calibrado en términos de la presión ejercida por una columna de mercurio de la altura indicada.

Pesar y medir exactamente: las expresiones *pesar exactamente alrededor de* o *medir exactamente alrededor de* indican que se debe tomar una cantidad dentro de 100 ± 10 % del peso o volumen especificado. Sin embargo, el peso o volumen que se tome deberá ser determinado con exactitud y el resultado calculado sobre la base de la cantidad que se haya tomado. Se pueden tomar cantidades proporcionalmente mayores o menores que los pesos y volúmenes especificados, tanto para

la *Sustancia de Referencia* como para la sustancia en ensayo, siempre que la medida se tome con exactitud y que se ajusten a los pasos siguientes, para proporcionar concentraciones equivalentes a las descriptas. Expresiones tales como *25,0 ml* y *25,0 mg* se emplean en relación a medidas de volumen o de peso e indican que la cantidad debe ser *medida o pesada exactamente* dentro de los límites establecidos en los capítulos <620>. *Materiales volumétricos* o <690>. *Pesas y balanzas*.

Pipetas: cuando se indique el uso de una pipeta para medir un volumen, aquélla deberá cumplir con los requisitos establecidos en el capítulo <620>. *Materiales volumétricos* y deberá emplearse de manera que el error no exceda el límite establecido para una pipeta del tamaño especificado. Cuando se especifica el empleo de una pipeta, ésta puede sustituirse por una bureta apropiada que cumpla con los requisitos especificados en <620>. *Materiales volumétricos*.

Secado hasta peso constante: significa que deberá continuarse el secado a menos que se indique de otro modo, hasta que dos pesadas consecutivas no difieran en más de 0,50 mg por gramo de sustancia ensayada, haciendo la segunda pesada después de una hora adicional de secado; según la metodología establecida en la monografía correspondiente.

Soluciones: la expresión *1 en 10* significa que 1 parte en volumen de un líquido debe diluirse con, o 1 parte *en peso* de un sólido debe disolverse en suficiente solvente para que el volumen de la solución final sea de 10 partes en *volumen*.

La expresión *10:6:1* significa que los números respectivos de partes, en volumen, de los líquidos señalados deberán mezclarse, a menos que se indique de otro modo.

La expresión partes por millón (ppm) sin otra precisión, se refiere a peso con respecto a un millón de partes en peso.

Solventes: cuando no se menciona explícitamente el solvente, se entiende que la muestra es disuelta en agua.

Temperaturas: todas las temperaturas en esta Farmacopea se expresan en grados centígrados (Celsius) y todas las mediciones se hacen a 25 °C, a menos que se especifique de otro modo.

Tiempo límite: al efectuar ensayos y valoraciones se aguardará 5 minutos para que se produzca la reacción, a menos que se especifique de otro modo.

Vacío: el término *al vacío* especifica la exposición a una presión menor de 20 mm Hg, a menos que se indique de otro modo. Cuando se especifique en la monografía correspondiente la

dsecación al vacío sobre un desecante, se deberá emplear un desecador al vacío, una pistola para desecar al vacío u otro instrumento apropiado para este fin.

ATRIBUTOS ADICIONALES

Además de cumplir los requisitos de los ensayos de Sustancias relacionadas, Pureza cromatográfica y Límite de impurezas, descriptos en las monografías correspondientes, el análisis de las materias primas deberá complementarse mediante la búsqueda de impurezas de síntesis y sustancias relacionadas según su origen.

MÉTODOS GENERALES DE ANÁLISIS

Cada capítulo general es designado por un número de orden seguido del nombre del mismo. Estos capítulos que incluyen los requerimientos generales para ensayos y valoraciones son numerados de 1 a 990 y los capítulos que forman los textos de información general son numerados a partir de 1000.

UNIDADES DE POTENCIA BIOLÓGICA

Para las sustancias que no puedan ser caracterizadas completamente por medios químicos o físicos, podrá ser necesario expresar la actividad en unidades de potencia biológica.

Las unidades de potencia biológica definidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) a través de Estándares Biológicos Internacionales y Preparaciones Biológicas de Referencia Internacionales son denominadas Unidades Internacionales (UI). Las unidades definidas en la *FA* son Unidades Internacionales y las monografías correspondientes se refieren a éstas.

Para los antibióticos cuya potencia se expresa en unidades, éstas son definidas por las correspondientes *Sustancias de referencia SR-FA*. Cada unidad es en general establecida, basada en la definición de la Unidad Internacional de la OMS. Sin embargo, para la mayoría de los antibióticos no son necesarias las unidades biológicas de potencia y su actividad se expresa en unidades métricas (microgramos o miligramos) en función de sustancias químicamente definidas descriptas en las monografías correspondientes.

ELABORACIÓN DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS

La elaboración de productos farmacéuticos deberá realizarse cumpliendo con la normativa

vigente de Buenas prácticas de fabricación, establecidas por la Autoridad Sanitaria y el producto resultante deberá cumplir con los requisitos técnicos establecidos en esta Farmacopea.

CONSERVACIÓN

Envases

Los requisitos farmacopeicos para el empleo de envases se especifican en las monografías correspondientes.

El empleo de las siguientes expresiones descriptas en esta Farmacopea se refieren a:

Envase con cierre inviolable: es aquél provisto de un dispositivo especial que revela inequívocamente si ha sido abierto.

Envase inactivo: es aquél que protege el contenido de los efectos de la luz, gracias a las propiedades específicas de los materiales con que está compuesto.

Envase bien cerrado: es el que evita el ingreso de sólidos extraños y la pérdida del contenido bajo las condiciones usuales de manejo, almacenamiento, distribución y transporte.

Envase de cierre perfecto: es aquél que protege el contenido de la contaminación con sustancias extrañas y evita la entrada de humedad, impidiendo la efervescencia, delicuescencia o evaporación bajo las condiciones usuales de manejo, almacenamiento, transporte, manteniendo su condición de cierre perfecto después de su manipulación.

Envase hermético: es aquel que no permite la entrada de sólidos, líquidos o gases en las condiciones usuales de manejo, almacenamiento, distribución y transporte.

Envase seguro para niños: es aquel que posee un mecanismo tal que dificulta su apertura directa. Dichos envases sólo pueden ser abiertos luego de recibir las instrucciones pertinentes.

Envase monodosis: es aquel que está diseñado para contener una cantidad de sustancia destinada a administrarse en una única dosis, inmediatamente después de abierto.

Envase multidosis: es aquel que permite la extracción de porciones sucesivas del contenido sin cambios en la potencia, calidad o pureza de la porción remanente.

Condiciones de almacenamiento

El almacenamiento de productos debe ser realizado en condiciones adecuadas de temperatura, humedad e iluminación de acuerdo con las instrucciones del fabricante, de manera de no afectar adversamente de forma directa o indirecta,

la calidad de los mismos. Este concepto debe extenderse a la distribución y transporte.

Las sustancias y las preparaciones descriptas deberán almacenarse a temperatura ambiente, a menos que se especifique de otro modo.

El empleo de las siguientes expresiones descriptas en esta Farmacopea se refieren a:

Almacenar en un freezer: corresponde al almacenamiento del producto a una temperatura establecida entre - 25 y - 10 °C.

Almacenar en un sitio frío: corresponde al almacenamiento del producto a una temperatura que no exceda los 8 °C. Una *heladera/refrigerador* es un sitio frío con una temperatura que se mantiene termostáticamente entre 2 y 8 °C.

Almacenar en un sitio fresco: corresponde al almacenamiento del producto a temperatura entre 8 y 15 °C. Las cámaras frías permiten obtener estas condiciones.

Almacenar a temperatura ambiente: corresponde al almacenamiento a temperatura entre 15 y 30 °C. Este concepto está relacionado al almacenamiento en depósitos de laboratorios de especialidades medicinales y distribuidoras.

Almacenar a temperatura ambiente controlada: corresponde al almacenamiento de un producto a temperatura termostáticamente controlada entre 20 y 25 °C.

En algunas monografías pueden indicarse las siguientes expresiones:

“Evitar almacenar en ambientes cálidos” definiendo *cálido* a temperatura entre 30 y 40 °C.

“Evitar el calor excesivo”, definiendo *calor excesivo* a temperatura superior a 40 °C.

“Evitar el congelamiento” en los casos en que el mismo ocasionara la pérdida de potencia o cambio en las características fisicoquímicas de un producto.

Indicaciones generales:

- No deben retirarse los medicamentos de sus envases primario y secundario.
- No deben exponerse los productos al sol ni a las temperaturas extremas.
- Se debe evitar almacenar los medicamentos en ambientes húmedos.
- No deben almacenarse medicamentos en heladera excepto que dicha condición se encuentre indicada en el rótulo, prospecto y/o envase.

ROTULADO

El rótulo de cada producto deberá establecer el contenido del o de los principios activos expresados en las monografías.

Cantidad de principio activo por unidad de dosificación: la potencia de un producto se expresa en el rótulo del envase como microgramos, miligramos, gramos, porcentaje del ingrediente, o unidad internacional terapéuticamente activa presente en la preparación.

Las formas farmacéuticas como cápsulas, comprimidos u otras formas de dosificación deberán rotularse de modo que expresen la cantidad de cada principio activo contenido en cada unidad de dosificación.

En el caso de líquidos de administración oral o sólidos para reconstituir, deberán rotularse en términos, como por ej., *cada 5 mililitros* del líquido o del preparado resultante.

Rotulado de electrolitos: la concentración y dosificación de electrolitos para terapias de reposición deberá especificarse en miliequivalentes-gramo (mEq).

Rotulado del contenido alcohólico: el contenido de alcohol en una preparación líquida deberá especificarse como % v/v de etanol.

Fecha de vencimiento: la fecha de vencimiento identifica el fin del período de vida útil del

producto, durante el cual el mismo deberá cumplir con los requisitos establecidos en la presente Farmacopea, siempre que se conserve en las condiciones de almacenamiento establecidas.

Todos los productos deberán exhibir la fecha de vencimiento en el rótulo y en su envase primario, la cual es asignada a través de estudios de estabilidad realizados para esa formulación en un envase predefinido y autorizado por la Autoridad Sanitaria. Cuando la fecha de vencimiento se indique como Mes/Año, la misma incluye hasta el último día del mes indicado.

UNIDADES DEL SISTEMA INTERNACIONAL (SI) Y EQUIVALENCIA CON OTRAS UNIDADES DE MEDIDA

Los nombres y símbolos empleados en la *Farmacopea Argentina* para las unidades de medición son los del Sistema Internacional de Unidades (SI), establecido por la Conferencia General de Pesas y Medidas. Comprende tres clases de unidades: unidades básicas, unidades derivadas y unidades complementarias.

Cantidad		Unidad	
Nombre	Símbolo	Nombre	Símbolo
Longitud	<i>l</i>	metro	M
Masa	<i>m</i>	kilogramo	Kg
Tiempo	<i>t</i>	segundo	S
Corriente eléctrica	<i>I</i>	amperio	A
Temperatura termodinámica	<i>T</i>	kelvin	K
Cantidad de sustancia	<i>n</i>	mol	Mol
Intensidad luminosa	<i>I_v</i>	candela	Cd

Unidades utilizadas con el SI

Cantidad	Unidad		Valor en unidades SI
	Nombre	Símbolo	
Tiempo	Minuto	<i>min</i>	1 min = 60 s
	Hora	<i>h</i>	1 h = 60 min = 3.600 s
	Día	<i>d</i>	1 d = 24 h = 86.400 s
Ángulo plano	Grado	°	1° = (π/180) rad
Volumen	Litro	<i>l</i>	1 l = 1 dm ³ = 10 ⁻³ m ³
Masa	Tonelada	<i>t</i>	1 t = 10 ³ kg
Frecuencia de giro	revolución por minuto	<i>rpm</i>	1 rpm = (1/60) s ⁻¹

Múltiplos y submúltiplos decimales de las unidades

Factor	Prefijo	Símbolo	Factor	Prefijo	Símbolo
10 ¹⁸	exa	<i>E</i>	10 ⁻¹	deci	<i>d</i>
10 ¹⁵	peta	<i>P</i>	10 ⁻²	centi	<i>c</i>

10^{12}	tera	T	10^{-3}	mili	m
10^9	giga	G	10^{-6}	micro	μ
10^6	mega	M	10^{-9}	nano	n
10^3	kilo	k	10^{-12}	pico	p
10^2	hecto	h	10^{-15}	femto	f
10^1	deca	da	10^{-18}	atto	a

Unidades SI utilizadas en la *Farmacopea Argentina* y su equivalencia con otras unidades

Cantidad		Unidad				Conversión de otras unidades en unidades SI
Nombre	Símbolo	Nombre	Símbolo	Expresión en unidades SI básicas	Expresión en otras unidades SI	
Número de onda	ν	uno por metro	1/m	m^{-1}		
Longitud de onda	λ	micrómetro	μm	10^{-6}m		
		nanómetro	Nm	10^{-9}m		
Frecuencia	ν	hertz	Hz	s^{-1}		
Área	A, S	metro cuadrado	m^2	m^2		
Volumen	V	metro cúbico	m^3	m^3		$1 \text{ ml} = 1 \text{ cm}^3 = 10^{-6} \text{ m}^3$
Densidad (concentración de masa)	ρ	kilogramo por metro cúbico	kg/m^3	kg m^{-3}		$1 \text{ g}/\text{ml} = 1 \text{ g}/\text{cm}^3 = 10^3 \text{ kg}/\text{m}^3$
Velocidad	v	metro por segundo	m/s	m s^{-1}		
Fuerza	F	newton	N	m kg s^{-2}		$1 \text{ dina} = 1 \text{ g cm s}^{-2} = 10^{-5} \text{ N}$ $1 \text{ kp} = 9,80665 \text{ N}$
Presión	P	pascal	Pa	$\text{m}^{-1} \text{ kg s}^{-2}$	N m^{-2}	$1 \text{ dina}/\text{cm}^2 = 10^{-1} \text{ Pa} = 10^{-1} \text{ N m}^{-2}$
						$1 \text{ atm} = 101,325 \text{ Pa} = 101,325 \text{ kPa}$
						$1 \text{ bar} = 105 \text{ kPa} = 0,1 \text{ Mpa}$
						$1 \text{ mmHg} = 133,322387 \text{ Pa}$
						$1 \text{ Torr} = 133,322368 \text{ Pa}$
$1 \text{ psi} = 6,894757 \text{ kPa}$						
Viscosidad absoluta	η	pascal segundo	Pa s	$\text{m}^{-1} \text{ kg s}^{-1}$	N s m^{-2}	$1 \text{ P} = 10^{-1} \text{ Pa s} = 10^{-1} \text{ N s m}^{-2}$ $1 \text{ cP} = 1 \text{ mPa s}$
Viscosidad cinemática	ν	metro cuadrado por segundo	m^2/s	$\text{m}^2 \text{ s}^{-1}$	$\text{Pa s m}^3 \text{ kg}^{-1}$ N m s kg^{-1}	$1 \text{ St} = 1 \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1} = 10^{-4} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$
Energía	W	joule	J	$\text{m}^2 \text{ km s}^{-2}$	N m	$1 \text{ erg} = 1 \text{ cm}^3 \text{ g s}^{-2} = 1 \text{ dina cm} = 10^{-1} \text{ J}$ $1 \text{ cal} = 4,1868 \text{ J}$
Potencia (flujo de radiación)	P	watio	W	$\text{m}^2 \text{ km s}^{-3}$	N m s^{-1} J s^{-1}	$1 \text{ erg}/\text{s} = 1 \text{ dina cm s}^{-1} = 10^{-7} \text{ W} =$ $10^{-7} \text{ N m s}^{-1} = 10^{-7} \text{ J s}^{-1}$
Dosis absorbida (energía radiante)	D	gray	Gy	$\text{m}^2 \text{ s}^{-2}$	J kg^{-1}	$1 \text{ rad} = 10^{-2} \text{ Gy}$
Potencial eléctrico (fuerza electromotriz)	U	volt	V	$\text{m}^2 \text{ kg s}^{-3} \text{ A}^{-1}$	W A^{-1}	
Resistencia eléctrica	R	ohm	Ω	$\text{m}^2 \text{ kg s}^{-3} \text{ A}^{-2}$	V A^{-1}	
Cantidad de electricidad	Q	coulomb	C	A s		
Actividad de un radionucléido	A	becquerel	Bq	s^{-1}		$1 \text{ Ci} = 37 \times 10^9 \text{ Bq} = 37 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$
Concentración molar	M	molaridad	mol/dm^3	10^3 mol m^{-3}		$1 \text{ mol}/\text{l} = 1 \text{ M} = 1 \text{ mol}/\text{dm}^3 = 10^3 \text{ mol m}^{-3}$

FARMACOPEA ARGENTINA SEPTIMA EDICIÓN

TERCER VOLUMEN

ÍNDICE

Monografías de Producto Terminado

Acetazolamida Comprimidos	Comprimidos
Aciclovir Cápsulas Comprimidos	Atenolol Comprimidos
Agua estéril para Inyectables para Irrigación para Nebulizar	Atropina, Sulfato de Solución Inyectable Solución Oftálmica
Albendazol Comprimidos	Bario, Sulfato de para Suspensión Oral Suspensión Oral
Alopurinol Comprimidos	Bencilo, Benzoato de Emulsión Dérmica
Amilorida, Clorhidrato de Comprimidos	Bencilpenicilina Benzatina Suspensión inyectable
Amiodarona, Clorhidrato de Comprimidos	Benzoílo, Peróxido de Gel Tópico
Amitriptilina, Clorhidrato de Comprimidos	Betametasona Comprimidos Solución Oral
Amoxicilina Cápsulas Comprimidos para Suspensión Oral	Betametasona, Benzoato de Gel Tópico
Amoxicilina Sódica para Inyección	Betametasona, Dipropionato de Crema Dérmica Loción Ungüento Tópico
Ampicilina Comprimidos para Suspensión Oral	Betametasona, Fosfato Sódico de Solución Inyectable
Ampicilina Sódica para Inyección	Betametasona, Valerato de Crema Dérmica Loción Ungüento Tópico
Ascórbico, Ácido Comprimidos Polvo Solución Inyectable	Biperideno, Clorhidrato de Comprimidos
Aspirina	Bleomicina, Sulfato de para Inyección

Budesonida Aerosol	Solución Oral
Bupivacaina, Clorhidrato de Solución Inyectable	Cloroquina, Fosfato de Comprimidos
Calcio, Gluconato de Solución Inyectable	Cloroquina, Sulfato de Comprimidos
Carbamazepina Comprimidos	Clorpromazina, Clorhidrato de Comprimidos Solución Inyectable
Carboplatino para Inyección	Colchicina Comprimidos
Carmustina para Inyección	Dactinomicina para Inyección
Cefadroxilo Cápsulas Comprimidos para Suspensión Oral	Dapsona Comprimidos
Cefalexina Comprimidos para Suspensión Oral	Deferoxamina, Mesilato de para Inyección
Ciclofosfamida Comprimidos para Inyección	Dexametasona Comprimidos Solución Inyectable
Ciclosporina Cápsulas	Dexametasona, Acetato de Suspensión Inyectable
Ciprofloxacino Solución Oftálmica Ungüento Oftálmico	Dexametasona, Fosfato Sódico de Solución Inyectable
Ciprofloxacino, Clorhidrato de Comprimidos	Diatrizoato de Meglumina Solución Inyectable
Citarabina para Inyección	Diazepam Comprimidos Solución Inyectable
Claritromicina Comprimidos	Dietilcarbamazina, Citrato de Comprimidos
Clofazimina Cápsulas	Difenhidramina, Clorhidrato de Cápsulas Comprimidos Solución Oral
Clomipramina, Clorhidrato de Comprimidos Grageas	Digoxina Comprimidos Solución Inyectable Solución Oral
Cloranfenicol Cápsulas Comprimidos Solución Oftálmica Solución Ótica	Doxiciclina Cápsulas
Cloranfenicol, Succinato Sódico para Inyección	Doxiciclina, Hiclato de Cápsulas Comprimidos
Clorfeniramina, Maleato de Comprimidos	Doxorubicina, Clorhidrato de para Inyección
	Edetato cálcico disódico

Solución Inyectable	Fitomenadiona
Enalapril, Maleato de	Emulsión Inyectable
Comprimidos	Fluorouracilo
Epinefrina	Solución Inyectable
Solución Inyectable	Ungüento
Ergometrina, Maleato de	Flutamida
Comprimidos	Comprimidos
Solución inyectable	Fólico, Ácido
Ergotamina, Tartrato de	Comprimidos
Comprimidos	Solución Inyectable
Eritromicina	Furosemida
Comprimidos	Comprimidos
Gel Tópico	Solución Inyectable
Solución Tópica	Solución Oral
Eritromicina, Estearato de	Ganciclovir
Comprimidos	para Inyección
Eritromicina, Estolato de	Gemcitabina
Comprimidos	para Inyección
Suspensión Oral	Gentamicina, Sulfato de
Eritromicina, Etilsuccinato de	Crema Dérmica
Comprimidos	Solución Inyectable
Solución Inyectable	Solución Oftálmica
Suspensión Oral	Glibenclamida
Espironolactona	Comprimidos
Comprimidos	Glucosa
Estreptomina, Sulfato de	Solución Inyectable
para Inyección	Glucosa y Cloruro de Sodio
Etambutol, Clorhidrato de	Solución Inyectable
Comprimidos	Griseofulvina
Etosuximida	Comprimidos
Cápsulas	Haloperidol
Fenitoína	Comprimidos
Comprimidos	Solución Inyectable
Suspensión Oral	Solución Oral
Fenitoína Sódica	Hidroclorotiazida
Solución Inyectable	Comprimidos
Fenobarbital	Hidrocortisona
Comprimidos	Crema Dérmica
Fenobarbital Sódico	Gel Tópico
Solución Inyectable	Ungüento Tópico
Fenoximetilpenicilina	Hidrocortisona, Acetato de
Comprimidos	Crema Dérmica
Fenoximetilpenicilina Potásica	Suspensión Oftálmica
Comprimidos	Ungüento Oftálmico
Ferroso, Sulfato	Ungüento Tópico
Solución Oral	Hidrocortisona, Valerato de
	Crema Dérmica
	Ungüento Tópico

Hidroxiurea Cápsulas	Megestrol, Acetato de Comprimidos
Hioscina, Butilbromuro de Comprimidos	Melfalán Comprimidos
Homatropina, Metilbromuro de Comprimidos	Menadiona Solución Inyectable
Ibuprofeno Comprimidos Crema Dérmica Suspensión Oral	Metformina, Clorhidrato de Comprimidos
Idarubicina, Clorhidrato de para Inyección	Metildopa Comprimidos
Idopovidona solución de lavado	Metoclopramida, Clorhidrato de Comprimidos Solución Inyectable Solución Oral
Iohexol Solución Inyectable	Metotrexato Comprimidos para Inyección
Iopanoico, Ácido Comprimidos	Metronidazol Comprimidos Gel Tópico Óvulos Vaginales Solución Inyectable
Isoniazida Comprimidos	Metronidazol, Benzoato de Suspensión Oral
Ketamina, Clorhidrato de Solución Inyectable	Miconazol, Nitrato de Crema Dérmica
Ketoconazol Comprimidos	Morfina, Clorhidrato de Solución Inyectable
Leucovorina Cálcica Comprimidos Solución Inyectable	Nalidíxico, Ácido Comprimidos
Levotiroxina, Sódica Comprimidos	Naloxona, Clorhidrato de Solución Inyectable
Lidocaína Aerosol Tópico	Neostigmina, Bromuro de Comprimidos
Lidocaína, Clorhidrato de Solución Inyectable Solución Tópica	Neostigmina, Metilsulfato de Solución Inyectable
Litio, Carbonato de Comprimidos	Nicotinamida Comprimidos
Magnesio, Hidróxido de Suspensión Oral	Nifedipina Cápsulas
Magnesio, Sulfato de Solución Inyectable	Nistatina Comprimidos Comprimidos Vaginales Crema Dérmica Suspensión Oral Ungüento Tópico
Mebendazol Comprimidos Suspensión Oral	Nitrofurantoína
Medroxiprogesterona, Acetato de Comprimidos Suspensión Inyectable	

Suspensión Oral	Solución Oral
Noretisterona Comprimidos	Rifampicina Cápsulas para Inyección
Noretisterona, Acetato de Comprimidos	Ringer Solución Inyectable
Norfloxacin	Ringer Lactato Solución Inyectable
Paracetamol Comprimidos Solución Oral Supositorios	Salbutamol Comprimidos Solución para Nebulizar
Pilocarpina, Clorhidrato de Solución Oftálmica	Sales para Rehidratación Oral Polvo
Pilocarpina, Nitrato de Solución Oftálmica	Salicílico, Ácido Gel Tópico
Pirantel, Pamoato de Suspensión Oral	Sodio, Cloruro de Solución Inyectable Solución Isotónica Estéril para Irrigación Solución Isotónica Estéril para Nebulizar
Pirazinamida Comprimidos	Solución Oftálmica Ungüento Oftálmico
Piridoxina, Clorhidrato de Solución Inyectable	Sodio, Nitrito de Solución Inyectable
Pirimetamina Comprimidos	Sodio, Tiosulfato Solución Inyectable
Plata, Nitrato de Solución Oftálmica	Sulfadiazina Comprimidos
Prazicuantel Comprimidos	Sulfasalazina Comprimidos
Prednisolona Sódica Fosfato Solución Oftálmica	Teofilina Cápsulas Comprimidos
Prednisona Comprimidos	Tetraciclina, Clorhidrato de Cápsulas Comprimidos
Primaquina, Fosfato de Comprimidos	Tiamina, Clorhidrato de Comprimidos Solución Inyectable
Prometazina, Clorhidrato de Solución Inyectable	Timolol, Maleato de Comprimidos Solución Oftálmica
Propranolol, Clorhidrato de Comprimidos Solución Inyectable	Tiopental Sódico para Inyección
Quinidina, Sulfato de Cápsulas Comprimidos	Tropicamida Solución Oftálmica
Quinina, Sulfato de Comprimidos	
Ranitidina, Clorhidrato de Comprimidos Solución Inyectable	

Valproico, Ácido
Cápsulas
Solución Oral

Verapamilo, Clorhidrato de
Comprimidos
Solución Inyectable

Warfarina Sódica
Comprimidos

Zalcitabina
Comprimidos

Zidovudina
Cápsulas
Comprimidos
Solución Inyectable
Solución Oral

Apartado de Medicamentos Herbarios

Apartado de Hemoderivados

Apartado de Medicamentos Oficinales

Apartado de Productos Biológicos

Apartado de Productos Médicos

Apartado de Productos Radiofarmacéuticos

Apartado de Sueros y Vacunas

MONOGRAFÍAS
PRODUCTO TERMINADO

ACETAZOLAMIDA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Acetazolamida deben contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_4H_6N_4O_3S_2$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Acetazolamida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,01 N; 900 ml.

Tiempo: 60 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_4H_6N_4O_3S_2$ disuelta obtenida a partir de las absorbancias en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 265 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Acetazolamida SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_4H_6N_4O_3S_2$ se debe disolver en 60 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto

Fase móvil - Disolver 4,1 g de acetato de sodio

anhidro en 950 ml de agua, agregar 20 ml de metanol y 30 ml de acetonitrilo y mezclar. Ajustar a pH $4,0 \pm 0,05$ con ácido acético glacial. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución del estándar interno - Transferir aproximadamente 100 mg de *Sulfadiazina* a un matraz aforado de 100 ml, agregar 10 ml de hidróxido de sodio 0,5 N y mezclar hasta disolver. Completar a volumen con agua y mezclar.

Solución madre del estándar - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Acetazolamida SR-FA, transferir a un matraz aforado de 25 ml, agregar 2,5 ml de hidróxido de sodio 0,5 N y mezclar hasta disolver. Completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación estándar - Transferir 10,0 ml de la *Solución madre del estándar* y 10,0 ml de la *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 100 ml, agregar 10 ml de hidróxido de sodio 0,5 N, completar a volumen con agua y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg de Acetazolamida SR-FA por ml.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Acetazolamida. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 100 mg de acetazolamida, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 10 ml de hidróxido de sodio 0,5 N y sonicar durante 5 minutos. Enfriar a temperatura ambiente, completar a volumen con agua y mezclar. Filtrar una porción de esta solución, descartando los primeros 20 ml del filtrado. Transferir 10,0 ml del filtrado transparente a un matraz aforado de 100 ml, agregar 10,0 ml de *Solución del estándar interno* y 10 ml de hidróxido de sodio 0,5 N, completar a volumen con agua y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,7 para acetazolamida y 1,0 para sulfadiazina; la resolución *R* entre los picos de acetazolamida y de sulfadiazina no debe ser menor de 2,0; la desviación estándar relativa del cociente entre las respuestas de los picos del analito y del estándar interno para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_4H_6N_4O_3S_2$ en los Comprimidos de Acetazolamida, de acuerdo a la cantidad declarada.

ACICLOVIR

CÁPSULAS

Definición - Las Cápsulas de Aciclovir deben contener no menos de 93,0 por ciento y no más de 107,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_8H_{11}N_5O_3$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Aciclovir SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto. Conservar entre 15 y 25 °C y proteger de la humedad.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,1 N; 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_8H_{11}N_5O_3$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 254 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Aciclovir SR-FA, en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_8H_{11}N_5O_3$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución de aptitud del sistema 1, Solución de aptitud del sistema 2 y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* obtenida en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo un volumen de aproximadamente 20 μ l de la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza en las Cápsulas de Aciclovir, en relación a la suma de las respuestas de todos los picos. No debe contener más de 2,0 % de guanina y no más de 0,5 % de cualquier impureza individual.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm \times 4,2 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Ácido acético 0,02 M. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de aptitud del sistema 1 - Pesar exactamente cantidades apropiadas de Aciclovir SR-FA y guanina, disolver en hidróxido de sodio 0,1 N y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con agua para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg de cada una por ml.

Solución de aptitud del sistema 2 - Pesar exactamente una cantidad apropiada de guanina, disolver en hidróxido de sodio 0,1 N y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con agua para obtener una solución de aproximadamente 2,0 μ g por ml.

Preparación estándar - Pesar exactamente una cantidad apropiada de Aciclovir SR-FA, disolver en hidróxido de sodio 0,1 N y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con agua para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml.

Preparación muestra - Extraer el contenido de no menos de diez Cápsulas de Aciclovir y mezclar. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 10 mg de aciclovir, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en 10 ml de hidróxido de sodio 0,1 N, completar a volumen con agua, mezclar y filtrar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema 1* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,6 para guanina y 1,0 para aciclovir; la resolución *R* entre guanina y aciclovir no debe ser menor de 2,0 %. Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema 2* y registrar las res-

puestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_8H_{11}N_5O_3$ en las Cápsulas de Aciclovir, de acuerdo a la cantidad declarada.

ACICLOVIR

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Aciclovir deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_8H_{11}N_5O_3$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Aciclovir SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto. Conservar entre 15 y 25 °C y proteger de la humedad.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,1 N; 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario y determinar la cantidad de $C_8H_{11}N_5O_3$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta, a la longitud de onda de máxima absorción, 254 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Aciclovir SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_8H_{11}N_5O_3$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Fase móvil, y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Emplear la *Preparación estándar* obtenida en *Valoración*.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* obtenida en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo un volumen de 20 µl de la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos.

Calcular el porcentaje de cada impureza en los Comprimidos de Aciclovir, en relación a la suma de las respuestas de todos los picos. No debe presentar más de 2,0 % de guanina y no más de 0,5 % de cualquier otra impureza.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución de aptitud del sistema 1, Solución de aptitud del sistema 2, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Cápsulas de Aciclovir*.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de diez Comprimidos de Aciclovir. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 10 mg de aciclovir, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en 10 ml de hidróxido de sodio 0,1 N, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_8H_{11}N_5O_3$ en los Comprimidos de Aciclovir, de acuerdo a la cantidad declarada.

AGUA ESTÉRIL

PARA INYECTABLES

H₂O

PM: 18,0

Definición - Agua Estéril para Inyectables es el *Agua para Inyectables*, esterilizada en su envase final, envasada en envases monodosis no mayores a un litro. No debe contener agentes antimicrobianos ni sustancias agregadas.

Caracteres generales - Líquido transparente, incoloro, inodoro e insípido.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis de plástico (ver 420. *Envases primarios de plástico*) o de vidrio tipo I o II.

ENSAYOS

Determinación del pH <250>

Entre 5,0 y 7,0; determinado sobre una solución conteniendo 0,3 ml de una solución saturada de cloruro de potasio cada 100 ml de Agua Estéril para Inyectables.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

No debe contener más de 0,25 Unidades de Endotoxinas por ml.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

Amoníaco

Para envases cuyo volumen de llenado es menor de 50 ml, diluir 50 ml de Agua Estéril para Inyectables con 50 ml de Agua de alta pureza (SR), emplear esta dilución como solución de ensayo. Cuando el volumen de llenado es igual o mayor de 50 ml, emplear 100 ml como solución de ensayo.

Procedimiento - A 100 ml de solución de ensayo, agregar 2 ml de solución alcalina de ioduro mercúrico potásico (SR): cualquier coloración amarilla desarrollada no debe ser más intensa que la de un control conteniendo 30 µg de amoníaco en 100 ml de Agua de alta pureza (SR). El límite es 0,6 ppm para envases cuyo volumen de llenado es menor a 50 ml y 0,3 ppm para envases cuyo volumen de llenado es igual o mayor de 50 ml.

Calcio y Magnesio

A 100 ml de Agua Estéril para Inyectables, agregar 2 ml de Solución reguladora de amoníaco – cloruro de amonio (SR), 50 mg de negro de eriocromo T y 0,5 ml de solución de EDTA 0,01 M (SV): se debe observar una coloración azul.

Dióxido de carbono

A 25 ml de Agua Estéril para Inyectables, agregar 25 ml de solución de Hidróxido de calcio (SR): la mezcla debe permanecer transparente.

Cloruro

Transferir 20 ml de Agua Estéril para Inyectables a un tubo de Nessler, agregar 5 gotas de ácido nítrico, 1 ml de solución de nitrato de plata (SR) y mezclar suavemente. Cualquier turbidez que se desarrolle dentro de los 10 minutos, observando desde arriba hacia abajo sobre una superficie oscura con luz lateral, no debe ser más intensa que la de un control tratado de la misma manera, conteniendo 10 µg de cloruro en 20 ml de Agua de alta pureza (SR). El límite es 0,5 ppm.

Sulfato

A 100 ml de Agua Estéril para Inyectables, agregar 1 ml de solución de cloruro de bario (SR): no se debe producir turbidez.

Sustancias oxidables

Solución muestra - Agregar 10 ml de ácido sulfúrico 2 N a 100 ml de Agua Estéril para Inyectables y calentar a ebullición.

Procedimiento - Para envases cuyo volumen de llenado es menor de 50 ml, agregar a la *Solución muestra* 0,4 ml de solución de permanganato de potasio (SR) y continuar con el calentamiento a ebullición durante 5 minutos adicionales. Cuando el volumen de llenado es igual o mayor de 50 ml, agregar a la *Solución muestra* 0,2 ml de solución de permanganato de potasio (SR) y continuar con el calentamiento a ebullición durante 5 minutos. Si se forma un precipitado, enfriar en un baño de hielo hasta temperatura ambiente y filtrar a través de un filtro de vidrio sinterizado: el color rosado no debe desaparecer completamente.

Conductividad <70>

Transferir una cantidad suficiente de agua a un recipiente adecuado y agitar. Ajustar la temperatura, si es necesario, y mientras se mantiene a 25 ± 1 °C, comenzar a agitar vigorosamente la muestra observando periódicamente la conductividad. Cuando el cambio en la conductividad (debido a la incorporación de dióxido de carbono ambiental) es menor a 0,1 µS/cm, registrar el valor de la conductividad.

Para envases con un volumen nominal de 10 ml o menor, el Agua Estéril para Inyectables cumple con los requerimientos si la conductividad no es mayor que 25 µS/cm.

Para envases con un volumen nominal mayor de 10 ml, el Agua Estéril para Inyectables cumple con

los requerimientos si la conductividad no es mayor que 5 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

ROTULADO

No inyectar en forma directa. Isotonizar con un soluto adecuado antes de su uso.

AGUA ESTÉRIL PARA IRRIGACIÓN

H₂O

PM: 18,0

Definición - Agua Estéril para Irrigación es el *Agua para Inyectables*, esterilizada en su envase final, envasada en envases monodosis, que pueden contener más de un litro. No debe contener agentes antimicrobianos ni otras sustancias agregadas.

Caracteres generales - Líquido transparente, incoloro, inodoro e insípido.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis de plástico o vidrio tipo I o II. [NOTA: el diseño del envase debe permitir el vaciado rápido.]

ENSAYOS

Otros requisitos

Debe cumplir con los requisitos de todos los ensayos para *Agua Estéril para Inyectables*, exceptuando el ensayo *Partículas en inyectables <650>*.

ROTULADO

En el rótulo deben figurar las leyendas: “No emplear como inyectable”; “Usar sólo para irrigación”.

AGUA ESTÉRIL PARA NEBULIZAR

H₂O

PM: 18,0

Definición - Agua Estéril para Nebulizar es *Agua Purificada*, esterilizada y envasada en envases monodosis no mayores de 20 ml. No debe contener agentes antimicrobianos ni otras sustancias agregadas.

Caracteres generales - Líquido transparente, incoloro, inodoro e insípido.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis de plástico o vidrio tipo I o II.

ENSAYOS

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 7,5, determinado sobre una solución conteniendo 0,3 ml de solución saturada de cloruro de potasio cada 100 ml de Agua Estéril para Nebulizar.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Amoníaco

Diluir 50 ml de Agua Estéril para Nebulizar con 50 ml de Agua de Alta Pureza (SR). Homogeneizar y agregar 2 ml de solución alcalina de ioduro mercuríco potásico (SR). Cualquier coloración amarilla que se desarrolle inmediatamente no debe ser más intensa que la de un control conteniendo 30 µg de amoníaco en 100 ml de Agua de Alta Pureza (SR). El límite es 0,6 ppm.

Calcio

A 100 ml de Agua Estéril para Nebulizar, agregar 2 ml de solución de oxalato de amonio (SR): no se debe producir turbidez.

Dióxido de carbono

A 25 ml de Agua Estéril para Nebulizar, agregar 25 ml de solución de hidróxido de calcio (SR): la mezcla debe permanecer transparente.

Cloruro

A 20 ml de Agua Estéril para Nebulizar, en un tubo de Nessler, agregar 5 gotas de ácido nítrico, 1 ml de solución de nitrato de plata (SR) y mezclar suavemente. Cualquier turbidez que se desarrolle dentro de los 10 minutos, observando desde arriba hacia abajo sobre una superficie oscura con luz lateral, no debe ser más intensa que la de un control tratado del mismo modo, conteniendo 10 µg de cloruro en 20 ml de Agua de Alta Pureza (SR). El límite es 0,5 ppm.

Sulfato

A 100 ml de Agua Estéril para Nebulizar, agregar 1 ml de solución de cloruro de bario (SR): no se debe producir turbidez.

Sustancias oxidables

A 100 ml de Agua Estéril para Nebulizar, agregar 10 ml de ácido sulfúrico 2 N y calentar a ebullición. Agregar 0,4 ml de solución de permanganato de potasio 0,1 N y continuar con el calentamiento a ebullición durante 5 minutos más. Si se forma un precipitado, enfriar en un baño de hielo hasta temperatura ambiente y filtrar a través de un filtro de vidrio sinterizado. El color rosado no debe desaparecer completamente.

ROTULADO

En el rótulo deben figurar las leyendas: “*No emplear como inyectable*”; “*Emplear sólo para nebulizar*”; “*Una vez abierto el envase, desechar el remanente*”.

ALBENDAZOL

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Albendazol deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{12}H_{15}N_3O_2S$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Albendazol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: Emplear *Diluyente* preparado según se indica en *Ensayo de disolución*.

Concentración: 10 µg por ml, preparado a partir de una dilución del filtrado obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,1 N; 900 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y determinar la cantidad de $C_{12}H_{15}N_3O_2S$ disuelta mediante la siguiente técnica.

Diluyente - Transferir 50 ml de metanol a un matraz aforado de 100 ml, agregar 2 ml de ácido clorhídrico, completar a volumen con metanol y mezclar.

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 90 mg de Albendazol SR-FA, transferir a un matraz aforado de 250 ml, agregar 10 ml de *Diluyente* y agitar hasta disolver. Completar a volumen con ácido clorhídrico 0,1 N y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con hidróxido de sodio 0,1 N y mezclar.

Solución muestra - Transferir 10,0 ml de cada porción filtrada a un matraz aforado de 250 ml, completar a volumen con hidróxido de sodio 0,1 N y mezclar.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución estándar* y la *Solución muestra* en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima y mínima absorción, 308 y 350 nm, respectivamente, empleando hidróxido de sodio 0,1 N como blanco.

Calcular la cantidad de $C_{12}H_{15}N_3O_2S$ disuelta, a partir de las diferencias de las absorbancias a 308 y 350 nm ($A_{308} - A_{350}$) obtenidas con la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, respectivamente.

Tolerancia - No menos de 80 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{12}H_{15}N_3O_2S$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido

Diluyente, Solución estándar - Proceder según se indica en *Ensayo de disolución*.

Solución muestra - Transferir un Comprimido de Albendazol a un matraz aforado de 500 ml, agregar aproximadamente 300 ml de *Diluyente* y agitar durante 30 minutos. Completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Filtrar una porción de esta solución descartando los primeros 20 ml del filtrado. Transferir 4,0 ml del filtrado a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con hidróxido de sodio 0,1 N y mezclar.

Procedimiento - Determinar las absorbancias en el ultravioleta de la *Solución estándar* y la *Solución muestra* a la longitud de onda de máxima y mínima absorción, 308 y 350 nm, empleando hidróxido de sodio 0,1 N como blanco. Calcular la cantidad de $C_{12}H_{15}N_3O_2S$ en cada Comprimido de Albendazol, a partir de las diferencias de las absorbancias a 308 y 350 nm ($A_{308} - A_{350}$) obtenidas con la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, respectivamente.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Diluyente - Metanol y ácido sulfúrico (99:1).

Fase móvil - Disolver 0,50 g de fosfato monobásico de amonio en 400 ml de agua, agregar 600 ml de metanol y mezclar. Filtrar descartando los primeros 15 ml del filtrado y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Albendazol SR-FA, transferir

a un matraz aforado de 50 ml, agregar 5 ml de *Diluyente*, 25 ml de metanol y agitar hasta disolver. Completar a volumen con metanol y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Albendazol. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 100 mg de albendazol, transferir a un matraz aforado de 50 ml, agregar 5 ml de *Diluyente*, 20 ml de metanol y agitar durante 15 minutos. Completar a volumen con metanol, mezclar y filtrar descartando los primeros 15 ml del filtrado. Transferir 5,0 ml de la solución filtrada a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la eficiencia de la columna no debe ser menor de 1.000 platos teóricos; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{12}H_{15}N_3O_2S$ en los Comprimidos de Albendazol, de acuerdo a la cantidad declarada.

ALOPURINOL COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Alopurinol deben contener no menos de 93,0 por ciento y no más de 107,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_5H_4N_4O$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Alopurinol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Pesar una cantidad equivalente a 50 mg de Alopurinol, a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*. Suspender en 10 ml de hidróxido de sodio 0,1 N, filtrar, acidificar el filtrado con ácido acético 1 N y dejar en reposo entre 10 y 15 minutos. Recoger el precipitado, lavar con porciones de 3 ml de alcohol absoluto y finalmente con 4 ml de éter etílico anhidro. Dejar secar al aire durante 15 minutos y luego secar a 105 °C durante 3 horas: el residuo obtenido debe responder al ensayo de *Identificación A* en *Alopurinol*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 75 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,01 N; 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_5H_4N_4O$ disuelta mediante la siguiente técnica.

Solución madre del estándar - Pesar exactamente alrededor 40 mg de Alopurinol SR-FA y transferir a un matraz aforado de 200 ml. Agregar 10 ml de hidróxido de sodio 0,1 N, agitar, completar a volumen con *Medio* y mezclar.

Solución estándar - Diluir la *Solución madre del estándar* con *Medio* hasta obtener una solución de concentración similar a la empleada en el ensayo.

Procedimiento - Determinar las absorbancias en el ultravioleta, a la longitud de onda de máxima absorción, a 250 nm, comparando con la *Solución estándar*.

Tolerancia - No menos de 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_5H_4N_4O$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

[NOTA: preparar todas las soluciones en el día de su uso].

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Fosfato monobásico de amonio 0,05 M. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución del estándar interno - Disolver alrededor de 50 mg de hipoxantina en 10 ml de hidróxido de sodio 0,1 N, en un matraz aforado de 50 ml, agitar durante 10 minutos, completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Alopurinol SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, agregar 10 ml de hidróxido de sodio 0,1 N, agitar durante 10 minutos, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 4,0 ml de esta solución y 2,0 ml de *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Alopurinol. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 50 mg de alopurinol, transferir a un matraz aforado de 50 ml, agregar 10 ml de hidróxido de sodio 0,1 N, agitar durante 10 minutos, completar a volumen con agua y mezclar. [NOTA: a partir de este punto, realizar el resto de la *Valoración* rápidamente]. Filtrar, descartando los primeros 10 ml del filtrado. Transferir 4,0 ml del filtrado y 2,0 ml de *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,6 para hipoxantina y 1,0 para alopurinol; la resolución *R* entre los picos del alopurinol y del estándar interno no debe ser menor de 5,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repeti-

das no debe ser mayor de 3,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_5H_4N_4O$ en la porción de Comprimidos de Alopurinol, de acuerdo a la cantidad declarada.

AMILORIDA, CLORHIDRATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Clorhidrato de Amilorida deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_6H_8ClN_7O \cdot HCl$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Amilorida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,1 N; 900 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_6H_8ClN_7O \cdot HCl$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 363 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Clorhidrato de Amilorida SR-FA, en el mismo medio. [NOTA: puede emplearse una cantidad de metanol que no exceda el 2 % del volumen total de la *Solución estándar*, para disolver el Clorhidrato de Amilorida].

Tolerancia - No menos del 80 % (Q) de la cantidad declarada de $C_6H_8ClN_7O \cdot HCl$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido

Diluyente - Ácido clorhídrico 0,1 N.

Solución muestra - Reducir a polvo fino un Comprimido de Clorhidrato de Amilorida, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 60 ml de *Diluyente* y agitar durante 30 minutos. Completar a volumen con *Diluyente*, mezclar y centrifugar una porción de la mezcla. Diluir una porción exactamente medida del líquido sobrenadante transparente para obtener una solución de aproximadamente 10 µg de clorhidrato de amilorida por ml.

Solución estándar - Preparar una solución de Clorhidrato de Amilorida SR-FA en *Diluyente* de aproximadamente 10 µg por ml.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y la *Solución estándar* a la longitud de onda de máxima absorción, 363 nm, con un espectrofotómetro, empleando *Diluyente* como blanco. Calcular la cantidad de $C_6H_8ClN_7O \cdot HCl$ cada Comprimido de Clorhidrato de Amilorida.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 286 nm y una columna de 30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución reguladora - Disolver 136 g de fosfato monobásico de potasio en 800 ml de agua. Ajustar a pH 3,0 con ácido fosfórico. Diluir a 1 litro con agua y mezclar.

Fase móvil - Agua, metanol y *Solución reguladora* (71:25:4). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad de Clorhidrato de Amilorida SR-FA en metanol para obtener una solución de aproximadamente 1,0 mg de clorhidrato de amilorida por ml. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, agregar 10,0 ml de metanol y 2,0 ml de ácido clorhídrico 0,1 N. Completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Clorhidrato de Amilorida. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 5 mg de clorhidrato de amilorida, transferir a un matraz aforado de 50 ml, conteniendo 15,0 ml de metanol y 2,0 ml de ácido clorhídrico 0,1 N. Sonicar durante 10 minutos, completar a volumen con agua, sonicar durante 10 minutos adicionales, mezclar y filtrar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría del pico principal no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cro-

matógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular la cantidad de $C_6H_8ClN_7O \cdot HCl$ en los Comprimidos de Clorhidrato de Amilorida, de acuerdo a la cantidad declarada.

AMIODARONA, CLORHIDRATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Clorhidrato de Amiodarona deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{25}H_{29}I_2NO_3 \cdot HCl$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Amiodarona SR-FA. Impureza D de Clorhidrato de Amiodarona SR-FA: 2-N-butil-3-(3',5'-diiodo-4'-hidroxibenzoil)benzofurano. Impureza E de Clorhidrato de Amiodarona SR-FA: 2-N-butil-3-(4-hidroxibenzoil)benzofurano.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados. Proteger de la humedad. A temperatura que no exceda los 30 °C.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloruro de metileno, metanol y ácido fórmico (85:10:5).

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Clorhidrato de Amiodarona SR-FA, transferir a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con metanol y agitar hasta disolución total.

Solución muestra - Pesar una cantidad equivalente a 200 mg de clorhidrato de amiodarona a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración* y transferir a un erlenmeyer de 25 ml. Agregar 10,0 ml de metanol, sonicar durante 10 minutos y agitar durante 20 minutos. Filtrar y descartar los primeros mililitros del filtrado.

Procedimiento - Colocar la placa en la cámara y dejar que el frente del solvente recorra toda la longitud de la misma. Retirar la placa de la cámara y dejar secar. Aplicar por separado sobre la placa, en bandas, 20 µl de la *Solución muestra* y 20 µl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres

cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder en valor de R_f e intensidad con la obtenida a partir de la *Solución estándar*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Solución reguladora de pH 4,9, Fase móvil y Diluyente - Proceder según se indica en *Sustancias Relacionadas en Clorhidrato de Amiodarona*.

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Impureza D de Clorhidrato de Amiodarona SR-FA, 10 mg de Impureza E de Clorhidrato de Amiodarona SR-FA y 10 mg de Clorhidrato de Amiodarona SR-FA. Transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver con metanol y completar a volumen con el mismo solvente. Transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 200 ml y completar a volumen con *Diluyente*.

Solución muestra - Pesar una cantidad equivalente a 50 mg de clorhidrato de amiodarona a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*, transferir a un matraz aforado de 50 ml, agregar metanol, sonicar durante 15 minutos y agitar durante 15 minutos. Completar a volumen con el mismo solvente y filtrar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución R entre los picos de impureza D e impureza E no debe ser menor de 3,5; el factor de asimetría para el pico de amiodarona no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, registrar los cromatogramas durante al menos 60 minutos y medir las respuestas de todos los picos. Identificar los picos que pudieran aparecer en el cromatograma de la *Solución muestra* de acuerdo a los tiempos de retención relativos indicados en la siguiente tabla:

<i>Pico</i>	<i>Tiempo de retención relativo</i>
impureza A	0,26
impureza D	0,29
impureza E	0,37
impureza B	0,49
impureza C	0,55
impureza G	0,62
impureza F	0,69
amiodarona	1,00

en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta de ningún pico individual debe ser mayor a la respuesta del pico correspondiente a amiodarona obtenido con la *Solución estándar* (0,2 %); la suma de las respuestas de todos los picos no debe ser mayor a 2,5 veces la respuesta del pico correspondiente a amiodarona obtenido con la *Solución estándar* (0,5 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor a 0,1 veces la respuesta del pico correspondiente a amiodarona obtenido con la *Solución estándar* (0,02 %).

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 100 rpm.

Medio: agua, conteniendo lauril sulfato de sodio al 0,5 %; 900 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Solución estándar: Pesar exactamente alrededor de 45 mg de Clorhidrato de Amiodarona SR-FA y transferir a un matraz aforado de 100 ml. Disolver y completar a volumen con metanol y agitar hasta disolución total. Transferir 2,0 ml de la solución anterior a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Medio*.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{25}H_{29}I_2NO_3 \cdot HCl$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta determinadas a la longitud de onda de máxima absorción, 244 nm, comparando con una *Solución estándar*.

Tolerancia - No menos de 80 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{25}H_{29}I_2NO_3 \cdot HCl$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Pérdida por secado <680>

Pesar exactamente alrededor de 1,5 g del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración* y secar a 105 °C hasta peso constante: no debe perder más de 2,5 % de su peso.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Solución reguladora de pH 4,9, Fase móvil y Diluyente - Proceder según se indica en *Sustancias Relacionadas* en *Clorhidrato de Amiodarona*.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Clorhidrato de Amiodarona SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con metanol y agitar hasta disolución total. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. [NOTA: esta solución es estable durante aproximadamente 18 horas, conservada en recipientes herméticamente cerrados a temperatura ambiente.]

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Clorhidrato de Amiodarona. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 50 mg de clorhidrato de amiodarona, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar metanol, sonicar durante 15 minutos y agitar durante 15 minutos. Completar a volumen con el mismo solvente y filtrar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. [NOTA: esta solución es estable durante aproximadamente 18 horas, conservada en recipientes herméticamente cerrados a temperatura ambiente.]

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría para el pico de amiodarona no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas durante al menos 30 minutos y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{25}H_{29}I_2NO_3 \cdot HCl$ en los Comprimidos de Clorhidrato de Amiodarona, de acuerdo a la cantidad declarada.

AMITRIPTILINA, CLORHIDRATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Clorhidrato de Amitriptilina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{20}H_{23}N \cdot HCl$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Amitriptilina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción ultravioleta <470>

Pesar una cantidad equivalente a 10 mg de clorhidrato de amitriptilina a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*. Transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 50 ml de metanol, agitar y completar a volumen con el mismo solvente. Filtrar una porción de esta solución, transferir 10 ml del filtrado a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con metanol. El espectro de absorción de esta solución debe presentar un máximo a la misma longitud de onda que el de una solución preparada del mismo modo a partir de Clorhidrato de Amitriptilina SR-FA.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,1 N; 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{20}H_{23}N \cdot HCl$ disuelta a partir de las absorbancias medidas en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 239 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Clorhidrato de Amitriptilina SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos del 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{20}H_{23}N \cdot HCl$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm × 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Solución reguladora de fosfato - Disolver 11,04 g de fosfato monobásico de sodio en 900 ml de agua, ajustar a pH $2,5 \pm 0,5$ con ácido fosfórico, diluir a 1 litro con agua y mezclar.

Fase móvil - *Solución reguladora de fosfato* y acetonitrilo (58:42). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Amitriptilina SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,2 mg de clorhidrato de amitriptilina por ml.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino veinte Comprimidos de Clorhidrato de Amitriptilina, transferir a un matraz aforado de 500 ml, agregar 250 ml de *Fase móvil* y agitar hasta disolución completa. Completar a volumen con *Fase móvil*, mezclar y filtrar. Diluir cuantitativamente un volumen exactamente medido del filtrado transparente con *Fase móvil* hasta obtener una solución de aproximadamente 0,2 mg de clorhidrato de amitriptilina por ml.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; el número de platos teóricos no debe ser menor de 800; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{20}H_{23}N \cdot HCl$ en los Comprimidos de Clorhidrato de Amitriptilina, de acuerdo a la cantidad declarada.

AMOXICILINA

CÁPSULAS

Definición - Las Cápsulas de Amoxicilina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Amoxicilina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm, para cápsulas que contengan 250 mg de amoxicilina.

Aparato 2: 75 rpm, para cápsulas que contengan 500 mg de amoxicilina.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 60 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 272 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Amoxicilina SR-FA, en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ se debe disolver en 60 minutos.

Determinación de agua<120>

Titulación volumétrica directa. No debe contener más de 14,5 %.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Diluyente, Fase móvil, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Amoxicilina*.

Preparación muestra - Extraer el contenido de no menos de veinte Cápsulas de Amoxicilina y mezclar. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 200 mg de amoxicilina anhidra, transferir a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Sonicar, si fuera necesario, para asegurar una disolución completa. [NOTA: emplear esta solución dentro de las 6 horas de su preparación].

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración en Amoxicilina*. Calcular la cantidad de $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ en las Cápsulas de Amoxicilina, de acuerdo a la cantidad declarada.

AMOXICILINA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Amoxicilina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Amoxicilina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 75 rpm.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 90 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y determinar la cantidad de $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ disuelta empleando la técnica siguiente.

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 230 nm, una columna de 30 cm \times 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro, mantenida aproximadamente a 40 ± 1 °C y un guarda columna de 2 cm \times 2 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a gel de sílice de una porosidad superficial controlada constituida por un núcleo esférico sólido de 30 a 50 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 0,7 ml por minuto.

Solución reguladora de pH 5,0 - Disolver 27,2 g de fosfato monobásico de potasio en 3 litros de agua, ajustar a pH $5,0 \pm 0,1$ con una solución de hidróxido de potasio al 45 % p/p, diluir a 4 litros con agua y mezclar.

Fase móvil - *Solución reguladora de pH 5,0* y acetonitrilo (39:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (Ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Pesar exactamente una cantidad de Amoxicilina SR-FA, disolver en *Solución reguladora de pH 5,0* hasta obtener una solución de aproximadamente 0,05 mg por ml. [NOTA: emplear esta solución dentro de las 6 horas de su preparación].

Solución muestra - Diluir cuantitativamente con agua, un volumen exactamente medido de cada alícuota filtrada hasta obtener una solución de aproximadamente 0,045 mg de amoxicilina por ml. [NOTA: emplear esta solución dentro de las 6 horas de su preparación].

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de capacidad k' se debe encontrar entre 1,1 y 2,8; la eficiencia de la columna no debe ser menor de 1.700 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,5 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales.

Tolerancia - No menos de 80 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ se debe disolver en 90 minutos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Diluyente, Fase móvil, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Procede según se indica en *Valoración* en *Amoxicilina*.

Preparación muestra - Colocar no menos de cinco Comprimidos de Amoxicilina en un recipiente de vidrio de una mezcladora de alta velocidad que contenga un volumen exactamente medido de *Diluyente* suficiente para obtener una concentración de aproximadamente 1 mg de amoxicilina anhidra por ml. Mezclar durante 4 ± 1 minutos, dejar reposar aproximadamente 5 minutos y centrifugar una porción de la mezcla. [NOTA: cuando el volumen del *Diluyente* necesario sea mayor de 500 ml, colocar cinco Comprimidos de Amoxicilina en un matraz aforado de una capacidad tal que cuando se diluya finalmente a volumen, se obtenga una solución de aproximadamente 1 mg de amoxicilina anhidra por ml. Agregar un volumen de *Diluyente* equivalente aproximadamente a tres cuartos de la capacidad del matraz aforado y sonicar durante aproximadamente 5 minutos. Completar a volumen con *Diluyente* y agitar mediante una barra magnética durante aproximadamente 30 minutos. Centrifugar una porción de esta solu-

ción]. Filtrar una porción del líquido sobrenadante transparente a través de una membrana filtrante de 1 μm o porosidad menor y emplear el filtrado como *Preparación muestra*. [NOTA: emplear esta solución dentro de las 6 horas de su preparación].

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$ en los Comprimidos de Amoxicilina, de acuerdo a la cantidad declarada.

AMOXICILINA

PARA SUSPENSIÓN ORAL

Definición - Amoxicilina para Suspensión Oral debe contener el equivalente a no menos de 90,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia – Amoxicilina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación del pH <250>

Entre 5,0 y 7,5; determinado sobre la suspensión reconstituida según se indica en el rótulo.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 3,0 %, excepto cuando en el rótulo se indica que contiene 80 mg de amoxicilina por ml de la solución reconstituida donde el límite no debe ser mayor de 4,0 %.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos para sólidos en envases monodosis.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Diluyente, Fase móvil, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Amoxicilina*.

Preparación muestra - Reconstituir la Amoxicilina para Suspensión Oral según se indica en el rótulo, agitar y diluir un volumen exactamente medido y libre de burbujas, cuantitativamente y en etapas, con *Diluyente* para obtener una solución de 1 mg de amoxicilina por ml. [NOTA: emplear la solución dentro de las 6 horas de preparada].

Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración en Amoxicilina*. Calcular la cantidad de $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ en la Amoxicilina para Suspensión Oral reconstituida, de acuerdo a la cantidad declarada.

AMOXICILINA SÓDICA

PARA INYECCIÓN

Definición - Amoxicilina Sódica para Inyección debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de amoxicilina ($C_{16}H_{19}N_3O_5S$) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Amoxicilina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 4,0 %, determinado sobre 300 mg.

Determinación del pH <250>

Entre 8,0 y 10,0; determinado sobre una solución de amoxicilina al 10 %.

Sustancias relacionadas

Solución reguladora de pH 9,0 - Transferir 6,20 g de ácido bórico a un matraz aforado de 1 litro y disolver en 500 ml de agua. Ajustar a pH 9,0 con hidróxido de sodio y completar a volumen con agua.

Solución reguladora de pH 4,6 - Transferir 5,4 g de acetato de sodio a un matraz aforado de 100 ml y disolver en 50 ml de agua. Agregar 2,4 g de ácido acético glacial y completar a volumen con agua. Ajustar el pH si fuera necesario.

Solución muestra - A una cantidad de Amoxicilina Sódica para Inyección, equivalente a 250 mg de amoxicilina, agregar 25 ml de *Solución reguladora de pH 9,0* y 5,0 ml de anhídrido acético, agitar durante 3 minutos y agregar 10 ml de *Solución reguladora de pH 4,6*. [NOTA: preparar esta solución en el momento de su uso.]

Procedimiento - Titular la *Solución muestra* con nitrato mercúrico 0,02 M (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Emplear un electrodo indicador de platino o mercurio y un electrodo de referencia de sulfato de mercurio-mercurio (I). Ignorar cualquier inflexión preliminar sobre la curva de titulación. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*).

Cada ml de nitrato mercúrico 0,02 M equivale a 7,748 mg de $C_{16}H_{18}N_3NaO_5S$. No debe contener más de 0,9 % con respecto a la Amoxicilina Sódica.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Disolver el contenido del envase de Amoxicilina Sódica para Inyección en *Agua reactivo* para obtener una solución de aproximadamente 10 mg de amoxicilina por ml. Esta solución debe contener menos de 2,5 Unidades de Endotoxina por ml. Proceder según se indica en *Máxima dilución válida* calculando la concentración de esta solución a partir de la sensibilidad del lisado declarada en el rótulo.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Solución A, Solución B y Fase móvil - Proceder según se indica en *Valoración en Amoxicilina Sódica*.

Preparación estándar - Preparar una solución de Amoxicilina SR-FA en *Fase móvil* de aproximadamente 0,7 mg por ml.

Preparación muestra - Transferir el contenido de no menos de diez envases de Amoxicilina Sódica para Inyección a un recipiente apropiado y mezclar. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 60 mg de amoxicilina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 80 ml de *Solución A* y agitar durante 15 minutos. Sonicar durante 1 minuto, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución de resolución - Preparar una solución de *Cefadroxilo* y Amoxicilina SR-FA en *Solución A* de aproximadamente 4 y 30 μg por ml, respectivamente.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de amoxicilina y cefadroxilo no debe ser menor de 2,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 μl) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ en Amoxicilina Sódica para Inyección, de acuerdo a la cantidad declarada.

AMPICILINA COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Ampicilina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Ampicilina Trihidrato SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice, de 0,25 mm de espesor.

Diluyente - Preparar una solución de edetato de sodio al 0,1 % en una solución de fosfato monobásico de sodio al 5 %.

Fase móvil - Acetato de *n*-butilo, ácido acético glacial, *Diluyente* y butanol (50:30:10:5).

Solución estándar - Pesar exactamente una cantidad de Ampicilina Trihidrato SR-FA y disolver en solución reguladora de fosfato pH 7,0 (ver *Soluciones reguladoras* en *Reactivos y Soluciones*) para obtener una solución de aproximadamente 1,4 mg por ml.

Solución muestra - Pesar una cantidad equivalente a 125 mg de ampicilina a partir del polvo fino obtenido en *Preparación muestra* en *Valoración*. Transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 70 ml de solución reguladora de fosfato pH 7,0 (ver *Soluciones reguladoras* en *Reactivos y Soluciones*), agitar durante 15 minutos, completar a volumen con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 1,25 mg por ml y filtrar.

Revelador - Mucílago de almidón, ácido acético glacial y solución de iodo al 1 % en solución de ioduro de potasio al 4 % (100:6:2).

Procedimiento - Pulverizar sobre la placa con *Diluyente*, dejar secar al aire y calentar a 105 °C durante 1 hora. Aplicar por separado sobre la placa 1 µl de la *Solución estándar* y 1 µl de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Calentar a 105 °C entre 10 y 15 minutos y pulverizar sobre la placa con *Revelador*: el valor de

R_f de la mancha principal obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

B - Pesar una cantidad equivalente a 10 mg de ampicilina a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*. Suspender en 1 ml de agua y agregar 2 ml de una mezcla de 2 ml de tartrato cúprico alcalino (SR) y 6 ml de agua: se debe producir inmediatamente un color violeta magenta.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Solución reguladora de sulfato cúprico pH 5,2 - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Pesar exactamente una cantidad de Ampicilina Trihidrato SR-FA, equivalente a 14 mg de ampicilina, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver con agua, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, para obtener una *Solución muestra* de concentración similar a la *Solución estándar*. Transferir a sendas probetas de 25 ml con tapón, 2,0 ml de *Solución estándar*, 2,0 ml de *Solución muestra* y 2,0 ml de agua para emplear como blanco, completar a volumen con *Solución reguladora de sulfato cúprico pH 5,2* y mezclar. Calentar en un baño de agua a 75 °C, durante 30 minutos, enfriar rápidamente a temperatura ambiente y, si fuera necesario, completar a volumen con agua. Determinar las absorbancias de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, a 320 nm. Calcular la cantidad de $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ disuelto.

Tolerancia - No menos de 75 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Solución reguladora de sulfato cúprico pH 5,2 - Disolver 15,22 g de fosfato dibásico de sodio anhidro en cantidad suficiente de agua para obtener 536 ml y agregar aproximadamente 460 ml de una solución de ácido cítrico al 2,1 % para obtener una

solución con pH entre 5,15 y 5,25. Mezclar 985 ml de la solución resultante con 15 ml de una solución de sulfato cúprico al 0,393 %.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Ampicilina. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 100 mg de ampicilina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua, agitar durante 15 minutos y filtrar. Diluir 2,0 ml de esta solución a 100 ml con *Solución reguladora de sulfato cúprico pH 5,2*. Transferir 10 ml de esta solución a un tubo de ensayo con tapón y calentar en un baño de agua a 75 °C durante aproximadamente 30 minutos. Enfriar inmediatamente a temperatura ambiente, ajustar el volumen, si fuera necesario, a 10 ml con agua.

Preparación estándar - Proceder según se indica en *Preparación muestra* pero empleando 120 mg de Ampicilina Trihidrato SR-FA.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, 320 nm, con un espectrofotómetro, empleando la *Solución de sulfato cúprico pH 5,2*, sin calentar, como blanco. Calcular la cantidad de $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ en los Comprimidos de Ampicilina, de acuerdo a la cantidad declarada.

ROTULADO

Indicar en el rótulo la cantidad de Ampicilina Anhidra.

AMPICILINA

PARA SUSPENSIÓN ORAL

Definición - Ampicilina para Suspensión Oral debe contener una cantidad de *Ampicilina* equivalente a no menos de 90,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, cuando es reconstituida según se indica en el rótulo y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Ampicilina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetona, agua, tolueno y ácido acético glacial (650:100:100:25).

Diluyente - Acetona y ácido clorhídrico 0,01 N (4:1).

Solución estándar - Pesar exactamente una cantidad de Ampicilina SR-FA y disolver en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 5 mg por ml.

Solución muestra - Transferir un volumen exactamente medido de Ampicilina para Suspensión Oral a un recipiente apropiado y mezclar con *Diluyente* para obtener una solución de 5 mg por ml.

Revelador - Ninhidrina en alcohol 3 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 2 μ l de la *Solución estándar* y 2 μ l de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y secar a 90 °C durante 15 minutos: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Uniformidad de unidades de dosificación
<740>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 5,0 y 7,5, determinado sobre la suspensión reconstituida según se indica en el rótulo.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 2,5 % para ampicilina anhidra o no más de 5,0 % para ampicilina trihidrato, que contenga el equivalente a 100 mg de ampicilina por ml cuando se reconstituye según se indica en el rótulo.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Preparación estándar - Preparar según se indica en *Solución estándar* en 760. *Valoración iodométrica de antibióticos betalactámicos*, empleando Ampicilina SR-FA.

Preparación muestra - Diluir un volumen exactamente medido de Ampicilina para Suspensión Oral, reconstituida según se indica en el rótulo, recientemente mezclada y libre de burbujas, cuantitativamente y en etapas, en agua para obtener una solución de aproximadamente 1,25 mg por ml.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* en 760 *Valoración iodométrica de antibióticos betalactámicos*. Calcular la cantidad de $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ en la Ampicilina para Suspensión Oral reconstituida, de acuerdo a la cantidad declarada.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si la Ampicilina es anhidra o trihidrato.

AMPICILINA SÓDICA

PARA INYECCIÓN

Definición - La Ampicilina Sódica para Inyección debe contener no menos del 90,0 por ciento y no más del 115,0 por ciento de la cantidad declarada de ampicilina ($C_{16}H_{19}N_3O_4S$) y debe cumplir con las siguientes especificaciones. .

Sustancia de referencia - Ampicilina Sódica SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de vidrio tipo I.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión.*

B - Debe responder a los ensayos para Sodio <410>.

C - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Cristalinidad

Proceder según se indica en *Ampicilina Sódica*.

Determinación del pH <250>

Proceder según se indica en *Ampicilina Sódica*.

Determinación de agua <120>

Proceder según se indica en *Ampicilina Sódica*.

Disolución completa <280>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 0,15 Unidades de Endotoxina por mg de Ampicilina.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Diluyente, Preparación estándar, Solución de resolución y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Transferir a recipientes individuales la *Preparación muestra 1* o la *Preparación muestra 2* preparadas según se indica en *Valoración*, o ambas cuando sea apropiado.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración*.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Diluyente, Solución de resolución y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración* en *Ampicilina*.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Ampicilina Sódica SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml. Agitar y sonicar, si fuera necesario, hasta disolver.

Preparación muestra 1 (cuando está contenida en un envase monodosis) - Reconstituir la Ampicilina Sódica para Inyección en un volumen exactamente medido de *Diluyente*, correspondiente al volumen de solvente especificado en el rótulo. Retirar todo el contenido extraíble y diluir con *Diluyente* hasta obtener una solución de aproximadamente 1 mg de ampicilina por ml. [NOTA: preparar esta solución en el momento de su uso.]

Preparación muestra 2 (cuando en el rótulo se declara la cantidad de ampicilina en un volumen dado de solución reconstituida) - Reconstituir un envase de Ampicilina Sódica para Inyección en un volumen exactamente medido de *Diluyente*, correspondiente al volumen de solvente especificado en el rótulo. Diluir una porción exactamente medida de la solución reconstituida con *Diluyente* hasta obtener una solución de aproximadamente 1 mg de ampicilina por ml. [NOTA: preparar esta solución en el momento de su uso.]

Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración* en *Ampicilina*. Calcular la cantidad de $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ en Ampicilina Sódica para Inyección, de acuerdo a la cantidad declarada.

ASCÓRBICO, ÁCIDO COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Ácido Ascórbico deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_6H_8O_6$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Ácido Ascórbico SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Reducir a polvo fino los Comprimidos de Ácido Ascórbico, triturarlos con suficiente alcohol diluido para obtener una solución de ácido ascórbico de aproximadamente 1 en 50, filtrar y proceder según los ensayos siguientes. Una porción del filtrado debe responder al ensayo de *Identificación B* en *Ácido Ascórbico*. [NOTA: retener el resto del filtrado obtenido para los ensayos de *Identificación B* y *C*.]

B - A 2 ml del filtrado obtenido en *Identificación A*, agregar 4 gotas de azul de metileno (SR) y calentar a 40 °C: el color azul profundo se debe aclarar notoriamente o desaparecer completamente dentro de los 3 minutos.

C - A 1 ml del filtrado obtenido en *Identificación A*, agregar 15 ml de una solución de ácido tricloroacético al 5 %, agregar alrededor de 200 mg de carbón activado, agitar vigorosamente durante 1 minuto y filtrar para clarificar. A 5 ml del filtrado, agregar 1 gota de pirrol y agitar suavemente hasta disolver, luego calentar en un baño de agua a 50 °C: se debe desarrollar color azul.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Procedimiento - Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario y determinar la cantidad disuelta de $C_6H_8O_6$ procediendo según se indica en *Valoración*, comenzando donde dice "...Transferir una alícuota de esta solución a un tubo de centrifuga...".

Tolerancia - No menos de 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_6H_8O_6$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Ácido metafosfórico-acético - Disolver 15 g de ácido metafosfórico en 40 ml de ácido acético glacial. Diluir a 500 ml con agua. [NOTA: mantener esta solución en un sitio frío y emplear dentro de los dos días de preparada.]

Solución de 2,6-diclorofenol-indofenol - A 50 mg de 2,6-diclorofenol-indofenol sódico, conservado en un desecador sobre cal sodada, agregar 50 ml de agua a la que se ha agregado 42 mg de bicarbonato de sodio. Agitar vigorosamente y una vez que el colorante se disolvió por completo, diluir a 200 ml con agua. Filtrar y transferir a un recipiente de color caramelo con tapón de vidrio. [NOTA: emplear dentro de los dos días de preparada. Estandarizar inmediatamente antes de su uso según se indica en *Estandarización de la Solución de 2,6-diclorofenol-indofenol*.]

Estandarización de la Solución de 2,6-diclorofenol-indofenol - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Ácido Ascórbico SR-FA, previamente secado en un desecador durante 24 horas, y transferir a un matraz aforado de 50 ml con tapón de vidrio. Disolver y completar a volumen con *Ácido metafosfórico-acético*. Transferir de inmediato 2,0 ml de esta solución a un erlenmeyer de 50 ml que contenga 5 ml de *Ácido metafosfórico-acético* y titular rápidamente con la *Solución de 2,6-diclorofenol-indofenol* a estandarizar, hasta punto final rosado nítido que persista durante al menos 5 segundos. Realizar una determinación con un blanco preparado a partir de 7 ml de *Ácido metafosfórico-acético* y un volumen de agua igual al volumen de *Solución de 2,6-diclorofenol-indofenol* empleado para titular el Ácido Ascórbico SR-FA. Expresar la concentración de la *Solución de 2,6-diclorofenol-indofenol* como su equivalente en mg de ácido ascórbico.

Procedimiento - Transferir no menos de veinte Comprimidos de Ácido Ascórbico a un matraz aforado de 1 litro que contenga 250 ml de *Ácido metafosfórico-acético*. Tapar y agitar durante 30 minutos o hasta que los comprimidos se hayan desintegrado completamente. Completar a volumen con agua y mezclar. Transferir una alícuota de esta solución a un tubo de centrifuga y centrifugar hasta obtener una solución sobrenadante transparente. Diluir cuantitativamente el sobrenadante con agua, si fuera necesario, hasta obtener una solución de aproximadamente 500 µg de ácido ascórbico por ml. Transferir 4,0 ml de esta solución, equivalente a 2 mg de ácido ascórbico

co, a un erlenmeyer de 50 ml, agregar 5 ml de *Ácido metafosfórico-acético* y titular con *Solución de 2,6-diclorofenol-indofenol* hasta obtener un color rosado nítido que persista durante al menos 5 segundos. Corregir por el volumen de *Solución de 2,6-diclorofenol-indofenol* consumido por un blanco preparado a partir de 5,5 ml de *Ácido metafosfórico-acético* y 15 ml de agua. Calcular el contenido de $C_6H_8O_6$ en los Comprimidos de Ácido Ascórbico, a partir del equivalente de ácido ascórbico obtenido según se indica en *Estandarización de la Solución de 2,6-diclorofenol-indofenol*.

ASCÓRBICO, ÁCIDO POLVO

Definición - El polvo de Ácido Ascórbico debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_6H_8O_6$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Ácido Ascórbico SR-FA

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Pesar exactamente una cantidad del Polvo de Ácido Ascórbico, equivalente a 500 mg de ácido ascórbico, transferir a un recipiente apropiado, agregar 30 ml de agua, agitar durante 1 minuto y filtrar. Transferir 5,0 ml del filtrado a un erlenmeyer, agregar una gota de permanganato de potasio (SR) o una gota de 2,6-diclorofenol-indofenol sódico (SR): el color de la solución debe desaparecer inmediatamente.

B - Pesar exactamente una cantidad del Polvo de Ácido Ascórbico, equivalente a 10 mg de ácido ascórbico, transferir a un recipiente apropiado, agregar 10 ml de una solución de ácido metafosfórico (1 en 50), agitar durante 1 minuto y filtrar. Transferir 5 ml del filtrado a un erlenmeyer, agregar Iodo (SR) hasta que el color de la solución sea amarillo pálido. Luego agregar una gota de una solución de sulfato cúprico (1 en 1.000) y una gota de pirrol. Calentar la mezcla a 50 °C durante 5 minutos: se debe desarrollar color azul.

Pureza

El Polvo de Ácido Ascórbico debe encontrarse libre de cualquier olor y gusto rancio o desagradable.

VALORACIÓN

Ácido metafosfórico-ácido acético, Solución de 2,6-diclorofeno-indofenol, Estandarización de la Solución de 2,6-diclorofenol-indofenol - Proceder según se indica en Comprimidos de Ácido Ascórbico.

Procedimiento - Pesar exactamente una cantidad del Polvo de Ácido Ascórbico, equivalente a 100 mg de ácido ascórbico, extraer con sucesivas porciones de *Ácido metafosfórico-ácido acético*, combinar los extractos y filtrar. Lavar el residuo con *Ácido metafosfórico-ácido acético*. Combinar filtrados y lavados y diluir a un volumen de 200 ml con el mismo solvente. Proceder según se indica en *Procedimiento en Comprimidos de Ácido Ascórbico*

comenzando donde dice: “Transferir 4,0 ml de esta solución...”. Calcular el contenido de $C_6H_8O_6$ en el Polvo de Ácido Ascórbico, a partir del equivalente de ácido ascórbico obtenido según se indica en *Estandarización de la Solución de 2,6-diclorofenol-indofenol*

ASCÓRBICO, ÁCIDO

SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Ácido Ascórbico es una solución estéril de *Ácido Ascórbico* en *Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_6H_8O_6$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Ácido Ascórbico SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos monodosis de vidrio Tipo I o Tipo II.

ENSAYOS

Identificación

A - A un volumen de la Solución Inyectable de Ácido Ascórbico, equivalente a 40 mg de ácido ascórbico, agregar 4 ml de ácido clorhídrico 0,1 N, 4 gotas de azul de metileno (SR) y calentar a 40 °C: el color azul se debe aclarar notoriamente o desaparecer por completo dentro de un período de 3 minutos.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

C - Debe responder al ensayo de la llama para *Sodio* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 5,5 y 7,0.

Limite de oxalato

Diluir un volumen de la Solución Inyectable de Ácido Ascórbico, equivalente a 50 mg de ácido ascórbico, a 5 ml con agua. Agregar 0,2 ml de ácido acético y 0,5 ml de cloruro de calcio (SR): no se debe producir turbidez en 1 minuto.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 1,2 Unidades de Endotoxina por mg de Ácido Ascórbico.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 245 nm y una columna de 15,0 cm × 6 mm con fase estacionaria constituida por gel polihidroximetacrilato hidrofílico. El caudal debe ser aproximadamente 0,6 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 15,6 g de fosfato dibásico de sodio y 12,2 g de fosfato monobásico de potasio en 2 litros de agua, ajustar a pH $2,50 \pm 0,05$ con ácido fosfórico. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Ácido Ascórbico SR-FA en *Fase móvil* y mezclar hasta obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg por ml. [NOTA: refrigerar y almacenar esta solución protegida de la luz hasta el momento de su uso. Preparar en el día de su uso e inyectar dentro de las 3 horas siguientes de sacar la solución del refrigerador].

Preparación muestra - Diluir cuantitativamente y en etapas si fuera necesario, la Solución Inyectable de Ácido Ascórbico con *Fase móvil* hasta obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg por ml. [NOTA: refrigerar y almacenar esta solución protegida de la luz hasta el momento de su uso. Preparar en el día de su uso e inyectar dentro de las 3 horas siguientes de sacar la solución del refrigerador].

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 3.500 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 1,6; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,5 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 4 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_6H_8O_6$ en la Solución Inyectable de Ácido Ascórbico, de acuerdo a la cantidad declarada.

ROTULADO

Indicar en el rótulo que los envases cerrados a la llama de las Soluciones Inyectables de Ácido Ascórbico con concentraciones de 250 mg por ml o mayores deben envolverse con una cubierta protectora antes de abrirlo, dado que la presión interna puede aumentar durante períodos de almacenamiento prolongados.

ASPIRINA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Aspirina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_9H_8O_4$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Aspirina SR-FA.
Ácido Salicílico SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Reducir a polvo fino un Comprimido de Aspirina, calentar a ebullición con 50 ml de agua durante 5 minutos, enfriar y agregar 1 ó 2 gotas de cloruro férrico (SR): se debe desarrollar un color rojo violáceo.

B - Pesar una cantidad equivalente a 500 mg de aspirina a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación madre de la muestra* en *Valoración*. Transferir a un recipiente apropiado, agregar 10 ml de alcohol y mezclar durante varios minutos. Centrifugar la mezcla, transferir el líquido sobrenadante transparente a un erlenmeyer y evaporar hasta sequedad. Secar el residuo al vacío a 60 °C durante 1 hora: debe responder al ensayo de *Identificación A* en *Aspirina*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 50 rpm.

Medio: solución reguladora de acetato 0,05 M, preparada mezclando 2,99 g de acetato de sodio trihidrato y 1,66 ml de ácido acético glacial con agua para obtener 1 litro de una solución de pH $4,50 \pm 0,05$; 500 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario y determinar la cantidad de $C_9H_8O_4$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta a la longitud de onda del punto isobéptico de la aspirina y del ácido salicílico, 265 ± 2 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Aspirina SR-FA, en el mismo medio. [NOTA: preparar la *Solución estándar* en el momento de su uso. Puede emplearse una cantidad de alcohol que no exceda el 1 % del volumen total de la *Solución estándar* para disolver la sustancia de referencia antes de diluirla con *Medio*].

Tolerancia - No menos de 80 % (Q) de la cantidad declarada de $C_9H_8O_4$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Límite de ácido salicílico libre

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Diluyente - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Ácido Salicílico SR-FA en una porción de la *Preparación estándar* empleada en la *Valoración*, para obtener una solución de aproximadamente 0,015 mg de ácido salicílico por ml.

Solución muestra - Emplear la *Preparación madre de la muestra* preparada en *Valoración*.

Aptitud del sistema - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos, según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,7 para ácido salicílico y 1,0 para aspirina; la resolución *R* entre los picos de ácido salicílico y aspirina no debe ser menor de 2,0; la desviación estándar relativa de las respuestas de los picos de ácido salicílico no debe ser mayor de 4,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el porcentaje de ácido salicílico ($C_7H_6O_3$) en los Comprimidos de Aspirina, en relación a las respuestas de los picos de ácido salicílico obtenidos a partir de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. No debe contener más de 0,3 %.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 30 cm \times 4,0 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unida a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 2 g de 1-heptanosulfonato de sodio en una mezcla de 850 ml de agua y 150 ml de acetonitrilo y ajustar a pH 3,4 con ácido acético glacial. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Acetonitrilo y ácido fórmico (99:1).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Aspirina SR-FA en *Diluyen-*

te para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg por ml.

Preparación madre de la muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Aspirina. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 100 mg de aspirina, transferir a un erlenmeyer, agregar 20,0 ml de *Diluyente* y aproximadamente 10 perlas de vidrio. Agitar durante 10 minutos y centrifugar.

Preparación muestra - Diluir cuantitativamente 1 volumen exactamente medido de *Preparación madre de la muestra* con 9 volúmenes de *Diluyente*. Retener la porción remanente de la *Preparación madre de la muestra* para el ensayo *Límite de ácido salicílico*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_9H_8O_4$ en los Comprimidos de Aspirina, de acuerdo a la cantidad declarada.

ATENOLOL

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Atenolol deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{14}H_{22}N_2O_3$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Atenolol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Pesar y reducir a polvo fino tres Comprimidos de Atenolol. Pesar una cantidad equivalente a 100 mg de atenolol, mezclar con 15 ml de metanol, calentar la mezcla a 50 °C y agitar durante 5 minutos. Filtrar y evaporar el filtrado en un baño de agua hasta sequedad. Agregar al residuo 10 ml de ácido clorhídrico 0,1 N, calentar la solución, agitar y filtrar. Agregar al filtrado suficiente hidróxido de sodio 1 N para alcalinizar, realizar una extracción con 10 ml de cloroformo y secar el extracto clorofórmico sobre sulfato de sodio anhidro. Filtrar la solución clorofórmica, evaporar el filtrado en un baño de agua hasta sequedad y secar el residuo a 105 °C durante 1 hora.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: solución reguladora de acetato 0,1 N pH 4,6, preparada mezclando una solución de ácido acético 0,1 N y acetato de sodio 0,1 N (55:45); 900 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y determinar la cantidad de $C_{14}H_{22}N_2O_3$ disuelto empleando la técnica siguiente.

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Atenolol SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,01 mg por ml.

Solución muestra - Diluir un volumen exactamente medido de cada alícuota filtrada con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,01 mg de atenolol por ml.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración*.

Tolerancia - No menos de 80 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{14}H_{22}N_2O_3$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 226 nm y una columna de 30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 0,6 ml por minuto.

Fase Móvil - Disolver 1,1 g de 1-heptanosulfonato de sodio y 0,71 g de fosfato dibásico de sodio anhidro en 700 ml de agua. Agregar 2 ml de dibutilamina y ajustar a pH 3,0 con ácido fosfórico 0,8 M. Agregar 300 ml de metanol y mezclar. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Atenolol SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,01 mg por ml.

Preparación muestra - Transferir diez Comprimidos de Atenolol a un matraz aforado de 1 litro. Agregar 500 ml de *Fase móvil* y sonicar durante 15 minutos hasta desintegrar los Comprimidos de Atenolol. Completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Centrifugar una porción de esta mezcla y diluir con *Fase móvil* un volumen exactamente medido del líquido sobrenadante para obtener una solución de aproximadamente 0,01 mg de atenolol por ml.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 5.000 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación

estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{14}H_{22}N_2O_3$ en los Comprimidos de Atenolol, de acuerdo a la cantidad declarada.

ATROPINA, SULFATO DE

SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Sulfato de Atropina es una solución estéril de *Sulfato de Atropina en Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 93,0 por ciento y no más de 107,0 por ciento de la cantidad declarada de $(C_{17}H_{23}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot H_2O$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Sulfato de Atropina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis o multidosis, de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Evaporar una porción de la Solución Inyectable de Sulfato de Atropina hasta sequedad: debe responder a los ensayos para Sulfatos <410>.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 3,0 y 6,5.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 55,6 Unidades de Endotoxina por mg de Sulfato de Atropina.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2 ml por minuto.

Solución reguladora de acético-acetato - Preparar una solución en agua que contenga 0,05 moles de acetato de sodio y 2,9 ml de ácido acético glacial por litro.

Fase móvil - Transferir 5,1 g de sulfato ácido de tetrabutilamonio a un matraz aforado de 1 litro, agregar 50 ml de acetonitrilo y completar a volumen con *Solución reguladora de acético-acetato*. Ajustar a pH $5,5 \pm 0,1$ con hidróxido de sodio 5 N. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Sulfato de Atropina SR-FA en agua y diluir cuantitativamente con agua para obtener una solución de aproximadamente 80 μg por ml.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Sulfato de Atropina, equivalente a 2 mg de sulfato de atropina, a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución de resolución - Preparar una solución de aproximadamente 2,5 μg de ácido *p*-hidroxibenzoico por ml de agua. Diluir un volumen de esta solución con cuatro volúmenes de la *Preparación estándar*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,5 %. Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos para la atropina y para el ácido *p*-hidroxibenzoico deben ser aproximadamente 1,0 y 1,6, respectivamente; la resolución *R* entre los picos del ácido *p*-hidroxibenzoico y la atropina no debe ser menor de 2,2.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 100 μl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $(C_{17}H_{23}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot H_2O$ en la Solución Inyectable de Sulfato de Atropina, de acuerdo a la cantidad declarada.

ATROPINA, SULFATO DE

SOLUCIÓN OFTÁLMICA

Definición - La Solución Oftálmica de Atropina es una solución acuosa estéril de *Sulfato de Atropina*, conteniendo agentes antimicrobianos apropiados. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $(C_{17}H_{23}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot H_2O$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Sulfato de Atropina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Evaporar una porción de la Solución Oftálmica de Sulfato de Atropina hasta sequedad: debe responder a los ensayos para *Sulfatos* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 3,5 y 6,0.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 257 nm y una columna de 10 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Preparar una solución de acetato de sodio 0,01M y docusato de sodio 0,05 M en metanol al 60 % y ajustar a pH 5,5 con ácido acético glacial. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Sulfato de Atropina SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Oftálmica de Sulfato de Atropina a un recipiente apropiado y diluir con agua, si fuera necesario, para obtener una

solución de aproximadamente 1 mg de sulfato de atropina por ml

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $(C_{17}H_{23}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot H_2O$ en la Solución Oftálmica de Sulfato de Atropina, de acuerdo a la cantidad declarada.

ROTULADO

En el rótulo debe figurar la siguiente leyenda: “Descartar una vez finalizado el tratamiento”.

BARIO, SULFATO DE PARA SUSPENSIÓN ORAL

Valoración en Sulfato de Bario comenzando donde dice: “Enfriar, colocar el crisol en un vaso de precipitados de 400 ml”.

Definición - Sulfato de Bario para Suspensión Oral es una mezcla de polvos conteniendo *Sulfato de Bario*, uno o más agentes dispersantes y/o agentes de suspensión. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de BaSO₄ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Someter a ignición 1,0 g de Sulfato de Bario para Suspensión Oral hasta peso constante: el residuo obtenido debe responder a los *Ensayos de Identificación A y B* en *Sulfato de Bario*.

Determinación del pH <250>

Entre 3,5 y 10,0, determinado en una suspensión acuosa al 60 % p/p, o en la suspensión reconstituida según se indica en el rótulo.

Pérdida por secado <680>

Secar a 105 °C durante 4 horas: no debe perder mas de 1,0 % de su peso.

VALORACIÓN

Pesar exactamente una cantidad de Sulfato de Bario para Suspensión Oral, equivalente a 600 mg de sulfato de bario, en un crisol de platino previamente pesado y someter a ignición bajo una llama suave hasta que toda la materia orgánica se carbonice. Enfriar, agregar cuidadosamente 0,5 ml de ácido nítrico, 0,5 ml de ácido sulfúrico y continuar la ignición bajo llama suave hasta que el residuo presente un color gris. Luego someter a ignición calentando en un mechero a altas temperaturas. Dejar reposar hasta temperatura ambiente.

[NOTA: si la muestra contiene un silicato, como bentonita, agregar 10 ml de agua y 1 ml de ácido sulfúrico al residuo en el crisol, mezclar y agregar 10 ml de ácido fluorhídrico. Calentar suavemente hasta que se produzcan vapores de trióxido de azufre, agregar 5 ml mas de ácido fluorhídrico, calentar nuevamente bajo llama suave hasta la aparición de vapores densos y continuar calentando hasta que el ácido sulfúrico se haya volatilizado por completo. Dejar enfriar].

Agregar al crisol de platino 10 g de carbonato de sodio anhidro, mezclar con las cenizas hasta obtener una fusión clara y calentar durante 30 minutos adicionales. Proceder según se indica en

BARIO, SULFATO DE SUSPENSIÓN ORAL

Definición - La Suspensión Oral de Sulfato de Bario debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $BaSO_4$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto. Evitar el congelamiento.

ENSAYOS

Identificación

Agitar la Suspensión Oral de Sulfato de Bario, transferir un volumen equivalente a 500 mg de sulfato de bario a un recipiente apropiado y someter a ignición hasta peso constante: el residuo obtenido debe responder a los *Ensayos de Identificación A y B* en *Sulfato de bario*

Determinación del pH<250>

Entre 3,5 y 10,0.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

El recuento total bacteriano no debe ser mayor de 100 ufc por ml, el recuento total combinado de hongos y levaduras no debe ser mayor de 10 ufc por ml y debe cumplir con los requisitos para los ensayos de ausencia de *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

VALORACIÓN

Agitar la Suspensión Oral de Sulfato de Bario, transferir un volumen equivalente a 600 mg de sulfato de bario a un crisol de platino previamente pesado y someter a ignición calentando suavemente hasta que toda materia orgánica se carbonice. Enfriar, agregar cuidadosamente 0,5 ml de ácido nítrico y 0,5 ml de ácido sulfúrico y continuar la ignición con llama suave hasta que el residuo presente un color gris. Luego someter a ignición calentando en un mechero a altas temperaturas. Dejar reposar hasta que alcance la temperatura ambiente.

[NOTA: si la muestra contiene un silicato como bentonita, agregar 10 ml de agua y 1 ml de ácido sulfúrico al residuo en el crisol, mezclar y agregar 10 ml de ácido fluorhídrico. Calentar suavemente hasta que se produzcan vapores de trióxido de azufre. Agregar 5 ml más de ácido fluorhídrico, calentar nuevamente bajo llama suave hasta la aparición de vapores densos y continuar calentando hasta que el ácido sulfúrico se haya volatilizado por completo. Dejar enfriar. Si la muestra no contiene

un silicato, omitir el tratamiento con los ácidos fluorhídrico y sulfúrico].

Agregar al crisol 10 g de carbonato de sodio anhidro y mezclar. Fundir la mezcla sobre un mechero y calentar durante 30 minutos adicionales. Proceder según se indica en *Valoración en Sulfato de Bario* comenzando donde dice: “Enfriar, colocar el crisol en un vaso de precipitados de 400 ml...”

BENCILO, BENZOATO DE EMULSIÓN DÉRMICA

Definición - La Emulsión Dérmica de Benzoato de Bencilo debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{14}H_{12}O_2$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Evaporar hasta un volumen de aproximadamente 25 ml la solución obtenida en *Valoración* y filtrar. Transferir 5 ml de la solución anterior a un tubo de ensayo, acidificar ligeramente con ácido clorhídrico 3 N y agregar unas gotas de cloruro férrico (SR): se debe desarrollar un precipitado rosado.

B - Transferir 5 ml de la solución obtenida en el ensayo de *Identificación A* a un tubo de ensayo, agregar 2 ml de ácido clorhídrico 3 N, mezclar y filtrar. Lavar el precipitado presente en el filtro con diez porciones de 1 ml de agua y secar a 60 °C con ayuda de vacío. Determinar el punto de fusión del ácido benzoico así obtenido: debe estar comprendido entre 121 y 123 °C.

Determinación del pH <250>

Entre 8,5 y 9,2.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Transferir una porción de la Emulsión Dérmica de Benzoato de Bencilo, equivalente a 1,5 g de benzoato de bencilo, a un erlenmeyer. Agregar 25 ml de etanol y dos gotas de fenolftaleína (SR), enfriar a 15 °C y neutralizar con hidróxido de sodio 0,1 N hasta obtener una coloración ligeramente rosada. Agregar 25,0 ml de hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N (SV) exactamente medidos y someter a ebullición a reflujo durante una hora. Enfriar, agregar fenolftaleína (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,5 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N equivale a 106,1 mg de $C_{14}H_{12}O_2$.

BENCILPENICILINA BENZATINA

SUSPENSIÓN INYECTABLE

Definición - La Suspensión Inyectable de Bencilpenicilina Benzatina es una suspensión estéril de *Bencilpenicilina Benzatina* en *Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 115,0 por ciento de la cantidad declarada de penicilina y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Bencilpenicilina Benzatina SR-FA. Bencilpenicilina Potásica SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis o multidosis, de vidrio Tipo I o Tipo II, en un refrigerador.

ENSAYOS

Identificación

Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Metanol, acetonitrilo e hidróxido de amonio (70:30:3).

Solución estándar - Preparar una solución de Bencilpenicilina Benzatina SR-FA en metanol de aproximadamente 2,5 mg por ml.

Solución muestra - Mezclar una porción de la Suspensión Inyectable de Bencilpenicilina Benzatina con metanol para obtener una solución de aproximadamente 3.000 Unidades de Bencilpenicilina por ml.

Revelador - Disolver 20 g de ácido tartárico y 1,7 g de subnitrito de bismuto en 80 ml de agua. A 50 ml de agua agregar 2,5 ml de esta solución, 2,5 ml de solución de yoduro de potasio (4 en 10), 10 g de ácido tartárico y mezclar.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 20 µl de la *Solución muestra* y 20 µl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*. Examinar los cromatogramas: el valor de R_f de la mancha principal obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 5,0 y 7,5.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 0,01 Unidades de Endotoxina cada 100 Unidades de Bencilpenicilina.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos según se indica en *Método de transferencia directa*, excepto que se debe emplear *Caldo de tioglicolato* y *Caldo digerido de Caseína-soja* que contenga solución de polisorbato 80 (1 en 200) y una cantidad suficiente de penicilinas estéril para inactivar la Bencilpenicilina de cada tubo y agitar los tubos una vez por día.

VALORACIÓN

Preparación estándar - Proceder según se indica en *Preparación estándar* en 760. *Valoración iodométrica de antibióticos betalactámicos*, empleando Bencilpenicilina Potásica SR-FA.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Suspensión Inyectable de Bencilpenicilina Benzatina, equivalente a 300.000 Unidades de Bencilpenicilina, a un recipiente apropiado y diluir cuantitativamente con hidróxido de sodio 1 N para obtener una solución de aproximadamente 2.000 Unidades de Bencilpenicilina por ml. Transferir 2,0 ml de esta solución a un erlenmeyer de 125 ml provisto de un tapón de vidrio.

Preparación blanco -. Transferir un volumen exactamente medido de la Suspensión Inyectable de Bencilpenicilina Benzatina, equivalente a 300.000 Unidades de Bencilpenicilina y diluir cuantitativamente con *Solución reguladora No. 1* para obtener una suspensión de aproximadamente 2.000 Unidades de Bencilpenicilina por ml. Transferir 2,0 ml de esta solución a un erlenmeyer de 125 ml provisto de un tapón de vidrio.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* en 760. *Valoración iodométrica de antibióticos betalactámicos*, pero al realizar la *Inactivación* y *Titulación* se debe omitir el agregado de hidróxido de sodio 1,0 N a la *Preparación muestra* y se debe realizar la *Titulación del blanco* empleando la *Preparación blanco* en lugar de la *Preparación muestra*. Calcular la cantidad en Unidades de Bencilpenicilina en cada ml de la Suspensión Inyectable de Bencilpenicilina Benzatina en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$(T/2D)(F)(B - I)$$

en la cual T es la cantidad declarada en Unidades de Bencilpenicilina por ml en la Suspensión Inyectable de Bencilpenicilina Benzatina en ensayo, y D es la concentración en Unidades de Bencilpenicilina por ml en la *Preparación muestra*, de acuerdo a la cantidad declarada en la Suspensión Inyectable de Bencilpenicilina Benzatina y la dilución efectuada.

BENZOÍLO, PERÓXIDO DE GEL TÓPICO

Definición - El Gel Tópico de Peróxido de Benzoílo es *Peróxido de Benzoílo* en un gel base apropiado. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 125,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{14}H_{10}O_4$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación del pH<250>

Entre 2,8 y 6,6.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 235 nm y una columna de 25 cm x 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,2 ml por minuto. El cromatógrafo debe programarse del siguiente modo:

Tiempo (minutos)	Solución A (%)	Solución B (%)	Elución
0	18	82	equilibrio
0-20	18→60	82→40	gradiente lineal
20-30	60	40	isocrática

Solución A - Acetonitrilo y ácido acético glacial (1000:1).

Solución B - Agua y ácido acético glacial (1000:1).

Fase móvil - Emplear mezclas variables de *Solución A* y *Solución B*, según se indica en *Sistema cromatográfico*. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de aptitud del sistema - Preparar una solución en acetonitrilo de aproximadamente 100 µg de ácido benzoico y 60 µg de metilparabeno por ml.

Solución estándar A - Disolver una cantidad exactamente pesada de ácido benzoico en acetonitrilo y diluir con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 500 µg por ml.

Solución estándar B - Disolver una cantidad exactamente pesada de benzoato de etilo en acetonitrilo y diluir con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 20 µg por ml.

Solución estándar C - Disolver una cantidad exactamente pesada de benzaldehído en acetonitrilo y diluir con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 20 µg por ml.

Solución estándar D - Disolver una cantidad exactamente pesada de *Peróxido de Benzoílo hidratado* en acetonitrilo y diluir con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 40 µg de peróxido de benzoílo anhidro por ml.

Solución muestra - Transferir una cantidad exactamente pesada del Gel Tópico de Peróxido de Benzoílo, equivalente a 100 mg de peróxido de benzoílo, a un matraz aforado de 50 ml, agregar 25 ml de acetonitrilo y agitar hasta dispersar. Sonicar durante 5 minutos, completar a volumen con el mismo solvente, mezclar y filtrar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de ácido benzoico y metilparabeno no debe ser menor de 2,0; los factores de asimetría para ambos picos no deben ser menores de 2,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de las *Soluciones estándar A, B, C y D* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. La respuesta de cualquier pico obtenido a partir de la *Solución muestra* correspondiente a ácido benzoico, benzoato de etilo y benzaldehído no debe ser mayor que las obtenidas a partir de la *Solución estándar A* (25 %), la *Solución estándar B* (1 %) y la *Solución estándar C* (1 %), respectivamente; la respuesta de cualquier otro pico, a excepción del pico principal de peróxido de benzoílo y de los picos de ácido benzoico, benzoato de etilo, benzaldehído, metilparabeno o propilparabeno y de todo pico de disolvente en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, no debe ser mayor que la respuesta del pico principal obtenido a partir de la *Solución estándar D* (2 %), y la suma de las respuestas de todos los picos distintos de ácido benzoico, benzoato de etilo y benzaldehído no debe ser mayor que la respuesta del pico de peróxido de

benzoílo obtenido a partir de la *Solución estándar D* (2 %).

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración tópica.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 235 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo y agua (5 en 10). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución del estándar interno - Disolver una cantidad necesaria de benzoato de etilo en acetonitrilo para obtener una solución de aproximadamente 3,6 mg por ml.

Preparación estándar - Transferir una cantidad apropiada de *Peróxido de Benzoílo Hidratado*, recientemente valorado, a un erlenmeyer previamente pesado con tapón y pesar nuevamente. Disolver cuantitativamente en acetonitrilo para obtener una solución de aproximadamente 0,8 mg de peróxido de benzoílo por ml. Transferir 10 ml de esta solución y 5 ml de la *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con acetonitrilo y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 0,32 mg de peróxido de benzoílo por ml.

Preparación muestra - Transferir una cantidad exactamente pesada del Gel Tópico de Peróxido de Benzoílo, equivalente a 40 mg de peróxido de benzoílo, a un matraz aforado de 50 ml, agregar 40 ml de acetonitrilo y agitar hasta dispersar. Sonicar durante 5 minutos, completar a volumen con el mismo solvente, mezclar y filtrar. Transferir 10 ml del filtrado y 5 ml de la *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con acetonitrilo y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar tres inyecciones repetidas de la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa de los cocientes entre el pico más bajo y más alto (R_E) de inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %; la resolución R entre los picos de benzoato de etilo y peróxido de benzoílo no debe ser menor de 2,0; los factores de

asimetría para los picos de benzoato de etilo y peróxido de benzoílo no deben ser menores de 2,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{14}H_{10}O_4$ en el Gel Tópico de Peróxido de Benzoílo, de acuerdo a la cantidad declarada.

BETAMETASONA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Betametasona deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{22}H_{29}FO_5$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Betametasona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto, entre 2 y 25°C.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación* muestra se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: agua; 900 ml. Agregar 1,0 ml de la *Solución del estándar interno* a cada vaso.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y determinar la cantidad de $C_{22}H_{29}FO_5$ disuelta mediante la siguiente técnica.

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol y agua (60:40). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Preparar una solución de Betametasona SR-FA en metanol de aproximadamente 0,5 mg por ml. Transferir 1 ml de esta solución a un recipiente apropiado y diluir cuantitativamente a 900 ml con agua.

Aptitud del sistema - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 3,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 200 µl) de la *Solución estándar* y las porciones

filtradas en ensayo. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos.

Tolerancia - No menos de 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{22}H_{29}FO_5$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido

Solución estándar - Preparar según se indica en *Preparación estándar* en 750. *Valoración de Esteroides*, empleando Betametasona SR-FA para obtener una solución de aproximadamente 12 µg por ml.

Solución muestra - Pesar y reducir a polvo fino un Comprimido de Betametasona. Transferir a una ampolla de decantación de 125 ml, agregar 20 ml de agua y agitar. Extraer con tres porciones de 15 ml de cloroformo, filtrar cada porción a través de una torunda de algodón previamente lavada con cloroformo, transferir a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con cloroformo y mezclar. Transferir 20,0 ml de esta solución a un erlenmeyer con tapón de vidrio de 50 ml, evaporar el cloroformo en un baño de vapor hasta sequedad, enfriar y disolver el residuo en 20,0 ml de alcohol.

Procedimiento - Proceder según se indica en 750. *Valoración de Esteroides*, dejando reposar a una temperatura constante de 45 ± 1 °C durante 90 minutos. Agregar 1,0 ml de ácido acético glacial y enfriar. Calcular la cantidad de $C_{22}H_{29}FO_5$ en cada Comprimido de Betametasona en ensayo, en base a la cantidad declarada.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol y agua (60:40). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100 *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Betametasona SR-FA en metanol y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 0,06 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Betame-

tasona. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 1,5 mg de betametasona, transferir a un matraz aforado de 25 ml, agregar 12,5 ml de metanol y sonicar durante 10 minutos. Agregar 5 ml de Fase móvil y agitar durante 10 minutos. Completar a volumen con el mismo solvente, centrifugar 10 minutos y filtrar el sobrenadante.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 15 μ l) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos. Calcular la cantidad de $C_{22}H_{29}FO_5$ en los Comprimidos de Betametasona, de acuerdo a la cantidad declarada.

BETAMETASONA

SOLUCIÓN ORAL

Definición - La Solución Oral de Betametasona debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{22}H_{29}FO_5$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia -
Betametasona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto, entre 2 y 25 °C. Evitar el congelamiento.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración* en *Betametasona*.

Preparación muestra - Medir exactamente un volumen de solución equivalente a alrededor de 5 mg de Betametasona y transferir a un matraz aforado de 25 ml. Agregar 15 ml de metanol y agitar 5 minutos y completar a volumen con metanol. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 25 ml y completar a volumen con Agua. Filtrar por membrana de 0,45 μ m.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* en *Valoración* en *Betametasona*. Calcular la cantidad de $C_{22}H_{29}FO_5$ en la Solución Oral de Betametasona, de acuerdo a la cantidad declarada.

BETAMETASONA, BENZOATO DE GEL TÓPICO

Definición - El Gel Tópico de Benzoato de Betametasona debe contener el equivalente a no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{29}H_{33}FO_6$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Benzoato de Betametasona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto. Evitar el congelamiento.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración tópica.

Determinación del contenido neto del envase <220>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 236 nm y una columna de 30 cm x 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. Mantener la columna aproximadamente a 30°C. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol, agua y acetonitrilo (23:18:9). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Benzoato de Betametasona SR-FA en metanol y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg por ml. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

Preparación muestra - Pesar exactamente una cantidad del Gel Tópico de Benzoato de Betametasona, equivalente a 0,5 mg de benzoato de betametasona, transferir a una ampolla de decantación, agregar 20 ml de agua, 2 ml de solución saturada de acetato de sodio, agitar hasta dispersar. Extraer esta solución con una porción de 50 ml de cloroformo, seguida de tres porciones de 40 ml del mismo solvente. Descartar la fase acuosa, lavar el extracto clorofórmico con 10 ml de agua y dejar reposar durante 10 minutos. Transferir a través de un papel de filtro conteniendo sulfato de sodio anhidro a un recipiente apropiado y evaporar al vacío hasta sequedad a 30 °C. Disolver el residuo en 10 ml de metanol.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos principales según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{29}H_{33}FO_6$ en la porción de Gel Tópico de Benzoato de Betametasona, de acuerdo a la cantidad declarada.

BETAMETASONA, DIPROPIONATO DE CREMA DÉRMICA

Definición - La Crema Dérmica de Dipropionato de Betametasona debe contener una cantidad de Dipropionato de Betametasona ($C_{28}H_{37}FO_7$) equivalente a no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de betametasona ($C_{22}H_{29}FO_5$) en una crema base apropiada y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Dipropionato de Betametasona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto. Evitar el congelamiento.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo y acetona (7:1).

Diluyente - Metanol y ácido clorhídrico diluido 1 en 120 (4:1).

Solución estándar - Disolver una porción de Dipropionato de Betametasona SR-FA en cloroformo para obtener una solución de aproximadamente 150 µg por ml.

Solución muestra - Transferir aproximadamente 1,5 g de la Crema Dérmica de Dipropionato de Betametasona a un tubo de centrífuga de 50 ml con tapón. Agregar 15 ml de *Diluyente* y agitar hasta obtener una mezcla homogénea. Agregar 30 ml de éter de petróleo, mezclar durante 10 minutos y centrifugar. Transferir la fase inferior acuosa a un segundo tubo de centrífuga, agregar 20 ml de agua y mezclar. Extraer esta mezcla acuosa con cloroformo mediante agitación, centrifugación y remoción de la fase inferior clorofórmica. Evaporar en un baño de vapor con la ayuda de una corriente de nitrógeno hasta sequedad, dejar en reposo hasta alcanzar temperatura ambiente y disolver el residuo en cloroformo para obtener una solución de

aproximadamente 150 µg de dipropionato de betametasona por ml.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 40 µl de la *Solución muestra* y 40 µl de *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración tópica.

Determinación del contenido neto del envase <220>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Diluyente y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Dipropionato de Betametasona*.

Preparación estándar - Disolver una cantidad necesaria de Dipropionato de Betametasona SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,133 mg de dipropionato de betametasona por ml.

Preparación muestra - Transferir una cantidad exactamente pesada de la Crema Dérmica de Dipropionato de Betametasona, equivalente a 2 mg de dipropionato de betametasona, a un tubo de centrífuga de 50 ml, agregar 15,0 ml de *Diluyente*. Calentar en baño de agua a 60 °C con agitación hasta la fusión de la muestra en ensayo. Remover del baño y agitar hasta que vuelva a solidificar. Repetir calentamiento y agitación. Congelar en baño de hielo-metanol durante 15 minutos, centrifugar durante 5 minutos y transferir a otro recipiente.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración en Dipropionato de Betametasona*. Calcular la cantidad de $C_{22}H_{29}FO_5$ en la Crema Dérmica de Dipropionato de Betametasona, de acuerdo a la cantidad declarada.

BETAMETASONA, DIPROPIONATO DE LOCIÓN

Definición - La Loción de Dipropionato de Betametasona debe contener una cantidad de Dipropionato de Betametasona ($C_{28}H_{37}FO_7$) equivalente a no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de betametasona ($C_{22}H_{29}FO_5$) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Dipropionato de Betametasona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto. Evitar el congelamiento.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo y acetona (7:1).

Solución estándar - Disolver una porción de Dipropionato de Betametasona SR-FA en cloroformo para obtener una solución de aproximadamente 150 µg por ml.

Solución muestra - Transferir una cantidad de Loción de Dipropionato de Betametasona, equivalente a 0,6 mg dipropionato de betametasona, a un recipiente de 50 ml. Agregar 10 ml de ácido clorhídrico 0,1 N, 4 ml de cloroformo y dispersar durante 1 minuto. Agitar vigorosamente durante 10 minutos y centrifugar durante 5 minutos. Transferir la fase clorofórmica a un recipiente apropiado.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 40 µl de la *Solución muestra* y 40 µl de *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución*

muestra se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración tópica.

Determinación del contenido neto del envase <220>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Dipropionato de Betametasona*.

Preparación estándar - Proceder según se indica en *Dipropionato de Betametasona*, empleando cloroformo como solvente. Transferir 10,0 ml de ácido clorhídrico 0,1 N a un tubo de centrifuga de 50 ml con tapa, agregar 4,0 ml de la solución recientemente preparada, tapar y agitar vigorosamente durante aproximadamente 2 minutos. Centrifugar durante 3 minutos, transferir la fase clorofórmica a un recipiente apropiado y evaporar bajo corriente de nitrógeno hasta sequedad. Dejar reposar hasta que alcance la temperatura ambiente, agregar 4,0 ml de metanol y mezclar hasta disolver el residuo.

Preparación muestra - Pesar exactamente una cantidad de la Loción de Dipropionato de Betametasona, equivalente a 1,2 mg de dipropionato de betametasona, transferir a un tubo de centrifuga de 50 ml con tapa, agregar 10,0 ml de ácido clorhídrico 0,1 N y agitar hasta dispersar. Agregar 2,0 ml de la *Solución del estándar interno* y 2,0 ml de cloroformo. Proceder según se indica en *Preparación estándar* comenzando donde dice: "*tapar y agitar vigorosamente durante 2 minutos*".

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración en Dipropionato de Betametasona*. Calcular la cantidad de $C_{22}H_{29}FO_5$ en la Loción de Dipropionato de Betametasona, de acuerdo a la cantidad declarada.

BETAMETASONA, DIPROPIONATO DE UNGÜENTO TÓPICO

Definición - El Ungüento Tópico de Dipropionato de Betametasona debe contener una cantidad de Dipropionato de Betametasona ($C_{28}H_{37}FO_7$) equivalente a no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de betametasona ($C_{22}H_{29}FO_5$) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Dipropionato de Betametasona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto. Evitar el congelamiento.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria, Fase móvil, Diluyente, Solución estándar y Solución muestra - Proceder según se indica en el ensayo de *Identificación B* en *Crema Dérmica de Dipropionato de Betametasona*.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Identificación B* en *Crema Dérmica de Dipropionato de Betametasona*: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Determinación del contenido neto del envase <220>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración tópica.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Dipropionato de Betametasona*.

Diluyente - Ácido acético y alcohol (1 en 1.000).

Preparación estándar - Disolver una cantidad necesaria de Dipropionato de Betametasona SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,133 mg de dipropionato de betametasona por ml.

Preparación muestra - Transferir una cantidad exactamente pesada del Ungüento Tópico de Dipropionato de Betametasona, equivalente a 2 mg de dipropionato de betametasona, a un tubo de centrífuga de 50 ml, agregar 5,0 ml de *Solución del estándar interno* y 10,0 ml de *Diluyente*. Calentar en baño de agua a 70 °C con agitación hasta la fusión de la muestra en ensayo. Remover del baño y agitar hasta que vuelva a solidificar. Calentar nuevamente y agitar. Congelar en baño de hielo-metanol durante 15 minutos, centrifugar durante 5 minutos y transferir a otro recipiente.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración en Dipropionato de Betametasona*. Calcular la cantidad de $C_{22}H_{29}FO_5$ en el Ungüento Tópico de Dipropionato de Betametasona, de acuerdo a la cantidad declarada.

BETAMETASONA, FOSFATO SÓDICO DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Fosfato Sódico de Betametasona es una solución estéril de Fosfato Sódico de Betametasona en Agua para Inyectables. Debe contener una cantidad de fosfato sódico de betametasona ($C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$) equivalente a no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de betametasona ($C_{22}H_{29}FO_5$) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Fosfato Sódico de Betametasona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis o multidosis, de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. Cromatografía) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Alcohol *n*-butílico previamente saturado con ácido clorhídrico 1 N.

Solución muestra - Diluir la Solución Inyectable de Fosfato Sódico de Betametasona con metanol, si fuera necesario, para obtener una solución de aproximadamente 2 mg de fosfato sódico de betametasona por ml.

Solución estándar - Preparar una solución de Fosfato Sódico de Betametasona SR-FA en metanol de aproximadamente 2 mg por ml.

Revelador - Ácido sulfúrico, metanol y ácido nítrico (10:10:1).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar a 105 °C durante 10 minutos: el valor de R_f de la mancha principal obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la

Preparación muestra se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 8,0 y 9,0.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 29,2 Unidades de Endotoxina por mg de Betametasona.

Ensayo de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos para *Inyectables de pequeño volumen*.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm \times 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol y fosfato monobásico de potasio 0,05 M (1:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. Cromatografía).

Solución del estándar interno - Transferir aproximadamente 100 mg de *Butilparabeno* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

Preparación estándar - Pesar exactamente una cantidad de Fosfato Sódico de Betametasona SR-FA para obtener una solución de aproximadamente 4 mg por ml en agua. Transferir 3,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 25 ml, agregar 5,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con agua y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg de Fosfato Sódico de Betametasona SR-FA por ml.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de Solución Inyectable de Fosfato Sódico de Betametasona, equivalente a 9 mg de betametasona, a un matraz aforado de 25 ml. Agregar 5,0 ml de la *Solución del estándar interno*, completar a volumen con agua y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. Cromatografía) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser de aproximadamente 1,0 para fosfato

sódico de betametasona y 2,4 para butilparabeno; la resolución R entre los picos del analito y el estándar interno no debe ser menor de 5,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{22}H_{29}FO_5$ en la Solución Inyectable de Fosfato Sódico de Betametasona, de acuerdo a la cantidad declarada.

BETAMETASONA, VALERATO DE CREMA DÉRMICA

Betametasona. Calcular la cantidad de $C_{22}H_{29}FO_5$ en la Crema Dérmica de Valerato de Betametasona, de acuerdo a la cantidad declarada.

Definición - La Crema Dérmica de Valerato de Betametasona debe contener una cantidad de Valerato de Betametasona ($C_{27}H_{37}FO_6$) equivalente a no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de betametasona ($C_{22}H_{29}FO_5$) en una crema base apropiada y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Valerato de Betametasona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración tópica.

Determinación del contenido neto del envase <220>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Diluyente, Solución del estándar interno, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Valerato de Betametasona*.

Preparación muestra - Transferir una cantidad exactamente pesada de la Crema Dérmica de Valerato de Betametasona, equivalente a 2,5 mg de betametasona, a un tubo de centrífuga de 50 ml, agregar 10,0 ml de *Solución del estándar interno* y 5,0 ml de *Diluyente*. Tapar el tubo y calentar en baño de agua a 60 °C con agitación hasta la fusión de la muestra en ensayo. Remover del baño y agitar hasta que vuelva a solidificar. Repetir el calentamiento y la agitación dos veces más. Colocar el tubo en un baño de hielo-metanol durante 20 minutos y centrifugar para separar las fases. Transferir el sobrenadante a otro recipiente con tapón y dejar reposar hasta que alcance temperatura ambiente.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración en Valerato de*

BETAMETASONA, VALERATO DE LOCIÓN

Definición - La Loción de Valerato de Betametasona debe contener una cantidad de Valerato de Betametasona ($C_{27}H_{37}FO_6$) equivalente a no menos de 95,0 por ciento y no más de 115,0 por ciento de la cantidad declarada de betametasona ($C_{22}H_{29}FO_5$) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Valerato de Betametasona SR-FA. Dipropionato de Beclometasona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto. Evitar el congelamiento.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo y acetato de etilo (1:1).

Diluyente - Metanol y cloroformo (2:1).

Solución estándar - Preparar una solución de Valerato de Betametasona SR-FA en *Diluyente* de aproximadamente 0,6 mg por ml.

Solución muestra - Transferir una cantidad de la Loción de Valerato de Betametasona, equivalente a 5 mg de betametasona, a un recipiente apropiado y diluir a 10 ml con *Diluyente*.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 20 μ l de la *Solución muestra* y 20 μ l de *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Examinar los cromatogramas bajo luz ultravioleta: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración tópica.

Determinación del contenido neto del envase <220>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Diluyente y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Valerato de Betametasona*.

Solución del estándar interno - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Dipropionato de Beclometasona SR-FA, transferir a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con cloroformo y mezclar.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 40 mg de Valerato de Betametasona SR-FA, transferir a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con cloroformo y mezclar. Transferir 2,0 ml de esta solución a un tubo de centrífuga de 50 ml, agregar 10,0 ml de ácido clorhídrico 0,1 N y 2,0 ml de la *Solución del estándar interno*. Tapar el tubo, agitar vigorosamente durante 2 minutos y centrifugar para separar las fases. Transferir la fase inferior clorofórmica a un recipiente pequeño con tapa, evaporar el cloroformo en un baño de vapor, a baja temperatura con la ayuda de una corriente de nitrógeno. Agregar 4,0 ml de *Diluyente* y agitar hasta disolver el residuo.

Preparación muestra - Pesar exactamente una cantidad de la Loción de Valerato de Betametasona, equivalente a 2,5 mg de betametasona, transferir a un tubo de centrífuga de 50 ml, agregar 10,0 ml de ácido clorhídrico 0,1 N, colocar la tapa y agitar hasta dispersar. Agregar 2,0 ml de cloroformo y 2,0 ml de la *Solución del estándar interno*. Proceder según se indica en *Preparación estándar* comenzando donde dice: "agitar vigorosamente durante 2 minutos...".

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración en Valerato de Betametasona*. Calcular la cantidad de $C_{22}H_{29}FO_5$ en la Loción de Valerato de Betametasona, de acuerdo a la cantidad declarada.

BETAMETASONA, VALERATO DE UNGÜENTO TÓPICO

Definición - El Ungüento Tópico de Valerato de Betametasona debe contener una cantidad de Valerato de Betametasona ($C_{27}H_{37}FO_6$) equivalente a no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de betametasona ($C_{22}H_{29}FO_5$) en un apropiado ungüento base y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Valerato de Betametasona SR-FA. Dipropionato de Beclometasona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración tópica.

Determinación del contenido neto del envase <220>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Valerato de Betametasona*.

Diluyente - Ácido acético y alcohol (1 en 1.000).

Solución del estándar interno - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Dipropionato de Beclometasona SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 30 mg de Valerato de Betametasona SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un recipiente apropiado con tapa, agregar 10,0 ml de *Solución del estándar interno* y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 0,2 mg de Valerato de Betametasona SR-FA por ml.

Preparación muestra - Transferir una cantidad exactamente pesada del Ungüento Tópico de Valerato de Betametasona, equivalente a 2,5 mg de betametasona, a un tubo de centrifuga de 50 ml, agregar 10,0 ml de *Solución del estándar interno* y 5,0 ml de *Diluyente*. Tapar el tubo y calentar en baño de agua a 70 °C con agitación hasta la fusión de la muestra en ensayo. Remover del baño y agitar hasta que vuelva a solidificar. Repetir el calentamiento y la agitación dos veces más. Colocar el tubo en baño de hielo-metanol durante 20 minutos y centrifugar para separar las fases. Transferir el sobrenadante a otro recipiente con tapón y dejar reposar hasta que alcance temperatura ambiente.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración en Valerato de Betametasona*. Calcular la cantidad de $C_{22}H_{29}FO_5$ en el Ungüento Tópico de Valerato de Betametasona, de acuerdo a la cantidad declarada.

BIPERIDENO, CLORHIDRATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Clorhidrato de Biperideno deben contener no menos de 93,0 por ciento y no más de 107,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{21}H_{29}NO \cdot HCl$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Biperideno SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor. [NOTA: inmediatamente antes de usar calentar la placa a 105 °C durante 1 hora y dejar enfriar].

Fase móvil - Metanol e hidróxido de amonio (100:1,5).

Solución muestra - Pesar una cantidad equivalente a 10 mg de clorhidrato de biperideno a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*. Agregar 5 ml de agua, mezclar y sonicar para dispersar el polvo. Agregar 5 ml de metanol, mezclar y sonicar durante 15 minutos. Filtrar la solución en una ampolla de decantación, agregar 2 ml de hidróxido de sodio 1 N y 10 ml de cloroformo y agitar aproximadamente durante 3 minutos. Filtrar y transferir la fase clorofórmica a un matraz con tapa y emplear esta solución.

Solución estándar - Proceder según se indica en *Solución muestra* empleando 10 mg de Clorhidrato de Biperideno SR-FA. .

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 20 μ l de la *Solución muestra* y 20 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Exponer la placa a vapores de yodo en una cámara cerrada durante 10 minutos: el valor de R_f de la mancha principal obtenida a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,01 N; 500 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y determinar la cantidad disuelta mediante la siguiente técnica.

Solución A - Disolver 38 g de fosfato monobásico de sodio y 2 g de fosfato dibásico de sodio anhidro, a 1 litro con agua. Ajustar a pH $5,3 \pm 0,1$, si fuera necesario.

Solución B - Disolver 400 mg de púrpura de bromocresol en 30 ml de agua, agregar 6,3 ml de hidróxido de sodio 0,1 N y diluir a 500 ml con agua.

Solución reguladora de fosfato con púrpura de bromocresol - Mezclar volúmenes iguales de *Solución A*, *Solución B* y cloroformo, agitar en una ampolla de decantación y descartar el cloroformo. Si se desarrolla color en la solución, se debe repetir con porciones adicionales de cloroformo hasta que no se observe coloración.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Biperideno SR-FA en metanol y diluir cuantitativamente con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 0,8 mg por ml. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 500 ml, agregar ácido clorhídrico 0,01 N, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Transferir 25 ml de esta solución a un vaso de precipitados y ajustar a pH 5,3 con hidróxido de sodio 0,01 N. Transferir esta solución a un matraz aforado de 100 ml con la ayuda de agua, completar a volumen con agua y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 2 μ g por ml.

Solución muestra - Transcurridos los 45 minutos, tomar 75 ml del medio de disolución, filtrar y transferir 50 ml del filtrado a un vaso de precipitados. Ajustar a pH 5,3 con hidróxido de sodio 0,01 N. Transferir esta solución a un matraz aforado de 100 ml con la ayuda de agua, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Transferir a sendas ampollas de decantación 20 ml de la *Solución estándar*, 20 ml *Solución muestra* y 20 ml de agua para preparar un *Blanco*, conteniendo cada una 10,0 ml de *Solución reguladora de fosfato con púrpura de bromocresol*. Realizar una extracción con 40,0 ml de cloroformo durante 10 minutos. Luego de separadas las fases, filtrar cada extracto clorofórmico a través de papel de filtro en matraces separados con tapón de vidrio, descartando los primeros 10 ml de cada filtrado. Determinar la cantidad de $C_{21}H_{29}NO \cdot HCl$ disuelta, a partir de las absorbancias medidas en el ultravioleta a la longitud de onda

de máxima absorción, 408 nm, en celdas de 1 cm, de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, empleando el *Blanco* para ajustar a cero la lectura del aparato.

Tolerancia - No menos de 75 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{21}H_{29}NO \cdot HCl$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 220 nm y una columna de 12,5 cm \times 4,0 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro, desactivada para bases. Mantener la temperatura de la columna a 40 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Solución reguladora de fosfato pH 2,3 - Pesar alrededor de 6,8 g de fosfato monobásico de potasio y disolver en 700 ml de agua. Ajustar a pH 2,3 con ácido fosfórico y completar a 1 litro con agua.

Fase móvil - Solución reguladora de fosfato pH 2,3 y acetonitrilo (65:35). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Metanol y agua (65:35).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Clorhidrato de Biperideno SR-FA y transferir a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 50 ml de *Diluyente*, sonicar hasta disolución total y completar a volumen con *Diluyente*. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Clorhidrato de Biperideno. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 4 mg de clorhidrato de biperideno, transferir a un matraz aforado de 50 ml y agregar 25 ml de *Diluyente*. Agitar mecánicamente durante 30 minutos, completar a volumen con *Diluyente* y centrifugar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{21}H_{29}NO \cdot HCl$ en los Comprimidos de Clorhidrato de Biperideno, de acuerdo a la cantidad declarada.

BLEOMICINA, SULFATO

PARA INYECCIÓN

Definición - Sulfato de Bleomicina para Inyección debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de la cantidad declarada de Bleomicina y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Sulfato de Bleomicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe responder al ensayo de *Identificación A* en *Sulfato de Bleomicina*.

B - Debe responder al ensayo de *Identificación B* en *Sulfato de Bleomicina*.

Aspecto de la solución reconstituida

Reconstituir el Sulfato de Bleomicina para Inyección según se indica en el rótulo. La solución reconstituida debe cumplir con los requisitos en 280. *Disolución completa* y estar libre de partículas extrañas cuando se realiza una inspección visual.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 6,0, determinado sobre una solución de aproximadamente 10 Unidades de Bleomicina por ml.

Determinación de agua <120>

Titulación coulombimétrica. No más de 6,0 %. Preparar la muestra según se indica a continuación: emplear una jeringa seca para inyectar 4,0 ml de metanol anhidro a través de los tapones de dos envases previamente pesados, y agitar para disolver. Con la misma jeringa, extraer el contenido de los dos envases, transferir al vaso de titulación y titular volumétricamente. Emplear 8,0 ml de metanol anhidro para realizar un blanco. Determinar los pesos de los envases vacíos y calcular el porcentaje de agua.

Contenido de cobre

Debe cumplir con los requisitos según se indica en *Contenido de cobre* en *Sulfato de Bleomicina*.

Contenido de bleomicinas

Debe cumplir con los requisitos según se indica en *Contenido de bleomicinas* en *Sulfato de Bleomicina*.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 10,0 Unidades de Endotoxina por Unidad de Bleomicina.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, según se indica en *Método de filtración por membrana*, empleando el contenido completo de cada envase.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Preparación muestra - Reconstituir un envase de Sulfato de Bleomicina para Inyección según se indica en el rótulo. Retirar todo el contenido extraíble y diluir cuantitativamente con *Solución reguladora N° 16* para obtener una solución de concentración apropiada.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* en *Valoración* en *Sulfato de Bleomicina*

BUDESONIDA

AEROSOL

Definición - El Aerosol de Budesonida debe contener no menos de 80,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de la cantidad declarada $C_{25}H_{34}O_6$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Budesonida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases sellados, a una temperatura que no exceda los 25 °C.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención de los picos principales en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se deben corresponder con el de los obtenidos en la *Preparación estándar*.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos de administración inhalatoria.

Ensayos farmacotécnicos para aerosoles <390>

Debe cumplir con los requisitos según se indica en *Número total de descargas por envase y Peso de la dosis para Aerosoles dosificadores*.

Debe cumplir con los requisitos según se indica en *Microscopía en Tamaño de partícula*.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos según se indica en *Aerosoles dosificadores*.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 240 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución reguladora de fosfato - Pesar alrededor de 4,0 g fosfato monobásico de sodio, agregar 980 ml de agua y ajustar a pH $3,2 \pm 0,2$ con ácido fosfórico.

Fase móvil - *Solución reguladora de fosfato* y acetonitrilo (98:80). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en *100. Cromatografía*).

Preparación estándar - Preparar una solución de Budesonida SR-FA en alcohol de aproximadamente 10 µg por ml.

Preparación muestra - Quitar el actuador al aerosol y limpiar el envase, retirando las etiquetas y toda marca que pueda presentar con un solvente apropiado. Secar, colocar nuevamente el actuador, agitar durante 20 segundos, descargar una dosis, esperar no más de 5 segundos y descargar nuevamente. Colocar en un vaso de precipitados de 50 ml, un disco de acero de aproximadamente 3 cm de diámetro y 5 mm de altura, que posee tres patas de aproximadamente 7 mm de altura y un agujero central de 3 mm de diámetro y agregar alcohol hasta cubrir unos 5 mm por encima de la superficie del disco. Agitar el aerosol y colocar invertido sobre el disco, introduciendo el vástago en el agujero central. Descargar una pulsación, presionando el aerosol contra el disco [NOTA: la descarga pasa a través del agujero central]. Retirar el aerosol del vaso, enjuagando el casquillo y el vástago, tanto interna como externamente, con alcohol. Transferir el contenido del vaso a un matraz aforado de 25 ml, enjuagar el vaso y el disco con alcohol y completar a volumen con el mismo solvente. La solución así obtenida contiene aproximadamente 8,0 µg de budesonida por ml.

Aptitud del sistema (ver *100. Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos correspondientes al epímero A y al epímero B no debe ser menor de 1,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas, de la suma de las respuestas de los dos epímeros, no debe ser mayor de 2,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación muestra* y las *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{25}H_{34}O_6$ en el Aerosol de Budesonida, a partir de la suma de las respuestas de los picos de los dos epímeros y de acuerdo a la cantidad declarada.

BUPIVACAÍNA, CLORHIDRATO DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Clorhidrato de Bupivacaína es una solución estéril de *Clorhidrato de Bupivacaína en Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 93,0 por ciento y no más de 107,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{18}H_{28}N_2O \cdot HCl$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Bupivacaína SR-FA

CONSERVACIÓN

En envases monodosis o multidosis, de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

A - Diluir un volumen de Solución Inyectable de Clorhidrato de Bupivacaína, equivalente a 50 mg de clorhidrato de bupivacaína, con ácido clorhídrico 0,01 N a 25 ml y proceder según se indica en 490. *Identificación de bases orgánicas nitrogenadas*, comenzando donde dice “*Transferir el líquido a una ampolla de decantación...*”. La Solución Inyectable de Clorhidrato de Bupivacaína debe cumplir con los requisitos.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico de principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 4,0 y 6,5.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 2,5 Unidades de Endotoxina por mg de Clorhidrato de Bupivacaína.

Ensayo de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 263 nm y una columna de 12,5 cm × 4 mm con fase estacionaria constituida

por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,3 ml por minuto.

Solución reguladora de fosfato de pH 6,8 - Disolver 1,94 g de fosfato monobásico de potasio y 2,48 g de fosfato dibásico de potasio en 800 ml de agua. Ajustar a pH 6,8, si fuera necesario, con hidróxido de potasio 1 N o ácido fosfórico 1 M. Completar a 1 litro con agua.

Fase móvil - Acetonitrilo y *Solución reguladora de fosfato de pH 6,8* (70:30). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*). [NOTA: preparar esta solución en el momento de uso].

Diluyente - Acetonitrilo y agua (65:35).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 40 mg de Clorhidrato de Bupivacaína SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml y disolver con *Diluyente*, sonicar si fuera necesario. Completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de Solución Inyectable de Clorhidrato de Bupivacaína, equivalente a 10 mg de clorhidrato de bupivacaína, a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{18}H_{28}N_2O \cdot HCl$ en la Solución Inyectable de Clorhidrato de Bupivacaína, de acuerdo a la cantidad declarada.

CALCIO, GLUCONATO DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Gluconato de Calcio es una solución estéril de *Gluconato de Calcio Calidad Inyectable en Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad total de calcio declarada en el rótulo y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Gluconato de Potasio SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

A - Una dilución 1 en 5 de la Solución Inyectable de Gluconato de Calcio en agua debe responder a los ensayos para *Calcio* <410>.

B - Una dilución 1 en 100 de la Solución Inyectable de Gluconato de Calcio debe responder al *Ensayo B* de *Identificación* en *Gluconato de Calcio Calidad Inyectable*.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 6,0 y 8,2.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 0,17 Unidades de Endotoxina por mg de Gluconato de Calcio.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectable <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

A un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Gluconato de Calcio, equivalente a 500 mg de gluconato de calcio, agregar 2 ml de ácido clorhídrico 3 N y diluir a 150 ml con agua. Agregar aproximadamente 20 ml de edetato disódico 0,05 M (SV) desde una bureta de 50 ml, en constante agitación. Agregar 15 ml de hidróxido de sodio 1 N y 300 mg de azul de hidroxinaftol triturado y continuar la titulación hasta punto final azul. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de edetato disódico 0,05 M equivale a 2,004 mg de Ca.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si la Solución Inyectable de Gluconato de Calcio presenta sales de calcio agregadas, calculado como porcentaje de calcio en la solución inyectable. Indicar la concentración osmolar total en mOsmol por litro. Cuando el contenido sea menor de 100 ml, o cuando en el rótulo se indique que la Solución Inyectable no es para inyección directa sino que se debe diluir antes de usar, se puede declarar la concentración osmolar total en mOsmol por ml.

CARBAMAZEPINA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Carbamazepina deben contener no menos de 92,0 por ciento y no más de 108,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{15}H_{12}N_2O$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Carbamazepina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto, preferentemente de vidrio.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Pesar una cantidad equivalente a 250 mg de carbamazepina a partir del polvo fino obtenido en *Preparación muestra* en *Valoración*. Transferir a un vaso de precipitados de 50 ml, calentar a ebullición con 15 ml de acetona durante 5 minutos. Filtrar la solución en caliente a un segundo vaso de precipitados con la ayuda de dos porciones de 5 ml de acetona caliente. Evaporar con ayuda de nitrógeno hasta 5 ml y enfriar en un baño de hielo hasta que se formen cristales. Filtrar, lavar con 3 ml de acetona fría y secar al vacío a 70 °C durante 30 minutos: los cristales obtenidos deben responder al ensayo de *Identificación A* en *Carbamazepina*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 75 rpm.

Medio: agua conteniendo lauril sulfato de sodio al 1 %; 900 ml.

Tiempo: 60 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{15}H_{12}N_2O$ disuelta a partir de las absorbancias medidas en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 288 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Carbamazepina SR-FA en el mismo medio.

Tolerancias - No menos de 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{15}H_{12}N_2O$ se debe disolver en 60 minutos. Emplear la *Tabla de Aceptación 1* en 530. *Liberación de principios activos*, con las siguientes excepciones: a los 60 minutos en N_2 ninguna unidad debe liberar menos de $Q - 5\%$; en N_3

ninguna unidad debe liberar menos de $Q - 10\%$; y no más de 2 de las 24 unidades deben liberar menos de $Q - 5\%$.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de agua

Determinar el contenido de agua procediendo según se indica en 680. *Pérdida por secado*. Reducir a polvo fino veinte Comprimidos de Carbamazepina y pesar exactamente alrededor de 1,5 g en una cápsula seca previamente pesada. Secar a 120 °C durante 2 horas: no debe perder más de 5,0 % de su peso.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución de resolución y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración* en *Carbamazepina*.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Carbamazepina SR-FA en metanol y diluir cuantitativamente con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg por ml. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con *Diluyente*.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Carbamazepina. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 25 mg de carbamazepina, transferir a un matraz aforado de 50 ml, agregar aproximadamente 40 ml de metanol, sonicar durante aproximadamente 15 minutos y dejar en reposo hasta alcanzar temperatura ambiente. Completar a volumen con metanol, mezclar y filtrar, descartando los primeros 10 ml de filtrado. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con una mezcla de metanol y agua (1:1) y mezclar.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* en *Valoración* en *Carbamazepina*. Calcular la cantidad de $C_{15}H_{12}N_2O$ en los Comprimidos de Carbamazepina, de acuerdo a la cantidad declarada.

CARBOPLATINO

PARA INYECCIÓN

Definición - Carboplatino para Inyección es una mezcla estéril de *Carboplatino* y *Manitol*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_6H_{12}N_2O_4Pt$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Precaución - Evitar el contacto con la piel y mucosas. *Carboplatino es carcinógeno.*

Sustancia	de	referencia	-
Carboplatino SR-FA.			

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Aspecto de la solución reconstituida

Reconstituir el Carboplatino para Inyección según se indica en el rótulo. La solución reconstituida debe cumplir con los requisitos en *280. Disolución completa* y estar libre de partículas extrañas cuando se realiza una inspección visual.

Determinación del pH <250>

Entre 5,0 y 7,0; determinado sobre la solución reconstituida según se indica en el rótulo con *Agua para Inyectables*.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 3,0 %. Emplear formamida anhidra como solvente y proceder según se indica a continuación. Introducir aproximadamente 50 ml de formamida anhidra en el recipiente de titulación y titular con *Reactivo* hasta punto final electrométrico. Emplear la formamida así secada para enjuagar una jeringa de vidrio apropiada, equipada con una aguja calibre 22, de aproximadamente 8 cm de largo. Agregar el enjuague nuevamente al vaso de titulación y, si fuera necesario, titular nuevamente el contenido del vaso. Con la jeringa, extraer 5,0 ml de la formamida titulada de esta manera y, a través del cierre del recipiente, introducir el contenido dentro del envase de Carboplatino para Inyección. Agitar para disolver. Con la misma jeringa, extraer todo el contenido del envase y transferir al recipiente de titulación. Titular volumétricamente hasta punto

final, ajustando el control de velocidad al valor más bajo, para evitar la sobretitulación.

Límite de ácido 1,1-ciclobutanodicarboxílico

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Límite de ácido 1,1-ciclobutanodicarboxílico* en *Carboplatino*.

Solución estándar - - Disolver una cantidad exactamente pesada de ácido 1,1-ciclobutanodicarboxílico en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg por ml. Transferir 2,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución muestra - Disolver cuantitativamente el contenido de un envase de Carboplatino para Inyección en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml [NOTA: emplear dentro de las dos horas de preparada.]

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* en *Límite de ácido 1,1-ciclobutanodicarboxílico* en *Carboplatino*. Calcular la cantidad en porcentaje de ácido 1,1-ciclobutanodicarboxílico en Carboplatino para Inyección. No debe contener más de 1,0 % de ácido 1,1-ciclobutanodicarboxílico.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 0,54 Unidades de Endotoxina por mg de carboplatino.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, según se indica en *Método de filtración por membrana*.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración* en *Carboplatino*.

Preparación muestra - Disolver cuantitativamente el contenido de un envase de Carboplatino para Inyección en agua para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml [NOTA: emplear esta solución dentro de las dos horas de preparada.]

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* en *Valoración* en *Carboplatino*. Calcular la cantidad de $C_6H_{12}N_2O_4Pt$ en Carboplatino para Inyección, de acuerdo a la cantidad declarada.

CARMUSTINA

PARA INYECCIÓN

Definición - La Carmustina para Inyección debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_5H_9Cl_2N_3O_2$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de vidrio Tipo I, en un refrigerador.

Precaución - Manipular con cuidado evitando su inhalación y el contacto con la piel.

ENSAYOS

Identificación

Debe responder al ensayo de *Identificación* en *Carmustina*.

Aspecto de la solución reconstituida

Reconstituir la Carmustina para Inyección según se indica en el rótulo. La solución reconstituida debe cumplir con los requisitos en *280. Disolución completa*, ser transparente e incolora y estar libre de partículas extrañas cuando se realiza una inspección visual.

Determinación del pH <250>

Entre 5,6 y 6,0. Reconstituir la Carmustina para Inyección según se indica en el rótulo. Transferir cuantitativamente a un vaso de precipitados de 50 ml, agregar 27 ml de *Agua para Inyectables*, mezclar y determinar el valor de pH.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 1 %, determinado sobre 0,5 g de Carmustina.

Ensayo de pirogénos <340>

Debe cumplir con los requisitos. Reconstituir la Carmustina para Inyección según se indica en el rótulo y diluir con Solución fisiológica (SR) estéril para obtener una solución de aproximadamente 1,67 mg de carmustina por ml. Inyectar 2 ml de esta solución por kg de peso corporal.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Preparación muestra - Pesar exactamente una cantidad de Carmustina para inyección, equivalente a 100,0 mg de carmustina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en 30 ml de alcohol absoluto, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 3,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración en Carmustina*.

CEFADROXILO

CÁPSULAS

Definición - Las Cápsulas de Cefadroxilo deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Cefadroxilo SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta determinadas a la longitud de onda de máxima absorción, 263 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Cefadroxilo SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ se debe disolver en 30 minutos.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 7,0 %.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Solución reguladora de pH 5,0, Fase móvil, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Cefadroxilo*.

Preparación muestra - Extraer el contenido de no menos de diez Cápsulas de Cefadroxilo y mezclar. Pesar exactamente una cantidad equivalente a

200 mg de cefadroxilo, transferir a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con *Solución reguladora de pH 5,0* y agitar durante 5 minutos. [NOTA: emplear esta solución en el día de su preparación].

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración en Cefadroxilo*. Calcular la cantidad de $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ en las Cápsulas de Cefadroxilo, de acuerdo a la cantidad declarada.

ROTULADO

Indicar en el rótulo cuando las Cápsulas de Cefadroxilo se preparan empleando la forma hemihidratada de Cefadroxilo.

CEFADROXILO

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Cefadroxilo deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Cefadroxilo SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta determinadas a la longitud de onda de máxima absorción, 263 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Cefadroxilo SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 8,0 %.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Solución reguladora de pH 5,0, Fase móvil, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Cefadroxilo*.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de diez Comprimidos de Cefadroxilo.

lo. Transferir una porción exactamente pesada, equivalente a 200 mg de cefadroxilo, a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con *Solución reguladora de pH 5,0* y agitar durante 5 minutos. [NOTA: emplear esta solución en el día de preparación].

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración en Cefadroxilo*. Calcular la cantidad de $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ en los Comprimidos de Cefadroxilo, de acuerdo a la cantidad declarada.

ROTULADO

Indicar en el rótulo cuando los Comprimidos de Cefadroxilo se preparan empleando la forma hemihidratada de Cefadroxilo.

CEFADROXILO

PARA SUSPENSIÓN ORAL

Cefadroxilo para Suspensión Oral, de acuerdo a la cantidad declarada.

Definición - Cefadroxilo para Suspensión Oral debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Cefadroxilo SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 2,0 %.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 6,0, determinado sobre la suspensión reconstituida según se indica en el rótulo.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Solución reguladora de pH 5,0, Fase móvil, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración* en *Cefadroxilo*.

Preparación muestra - Reconstituir un envase del Cefadroxilo para Suspensión Oral según se indica en el rótulo. Transferir un volumen exactamente medido, equivalente a 250 mg de cefadroxilo, a un matraz aforado de 250 ml, completar a volumen con *Solución reguladora de pH 5,0*, agitar durante 5 minutos y filtrar. [NOTA: preparar la solución en el día de su uso].

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* en *Valoración* en *Cefadroxilo*. Calcular la cantidad de $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ en

CEFALEXINA COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Cefalexina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{16}H_{17}N_3O_4S$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Cefalexina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, para obtener una solución de aproximadamente 20 µg por ml y determinar la cantidad de $C_{16}H_{17}N_3O_4S$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, a 262 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Cefalexina SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{16}H_{17}N_3O_4S$ se debe disolver en 30 minutos.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 9,0 %.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Solución de fosfato, Fase móvil y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Cefalexina*.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Cefalexina SR-FA y transferir a un matraz aforado de 25 ml, agregar 10 ml de diluyente,

sonicar 10 minutos hasta disolución total, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con agua.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Cefalexina. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 100 mg de cefalexina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 50 ml de agua, sonicar 10 minutos, completar a volumen con agua y mezclar. Filtrar o centrifugar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con agua.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración en Cefalexina*. Calcular la cantidad de $C_{16}H_{17}N_3O_4S$ en los Comprimidos de Cefalexina, de acuerdo a la cantidad declarada.

CEFALEXINA

PARA SUSPENSIÓN ORAL

Definición - Cefalexina para Suspensión Oral debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{16}H_{17}N_3O_4S$ en la suspensión reconstituida según se indica en el rótulo y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Cefalexina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 3,0 y 6,0; determinado en la suspensión reconstituida según se indica en el rótulo.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 2,0 %.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Solución de fosfato, Fase móvil, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración* en *Cefalexina*.

Preparación muestra - Reconstituir Cefalexina para Suspensión Oral, según se indica en el rótulo. Transferir un volumen exactamente medido de la suspensión recientemente mezclada y libre de burbujas, equivalente a 250 mg de cefalexina, a un matraz aforado de 250 ml, agregar 150 ml de agua, sonicar 10 minutos y agitar mecánicamente 10 minutos más. Completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con agua.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* en *Valoración* en *Cefalexina*.

Calcular la cantidad de $C_{16}H_{17}N_3O_4S$ en Cefalexina para Suspensión Oral reconstituida, de acuerdo a la cantidad declarada.

CICLOFOSFAMIDA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Ciclofosfamida deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Ciclofosfamida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto, a una temperatura no mayor de 30 °C.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Pulverizar una cantidad apropiada de los Comprimidos de Ciclofosfamida, pesar una cantidad equivalente a 50 mg de ciclofosfamida y extraer con 25 ml de cloroformo. Filtrar 2 ml de la fase clorofórmica, mezclar con 500 mg de bromuro de potasio y evaporar hasta sequedad. El espectro de absorción infrarroja de la dispersión en bromuro de potasio se debe corresponder con el de una preparación similar de Ciclofosfamida SR-FA.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: agua desgasificada; 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario y determinar la cantidad de $C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$ disuelta mediante la siguiente técnica.

Sistema cromatográfico y Fase móvil - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Ciclofosfamida SR-FA en agua y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, para obtener una solución de concentración conocida similar a la de la solución en ensayo.

Aptitud del sistema - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 μ l) de la *Solución estándar* y de las soluciones en ensayo, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$ disuelta.

Tolerancia - No menos de 75 % (Q) de la cantidad declarada de $C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido.

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución del estándar interno, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Transferir un Comprimido de Ciclofosfamida a un matraz aforado apropiado de modo tal que la concentración final sea aproximadamente 1 mg de ciclofosfamida anhidra por ml. Llenar con agua hasta la mitad, agitar durante 30 minutos, completar a volumen con agua y mezclar. Filtrar y transferir 25,0 ml del filtrado a un matraz de 50 ml, agregar 5,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* en *Valoración*. Calcular la cantidad de $C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$ en cada Comprimido de Ciclofosfamida.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución del estándar interno, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración* en *Ciclofosfamida*.

Preparación muestra - Transferir no menos de diez Comprimidos de Ciclofosfamida a un matraz aforado apropiado de modo tal que la concentración final sea aproximadamente 1 mg de ciclofosfamida anhidra por ml. Llenar con agua hasta la mitad, agitar durante 30 minutos, completar a volumen con agua y mezclar. Filtrar y transferir 25,0 ml del filtrado a un matraz aforado de 50 ml, agregar 5,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* en *Valoración* en *Ciclofosfamida*. Calcular la cantidad de $C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$ en los Comprimidos de Ciclofosfamida, de acuerdo a la cantidad declarada.

CICLOFOSFAMIDA

PARA INYECCIÓN

Definición - Ciclofosfamida para Inyección debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Ciclofosfamida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de vidrio Tipo I, a una temperatura no mayor de 30 °C.

ENSAYOS

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Preparación estándar*, ambos relativos al estándar interno.

Aspecto de la solución reconstituida

Reconstituir la Ciclofosfamida para Inyección según se indica en el rótulo. La solución reconstituida debe cumplir con los requisitos en 280. *Disolución completa* y estar libre de partículas extrañas cuando se realiza una inspección visual.

Determinación del pH <250>

Entre 3,0 y 9,0, con un intervalo no mayor a 3 unidades de pH; determinado sobre una solución de Ciclofosfamida para Inyección que contenga el equivalente a 20 mg de ciclofosfamida anhidra por ml. [NOTA: realizar la determinación 30 minutos luego de preparada la solución.]

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 0,20 Unidades de Endotoxina por mg de ciclofosfamida.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución del estándar interno, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Ciclofosfamida*.

Preparación muestra - Pesar exactamente una

cantidad de Ciclofosfamida para Inyección, equivalente a 200 mg de ciclofosfamida anhidra, transferir a un matraz aforado de 200 ml, agregar 50 ml de agua, agitar durante aproximadamente 5 minutos, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 25,0 ml de esta solución y 5,0 ml de *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 25 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$ en Ciclofosfamida para Inyección, de acuerdo a la cantidad declarada.

CICLOSPORINA

CÁPSULAS

Definición - Las Cápsulas de Ciclosporina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{62}H_{111}N_{11}O_{12}$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Ciclosporina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 150 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,1 N que contenga 0,5 % de lauril sulfato de sodio; 1000 ml.

Tiempo: 90 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y determinar la cantidad disuelta de $C_{62}H_{111}N_{11}O_{12}$ por la técnica siguiente.

Sistema cromatográfico - Proceder según se indica en *Valoración*.

Fase móvil - Acetonitrilo, agua, metanol y ácido fosfórico (900:450:50:0,5). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Pesar exactamente una cantidad apropiada de Ciclosporina SR-FA, disolver y diluir con *Medio* para obtener una solución de aproximadamente 0,001T mg por ml, siendo T la cantidad declarada en mg de ciclosporina en cada cápsula. Transferir 25,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con acetonitrilo y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 0,0005T mg de Ciclosporina SR-FA por ml, siendo T la cantidad declarada de ciclosporina en el rótulo.

Solución muestra - Transferir 5,0 ml de la solución en ensayo filtrada a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con acetonitrilo y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 7.000 platos teóricos, la desviación estándar relati-

va para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{62}H_{111}N_{11}O_{12}$ disuelta.

Tolerancia - No menos de 80 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{62}H_{111}N_{11}O_{12}$ se debe disolver en 90 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de agua <120>

No debe contener más de 3,5 % determinado sobre el polvo fino contenido en las cápsulas.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 210 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por trimetilsilano unido químicamente a partículas de sílice porosa, de 3 a 10 μ m de diámetro. Mantener la temperatura de la columna aproximadamente a 70 °C. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo, agua, metanol y ácido fosfórico (605:400:50:0,5). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Acetonitrilo, tetrahidrofurano y alcohol absoluto (9:5:4).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Ciclosporina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 25 ml, agregar 2,5 ml de agua y sonicar durante 10 minutos. Agregar 10 ml de *Diluyente*, sonicar durante 5 minutos, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Preparación madre de la muestra - Extraer el contenido de veinte Cápsulas de Ciclosporina y transferir a un matraz aforado apropiado para obtener una solución de aproximadamente 10 mg de ciclosporina por ml. Agregar un volumen de agua equivalente a un décimo del volumen del matraz y sonicar durante 10 minutos. Agregar 0,4 volúmenes de *Diluyente*, sonicar durante 5 minutos más, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Preparación muestra - Transferir 5,0 ml de la *Preparación madre de la muestra* a un matraz afora-

do de 50 ml, agregar 5,0 ml de agua, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 700 platos teóricos, el factor de asimetría no debe ser mayor de 1,5, la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{62}H_{111}N_{11}O_{12}$ en las Cápsulas de Ciclosporina, de acuerdo a la cantidad declarada.

CIPROFLOXACINO

SOLUCIÓN OFTÁLMICA

ROTULADO

En el rótulo debe figurar la siguiente leyenda:
“Descartar una vez finalizado el tratamiento”.

Definición - La Solución Oftálmica de Ciprofloxacina es una solución acuosa estéril de *Clorhidrato de Ciprofloxacino*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Ciprofloxacino SR-FA. Impureza B de Ciprofloxacino SR-FA: Clorhidrato del ácido 7-[(2-aminoetil)amino]-1-ciclopropil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-3-quinolincarboxílico (Análogo etilendiamino de Ciprofloxacino).

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación del pH<250>

Entre 3,5 y 5,5.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución de resolución y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Ciprofloxacino*.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Ciprofloxacino SR-FA en agua para obtener una solución de aproximadamente 0,14 mg por ml.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Oftálmica de Ciprofloxacino, equivalente a 6 mg de ciprofloxacino, a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ en la Solución Oftálmica de Ciprofloxacino, de acuerdo a la cantidad declarada.

CIPROFLOXACINO

UNGÜENTO OFTÁLMICO

Definición - El Ungüento Oftálmico de Ciprofloxacino debe contener una cantidad de *Clorhidrato de Ciprofloxacino* equivalente a no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Ciprofloxacino SR-FA. Impureza B de Ciprofloxacino SR-FA: Clorhidrato del ácido 7-[(2-aminoetil)amino]-1-ciclopropil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-3-quinolincarboxílico (Análogo etilendiamino de Ciprofloxacino).

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Determinación del contenido neto del envase
<220>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos según se indica en *Método de filtración por membrana en Procedimiento general*.

Partículas metálicas en ungüentos oftálmicos
<660>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fosfato de tetrabutilamonio 0,005 M - Preparar una solución de tetrabutilamonio 0,005 M y ajustar a pH 2,0 con ácido fosfórico.

Fase móvil - Fosfato de tetrabutilamonio 0,005 M y metanol (75:25). Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Ciprofloxacino SR-FA en ácido clorhídrico 0,1 N para obtener una solución de aproximadamente 0,033 mg por ml.

Solución de resolución - Disolver una cantidad de Impureza B de Ciprofloxacino SR-FA en una porción de *Preparación estándar* para obtener una solución de aproximadamente 0,005 mg por ml.

Preparación muestra - Transferir una cantidad exactamente pesada del Ungüento Oftálmico de Ciprofloxacino, equivalente a 750 μg de ciprofloxacino, a un recipiente con tapa, agregar 15 ml de éter de petróleo y agitar hasta dispersar el ungüento oftálmico. Retirar la tapa y calentar en un baño de agua a 60 °C durante 30 minutos rotándolo ocasionalmente. Remover del baño, colocar la tapa y agitar durante 1 o 2 minutos en caliente. Agregar 25,0 ml de ácido clorhídrico 0,1 N y agitar durante aproximadamente un minuto. Permitir que las fases se separen y emplear la fase inferior acuosa.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,8 para la impureza B y 1,0 para ciprofloxacino; la resolución *R* entre los picos de impureza B y ciprofloxacino no debe ser menor de 2,0. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor que 500 platos teóricos; el factor de asimetría para el pico analizado no debe ser menor de 0,9 ni mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ en el Ungüento Oftálmico de Ciprofloxacino, de acuerdo a la cantidad declarada.

CIPROFLOXACINO, CLORHIDRATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Clorhidrato de Ciprofloxacino deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Ciprofloxacino SR-FA. Impureza B de Ciprofloxacino SR-FA: Clorhidrato del ácido 7-[(2-aminoetil)amino]-1-ciclopropil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-3-quinolincarboxílico (Análogo etilendiamino de Ciprofloxacino).

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria, Fase móvil - Proceder según se indica en *Identificación B* en *Ciprofloxacino*.

Solución estándar - Disolver una porción de Clorhidrato de Ciprofloxacino SR-FA en agua para obtener una solución de aproximadamente 1,5 mg de ciprofloxacino por ml.

Solución muestra - Pesar y reducir a polvo fino cinco Comprimidos de Clorhidrato de Ciprofloxacino. Pesar una cantidad equivalente a 1,5 g de ciprofloxacino, transferir a un matraz aforado de 1 litro que contenga 750 ml de agua y sonicar durante 20 minutos. Completar a volumen con agua y mezclar. Centrifugar una porción de esta suspensión y emplear el sobrenadante.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* en *Identificación B* en *Ciprofloxacino*, excepto que se deben aplicar 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de la *Solución estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,01 N; 900 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta a la longitud de onda de

máxima absorción, 276 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Clorhidrato de Ciprofloxacino SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 80 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Solución de resolución - Proceder según se indica en *Valoración* en *Clorhidrato de Ciprofloxacino*.

Preparación estándar - Pesar exactamente una cantidad de Clorhidrato de Ciprofloxacino SR-FA y disolver en agua hasta obtener una solución de aproximadamente 0,3 mg por ml.

Preparación muestra - Transferir no menos de cinco Comprimidos de Clorhidrato de Ciprofloxacino a un matraz aforado de 500 ml, agregar 400 ml de agua y sonicar durante 20 minutos. Completar a volumen con agua y mezclar. Diluir una porción de esta solución para obtener una solución de aproximadamente 0,25 mg de ciprofloxacino por ml.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración* en *Clorhidrato de Ciprofloxacino*. Calcular la cantidad de $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ en los Comprimidos de Clorhidrato de Ciprofloxacino, de acuerdo a la cantidad declarada.

CITARABINA

PARA INYECCIÓN

Definición - Citarabina para Inyección debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_9H_{13}N_3O_5$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Citarabina SR-FA.
Uracilarabinósido SR-FA

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto, de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Aspecto de la solución reconstituida

Reconstituir la Citarabina para Inyección según se indica en el rótulo. La solución reconstituida debe cumplir con los requisitos en 280. *Disolución completa* y estar libre de partículas extrañas cuando se realiza una inspección visual.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 3,0 %.

Determinación del pH <250>

Entre 4,0 y 6,0; determinado sobre una solución de aproximadamente 10 mg de citarabina por ml.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 0,07 Unidades de Endotoxina por mg de citarabina.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, según se indica en *Método de filtración por membrana*.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos para inyectables de pequeño volumen.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida

por octadecilsilano químicamente unida a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución reguladora de fosfato - Disolver 0,73 g de fosfato monobásico de sodio y 1,4 g de fosfato dibásico de sodio en 1 litro de agua y mezclar.

Fase móvil - Solución reguladora de fosfato y metanol (95:5). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Citarabina SR-FA en agua y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con agua para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml.

Solución de aptitud del sistema - Disolver una cantidad exactamente pesada de Uracilarabinósido SR-FA en *Preparación estándar*, y diluir cuantitativamente si fuera necesario, para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml.

Preparación muestra - Reconstituir cinco envases de Citarabina para Inyección con agua según se indica en el rótulo. Combinar y mezclar las soluciones reconstituidas en un recipiente apropiado. Transferir un volumen exactamente medido, equivalente a 100 mg de citarabina, a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. Cromatografía) - Cromatografiar la *Solución aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 1,0 para citarabina y 1,3 para uracilarabinósido; y la resolución *R* entre los picos de citarabina y uracilarabinósido no debe ser menor de 2,5. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_9H_{13}N_3O_5$ en Citarabina para Inyección, de acuerdo a la cantidad declarada.

CLARITROMICINA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Claritromicina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{38}H_{69}NO_{13}$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Claritromicina SR-FA. Impureza A de Claritromicina SR-FA: 6,11-di-*O*-Metileritromicina.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Solución reguladora de acetato de sodio 0,1 M - Pesar 13,61 g de acetato de sodio, transferir a un matraz aforado de 1 litro, agregar agua hasta disolver, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Ajustar a pH 5,0 con ácido acético 0,1 M.

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: *Solución reguladora de acetato de sodio 0,1 M*; 900 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Fase móvil*, si fuera necesario, para obtener una solución de aproximadamente 125 µg de claritromicina por ml. Determinar la cantidad de $C_{38}H_{69}NO_{13}$ disuelta según se indica en *Valoración*.

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{38}H_{69}NO_{13}$ se debe disolver en 30 minutos.

Pérdida por secado <210>

Pesar una porción del polvo fino obtenido a partir de la *Preparación muestra* en *Valoración*, secar al vacío a una presión que no exceda los 5 mm de mercurio, a 110 °C durante 3 horas: no debe perder más de 6,0 % de su peso.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 210 nm y una columna de 15 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. Mantener la columna aproximadamente a 50 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Preparar una mezcla de metanol y fosfato monobásico de potasio 0,067 M (65:35), ajustar a pH 4,0 con ácido fosfórico. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación madre del estándar - Pesar exactamente una cantidad apropiada de Claritromicina SR-FA, disolver en metanol, agitar y sonicar hasta disolver y diluir con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 625 µg de claritromicina por ml.

Preparación estándar - Transferir 10,0 ml de la *Preparación madre del estándar* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución de resolución - Preparar una solución de Impureza A de Claritromicina SR-FA en metanol de aproximadamente 625 µg por ml. Transferir 10,0 ml de esta solución y 10,0 ml de la *Preparación madre del estándar* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino una cantidad de Comprimidos de Claritromicina equivalente a 2.000 mg de claritromicina, transferir a un matraz aforado de 500 ml, agregar 350 ml de metanol, agitar durante 30 minutos, completar a volumen con el mismo solvente, mezclar y permitir que decante lo insoluble. Transferir 3,0 ml del sobrenadante a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativa deben ser aproximadamente 0,75 para claritromicina y 1,0 para la impureza A de claritromicina; la resolución *R* entre la claritromicina y la impureza A de claritromicina no debe ser menor de 2,0. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna, determinada sobre el pico de claritromicina, no debe ser menor de 750 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser menor de 0,9 y mayor de 1,5; la

desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (entre 20 y 50 μl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $\text{C}_{38}\text{H}_{69}\text{NO}_{13}$ en los Comprimidos de Claritromicina, de acuerdo a la cantidad declarada.

CLOFAZIMINA

CÁPSULAS

Definición - Las Cápsulas de Clofazimina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{27}H_{22}Cl_2N_4$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Clofazimina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Pureza cromatográfica*. El valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

B - Examinar los espectros de absorción obtenidos en *Valoración*. El espectro de absorción ultravioleta obtenido a partir de la *Preparación muestra* debe presentar máximos y mínimos de absorción a las mismas longitudes de onda que el obtenido con la *Preparación estándar*.

Ensayo de disgregación <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: agua; 500 ml.

Tiempo: 15 minutos.

Procedimiento - Colocar una Cápsula de Clofazimina en cada vaso y permitir que la Cápsula de Clofazimina descienda hasta el fondo del vaso antes de comenzar la rotación de la paleta. Observar las Cápsulas de Clofazimina y registrar los tiempos en que la cobertura de cada cápsula se rompe.

Tolerancia - El tiempo de ruptura de todas las Cápsulas de Clofazimina en ensayo no debe ser menor que 15 minutos. Si una o dos Cápsulas de Clofazimina se rompen en más de 15 minutos pero no más de 30 minutos, se debe repetir el ensayo con doce Cápsulas de Clofazimina adicionales. No deben romperse más de dos Cápsulas de Clofazimina de un total de dieciocho ensayadas en más de 15 minutos pero menos de 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control higiénico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria, Fase móvil, Solución de amoníaco y Procedimiento - Proceder según se indica en *Pureza cromatográfica en Clofazimina*.

Solución estándar A - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clofazimina SR-FA en cloruro de metileno y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg por ml.

Solución estándar B - Diluir una porción de la *Solución estándar A* con cloruro de metileno para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml.

Solución estándar C - Diluir una porción de la *Solución estándar A* con cloruro de metileno para obtener una solución de aproximadamente 0,04 mg por ml.

Solución muestra - Pesar una porción del contenido de las Cápsulas de Clofazimina, equivalente a 500 mg de clofazimina, transferir a un envase apropiado, agregar 25 ml de cloruro de metileno, 25 ml de hidróxido de sodio 0,1 N, mezclar y sonicar durante 30 minutos. Retirar la fase de cloruro de metileno y filtrar a través de sulfato de sodio anhidro.

VALORACIÓN

Ácido clorhídrico metanólico 0,1 N - Transferir 10 ml de ácido clorhídrico a un matraz aforado de 1 litro que contenga 500 ml de metanol, mezclar y completar a volumen con metanol.

Solución blanco - Transferir 5 ml de cloruro de metileno a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Ácido clorhídrico metanólico 0,1 N* y mezclar.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clofazimina SR-FA en cloruro de metileno y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con cloruro de metileno para obtener una solución de aproximadamente a 0,075 mg por ml. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Ácido clorhídrico metanólico 0,1 N* y mezclar.

Preparación muestra - Remover, lo más completamente posible, el contenido de no menos de veinte Cápsulas de Clofazimina con la ayuda de cloruro de metileno. Disolver en cloruro de metileno, filtrar la solución a través de una torunda de algodón y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 0,075 mg por ml. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Ácido clorhídrico metanólico 0,1 N* y mezclar.

Procedimiento - Determinar las absorbancias (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*), de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, a la longitud de onda de máxima absorción, 491 nm,

empleando la *Solución blanco* para llevar a cero la lectura del aparato. Calcular la cantidad en mg de $C_{27}H_{22}Cl_2N_4$ en las Cápsulas de Clofazimina, en base a la cantidad declarada.

CLOMIPRAMINA, CLORHIDRATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Clorhidrato de Clomipramina deben contener no menos de 93,0 por ciento y no más de 107,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{19}H_{23}ClN_2 \cdot HCl$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Clomipramina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - El espectro de absorción ultravioleta de la *Preparación muestra* obtenida en *Valoración* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Pesar exactamente una cantidad equivalente a 50 mg de clorhidrato de clomipramina a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*. Disolver en 25 ml de agua y filtrar: debe responder a los ensayos para *Cloruros* <410>.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de disgregación <310>

No más de 30 minutos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Clorhidrato de Clomipramina, pesar una cantidad equivalente a 50 mg de clorhidrato de clomipramina, transferir a un matraz aforado de 250 ml, agregar 100 ml de ácido clorhídrico 0,1 N y agitar durante 30 minutos. Completar a volumen con el mismo solvente, mezclar y filtrar descartando los primeros mililitros del filtrado. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con ácido clorhídrico 0,1 N y mezclar.

Preparación estándar - Preparar una solución de aproximadamente 20 µg de Clorhidrato de Clomipramina por ml del mismo modo que la

Preparación muestra, empleando Clorhidrato de Clomipramina SR-FA.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* a la longitud de onda de máxima absorción, 252 nm, con un espectrofotómetro, empleando como blanco ácido clorhídrico 0,1 N. Calcular la cantidad de $C_{19}H_{23}ClN_2 \cdot HCl$ en los Comprimidos de Clorhidrato de Clomipramina, de acuerdo a la cantidad declarada.

CLOMIPRAMINA, CLORHIDRATO DE GRAGEAS

Definición - Las Grageas de Clorhidrato de Clomipramina deben contener no menos de 93,0 por ciento y no más de 107,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{19}H_{23}ClN_2 \cdot HCl$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Clomipramina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - El espectro de absorción ultravioleta obtenido a partir de la *Preparación muestra* en *Valoración* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Eliminar la cubierta de no menos de diez Grageas de Clorhidrato de Clomipramina. Pesar y reducir a polvo fino, pesar una cantidad equivalente a 50 mg de clorhidrato de clomipramina, disolver con 25 ml de agua y filtrar: debe responder a los ensayos para *Cloruros* <410>.

C - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria, Fase móvil, Revelador y Solución estándar - Proceder según se indica en *Ensayo de Identificación C* en *Comprimidos de Clorhidrato de Clomipramina*.

Solución muestra - Eliminar la cubierta de no menos de diez Grageas de Clorhidrato de Clomipramina. Pesar y reducir a polvo fino, pesar una cantidad equivalente a 50 mg de clorhidrato de clomipramina, agregar 20 ml de agua, agitar durante 10 minutos y filtrar. Transferir el filtrado a una ampolla de decantación y alcalinizar con hidróxido de sodio 2 N. Proceder con esta solución según se indica en *Solución estándar* comenzando donde dice "extraer con dos porciones...".

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* en *Ensayo de Identificación C* en *Comprimidos de Clorhidrato de Clomipramina*. La mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder en valor de R_f , tamaño y color con los de la *Solución estándar*.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de disgregación <310>

No más de 60 minutos.

Control higiénico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Preparación muestra - Eliminar la cubierta de no menos de veinte Grageas de Clorhidrato de Clomipramina y proceder según se indica en *Valoración* en *Comprimidos de Clorhidrato de Clomipramina*.

Preparación estándar - Proceder según se indica en *Valoración* en *Comprimidos de Clorhidrato de Clomipramina*.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, 252 nm, con un espectrofotómetro, empleando ácido clorhídrico 0,1 N como blanco. Calcular la cantidad en mg de $C_{19}H_{23}ClN_2 \cdot HCl$ por Gragea de Clorhidrato de Clomipramina en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$CD(A_M/A_E)$$

en la cual C es la concentración en mg por ml de Clorhidrato de Clomipramina SR-FA, D es el factor de dilución de Clorhidrato de Clomipramina en la *Preparación muestra*, y A_M y A_E son las absorbancias de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, respectivamente.

CLORANFENICOL

CÁPSULAS

Definición - Las Cápsulas de Cloranfenicol deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Cloranfenicol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,01 N; 900 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ disuelta a partir de las absorbancias medidas en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 278 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Cloranfenicol SR-FA, en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 85 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Cloranfenicol*.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Cloranfenicol SR-FA, transferir a un matraz aforado de 200 ml, agregar 10 ml de agua, sonicar y agitar hasta disolución completa. Completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Preparación muestra - Transferir un número exacto de Cápsulas de Cloranfenicol, equivalente a

2.500 mg de cloranfenicol, a un recipiente apropiado, agregar 100 ml de agua y calentar en un baño de vapor hasta que las cápsulas se desintegren. Agregar 300 ml de agua y calentar en un baño de vapor durante 20 minutos, mezclando ocasionalmente. Enfriar a temperatura ambiente, transferir cuantitativamente a un matraz aforado de 1 litro, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración en Cloranfenicol*. Calcular la cantidad de $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ en las Cápsulas de Cloranfenicol, de acuerdo a la cantidad declarada.

CLORANFENICOL

COMPRIMIDOS

Cloranfenicol, de acuerdo a la cantidad declarada.

Definición - Los Comprimidos de Cloranfenicol deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Cloranfenicol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disgregación <310>

Debe cumplir con los requisitos en un tiempo de 60 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Cloranfenicol*.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Cloranfenicol SR-FA, transferir a un matraz aforado de 200 ml, agregar 10 ml de agua y calentar en un baño de vapor hasta disolución completa. Enfriar a temperatura ambiente, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Cloranfenicol. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 500 mg de cloranfenicol, transferir a un matraz aforado de 200 ml, agregar 80 ml de agua y calentar en un baño de vapor durante 20 minutos, mezclando ocasionalmente. Enfriar a temperatura ambiente, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración en Cloranfenicol*. Calcular la cantidad de $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ en los Comprimidos de

CLORANFENICOL

SOLUCIÓN OFTÁLMICA

Definición - La Solución Oftálmica de Cloranfenicol es una solución estéril de *Cloranfenicol*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 130,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Cloranfenicol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto. Conservar en refrigerador hasta su dispensación.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación del pH <250>

Entre 7,0 y 7,5.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos según se indica en *Método de filtración por membrana*.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Cloranfenicol*.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Cloranfenicol SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 100 µg por ml.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Oftálmica de Cloranfenicol, equivalente a 50 mg de cloranfenicol, a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración en Cloranfenicol*. Calcular la cantidad de $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ en la Solución Oftálmica de Cloranfenicol, de acuerdo a la cantidad declarada.

ROTULADO

En el rótulo debe figurar la siguiente leyenda: “Descartar una vez finalizado el tratamiento”.

CLORANFENICOL

SOLUCIÓN ÓTICA

Definición - La Solución Ótica de Cloranfenicol es una solución estéril de *Cloranfenicol*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 130,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Cloranfenicol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre hermético.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 2,0 %.

Determinación del pH <250>

Entre 4,0 y 8,0, determinado sobre una solución diluida al medio con agua.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos según se indica en *Método de filtración por membrana* en *Procedimiento general*.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración* en *Cloranfenicol*.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Cloranfenicol SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente y en etapas con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 100 µg por ml.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Ótica de Cloranfenicol, equivalente a 50 mg de cloranfenicol, a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración* en *Cloranfenicol*. Calcular la cantidad de $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ en la Solución Ótica de Cloranfenicol, de acuerdo a la cantidad declarada.

CLORANFENICOL, SUCCINATO SÓDICO DE PARA INYECCIÓN

Definición - El Succinato Sódico de Cloranfenicol debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más del 105,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Cloranfenicol SR-FA. Succinato Sódico de Cloranfenicol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos sellados para sólidos estériles, de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria, Fase móvil, Solución estándar A y Solución estándar B - Proceder según se indica en el ensayo de *Identificación A* en *Succinato Sódico de Cloranfenicol*.

Solución muestra - Pesar exactamente una cantidad del Succinato Sódico de Cloranfenicol para Inyección, equivalente a 20 mg de cloranfenicol, y disolver en 2 ml de acetona.

Procedimiento - Proceder según se indica en el ensayo de *Identificación A* en *Succinato Sódico de Cloranfenicol*.

B - Debe responder a los ensayos para Sodio <410>.

Determinación de pH <250>

Entre 6,0 y 7,0; determinado sobre una solución equivalente a 200 mg de Cloranfenicol por ml.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 5,0 %, determinado sobre 500 mg.

Ensayo de piretógenos <340>

Debe cumplir con los requisitos. Inyectar a cada conejo 2,0 ml de una solución de aproximadamente 1,8 mg de Cloranfenicol por ml en *Agua para inyectables*, por kilogramo de peso corporal.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos del ensayo.

VALORACIÓN

Preparación muestra - Pesar el contenido de diez envases de Succinato Sódico de Cloranfenicol para Inyección y mezclar. Disolver una cantidad equivalente a 200 mg de cloranfenicol en agua y

diluir a 500 ml con el mismo solvente. Diluir 5 ml de esta solución a 100 ml con agua.

Preparación estándar - Preparar una solución de Succinato Sódico de Cloranfenicol SR-FA de aproximadamente 0,02 mg de cloranfenicol por ml en agua.

Procedimiento - Determinar concomitantemente las absorbancias de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* a la longitud de onda de máxima absorción, 276 nm, con un espectrofotómetro, empleando agua como blanco. Calcular el contenido de $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ en Succinato Sódico de Cloranfenicol para Inyección, de acuerdo a la cantidad declarada.

ROTULADO

Indicar en el rótulo la cantidad de Succinato Sódico de Cloranfenicol en términos de cantidad equivalente a Cloranfenicol.

CLORFENIRAMINA MALEATO DE, COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Maleato de Clorfeniramina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Maleato de Clorfeniramina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Solución muestra - Pesar una cantidad equivalente a 25 mg de maleato de clorfeniramina, a partir del polvo fino obtenido en *Preparación muestra* en *Valoración* y dispersar en aproximadamente 20 ml de ácido clorhídrico diluido 1 en 100.

Solución estándar - Disolver alrededor de 25 mg de Maleato de Clorfeniramina SR-FA en 20 ml de ácido clorhídrico diluido 1 en 100.

Procedimiento - Proceder con la *Solución muestra* y la *Solución estándar* del siguiente modo. Alcalinizar hasta pH 11,0 con solución de hidróxido de sodio (1 en 10). Extraer con dos porciones de 50 ml de éter de petróleo, recoger los extractos y evaporar hasta sequedad. Preparar una dispersión del residuo obtenido en aceite mineral y determinar el espectro de absorción infrarroja de la preparación en la región entre 2 y 12 μ m: el espectro de la *Solución muestra* debe presentar máximos sólo a las mismas longitudes de onda que el de la *Solución estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,01 N; 500 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$ disuelta a partir de las absorbancias al ultravioleta, a la longitud de onda de máxima absorción, 265 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Maleato de Clorfeniramina SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 80 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Maleato de Clorfeniramina. Transferir una porción exactamente pesada, equivalente a 4 mg de maleato de clorfeniramina, a una ampolla de decantación de 125 ml. Agregar 20 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 100) y agitar durante 5 minutos. Agregar 20 ml de éter de petróleo, agitar cuidadosamente, filtrar la fase ácida y transferirla a una segunda ampolla de decantación de 125 ml. Agitar la fase etérea con dos porciones de 10 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 100), filtrar cada porción de ácido, transferirla a la segunda ampolla de decantación y descartar el éter de petróleo. Agregar al extracto ácido 10 ml de hidróxido de sodio (SR) y 50 ml de éter de petróleo, agitar cuidadosamente y transferir la fase acuosa a una tercera ampolla de decantación de 125 ml que contenga 50 ml de éter de petróleo. Agitar la tercera ampolla de decantación cuidadosamente y descartar la fase acuosa. Lavar las dos soluciones de éter de petróleo, sucesivamente, con una sola porción de 20 ml de agua y descartar el agua. Extraer cada una de las dos soluciones de éter de petróleo con porciones de 20, 20 y 5 ml de ácido sulfúrico (1 en 70), en el orden enumerado, pero siempre extrayendo primero la solución de éter de petróleo de la tercera ampolla de decantación y luego de la segunda ampolla de decantación. Combinar los extractos ácidos en un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con ácido y mezclar.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 40 mg de Maleato de Clorfeniramina SR-FA, disolver en 200,0 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 100). Proceder con 20,0 ml de esta solución del mismo modo que con la *Preparación muestra*.

Procedimiento - Diluir 10,0 ml de la *Preparación muestra* y 10,0 ml de la *Preparación estándar* a 25,0 ml con ácido clorhídrico diluido (1 en 100) y determinar la absorbancia de cada solución a la longitud de onda de máxima absorción, 264 nm, empleando ácido clorhídrico diluido (1 en 100) como blanco. Calcular la cantidad de $C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$ en los Comprimidos de Maleato de Clorfeniramina, de acuerdo a la cantidad declarada.

CLORFENIRAMINA, MALEATO DE SOLUCIÓN ORAL

Definición - La Solución Oral de Maleato de Clorfeniramina debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Maleato de Clorfeniramina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Evaporar el extracto remanente obtenido en *Valoración* en un baño de vapor hasta un menor volumen, transferir a un recipiente pequeño y continuar la evaporación hasta que los vapores de hexano no sean perceptibles. Transferir el residuo oleoso, con la ayuda de cuatro porciones de 3 ml de dimetilformamida, a una probeta graduada, diluir hasta un volumen de 15 ml y mezclar: la rotación óptica de la solución obtenida, en una celda de 100 mm y corregida por el blanco, no debe ser mayor de $+0,01^\circ$ (*diferencia con maleato de dexlorfeniramina*).

B - Absorción ultravioleta <470>

La *Preparación muestra* obtenida en *Valoración* debe presentar máximos de absorbancia a las mismas longitudes de onda que una solución de concentración similar de Maleato de Clorfeniramina SR-FA.

Determinación de alcohol <130>

Entre 6,0 y 8,0 % de alcohol.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Extracto ácido - Transferir 50 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 100) a una ampolla de decantación, lavar con tres porciones de 30 ml de cloroformo, luego con 50 ml de éter de petróleo y descartar los lavados. Filtrar la fase ácida.

Preparación estándar - Pesar exactamente 40 mg de Maleato de Clorfeniramina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 10 ml de esta solución a una ampolla de decantación, agregar 10 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 10) y

extraer con dos porciones de 50 ml de éter de petróleo. Combinar los extractos en una segunda ampolla de decantación, lavar con 10 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 250) y descartar los lavados. Extraer la solución etérea con porciones de 40 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 100), transferir los extractos a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con el mismo ácido clorhídrico diluido y mezclar. Lavar una porción de 50 ml de la solución con tres porciones de 30 ml de cloroformo, luego con 50 ml de éter de petróleo y descartar los lavados. Filtrar la fase ácida.

Preparación muestra - Transferir 10,0 ml, exactamente medidos, de la Solución Oral de Maleato de Clorfeniramina a una ampolla de decantación y proceder según se indica en *Preparación estándar*, comenzando donde dice: "agregar 10 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 10)".

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra* en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, 264 nm, con un espectrofotómetro, empleando el *Extracto ácido* como blanco. Calcular la cantidad de $C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$ en la Solución Oral de Maleato de Clorfeniramina, de acuerdo a la cantidad declarada.

CLOROQUINA, FOSFATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Fosfato de Cloroquina deben contener no menos de 93,0 por ciento y no más de 107,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{18}H_{26}ClN_3 \cdot 2H_3PO_4$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Fosfato de Cloroquina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción ultravioleta <470>

El espectro de absorción ultravioleta obtenido a partir de la *Preparación muestra* en *Valoración* debe presentar máximos y mínimos a las mismas longitudes de onda que el de una solución similar de Fosfato de Cloroquina SR-FA, medido concomitantemente. El cociente A_{343}/A_{329} debe estar comprendido entre 1,00 y 1,15.

B - A 20 ml de una solución filtrada de los Comprimidos de Fosfato de Cloroquina en agua, equivalente a 20 mg fosfato de cloroquina por ml, agregar 5 ml de trinitrofenol (SR): se debe producir un precipitado amarillo. Filtrar, lavar el precipitado con agua hasta que el lavado sea incoloro y secar sobre gel de sílice: el precipitado debe fundir entre 205 y 210 °C.

Precaución - Los picratos pueden estallar.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 100 rpm.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{18}H_{26}ClN_3 \cdot 2H_3PO_4$ disuelta a partir de las absorbancias medidas en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 343 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Fosfato de Cloroquina SR-FA, en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{18}H_{26}ClN_3 \cdot 2H_3PO_4$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Diluyente - Ácido clorhídrico diluido (1 en 1.000).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Fosfato de Cloroquina SR-FA en *Diluyente* y diluir cuantitativamente y en etapas con el mismo solvente hasta obtener una solución de aproximadamente 10 µg por ml.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Fosfato de Cloroquina. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 800 mg de fosfato de cloroquina, transferir a un matraz aforado de 200 ml, agregar aproximadamente 100 ml de agua y agitar durante 20 minutos. Completar a volumen con agua, mezclar y filtrar, descartando los primeros 50 ml del filtrado. Transferir 50 ml del filtrado transparente a una ampolla de decantación de 250 ml, agregar 5 ml de hidróxido de amonio 6 N, agitar y extraer la cloroquina liberada con cinco porciones de 25 ml de cloroformo. Lavar los extractos clorofórmicos combinados con 10 ml de agua y extraer el lavado de agua con 10 ml de cloroformo. Evaporar los extractos clorofórmicos combinados en un baño de vapor hasta aproximadamente 10 ml, agregar 50 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 250) y continuar calentando en el baño de vapor hasta no percibir más olor a cloroformo. Transferir la solución a un matraz aforado de 200 ml, lavar el recipiente de evaporación con porciones de *Diluyente*, agregando los lavados al matraz aforado, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Diluir esta solución cuantitativamente y en etapas con *Diluyente* hasta obtener una solución de aproximadamente 10 µg por ml.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra* a la longitud de onda de máxima absorción, 343 nm, empleando *Diluyente* como blanco. Calcular la cantidad de $C_{18}H_{26}ClN_3 \cdot 2H_3PO_4$ en los Comprimidos de Fosfato de Cloroquina, de acuerdo a la cantidad declarada.

CLOROQUINA, SULFATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Sulfato de Cloroquina deben contener no menos de 92,5 por ciento y no más de 107,5 por ciento de la cantidad declarada de $C_{18}H_{26}ClN_3 \cdot H_2SO_4 \cdot H_2O$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Sulfato de Cloroquina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>

Pesar exactamente una cantidad equivalente a 100 mg de sulfato de cloroquina a partir del polvo fino obtenido en *Valoración*. Proceder según se indica en *Identificación A* en *Sulfato de Cloroquina*.

B - Pesar exactamente una cantidad equivalente a 100 mg de sulfato de cloroquina a partir del polvo fino obtenido en *Valoración* y agitar con 10 ml de agua y 1 ml de ácido clorhídrico 2 N. Filtrar y agregar 1 ml de cloruro de bario (SR): se debe producir un precipitado amarillo.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,1 N; 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{18}H_{26}ClN_3 \cdot H_2SO_4 \cdot H_2O$ disuelta a partir de las absorbancias medidas en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 344 nm, empleando como coeficiente de extinción específico $E(1\%, 1\text{ cm})$ en el máximo de absorción el valor de 450.

Tolerancia - No menos de 70 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{18}H_{26}ClN_3 \cdot H_2SO_4 \cdot H_2O$ se debe disolver en 45 minutos.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver *100. Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, ciclohexano y dietilamina (50:40:10).

Solución muestra - Reducir a polvo fino los Comprimidos de Sulfato de Cloroquina, pesar una

cantidad equivalente a 2,0 g de sulfato de cloroquina, agitar con 50 ml de agua durante 30 minutos, centrifugar y emplear el líquido sobrenadante. Filtrar, si fuera necesario.

Solución estándar A - Diluir 1,0 ml de la *Solución muestra* a 100 ml con agua.

Solución estándar B - Diluir 25,0 ml de la *Solución estándar A* a 50 ml con agua.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 2 μ l de la *Solución muestra* y 2 μ l de las *Soluciones estándar A* y *B*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Dejar secar la placa al aire. Examinar los cromatogramas bajo luz ultravioleta a 254 nm: ninguna mancha secundaria en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser más intensa que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar A* y no más de una mancha de dichas manchas puede ser más intensa que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar B*.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Sulfato de Cloroquina. Pesar una cantidad equivalente a 500 mg de sulfato de cloroquina, disolver en 20 ml de hidróxido de sodio 1 N. Extraer con cuatro porciones de 25 ml de cloroformo. Combinar los extractos clorofórmicos y evaporar hasta un volumen de aproximadamente 10 ml. Agregar 40 ml de ácido acético anhidro y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV). Determinar el punto final potenciométricamente. Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 20,90 mg de $C_{18}H_{26}ClN_3 \cdot H_2SO_4$

CLORPROMACINA, CLORHIDRATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Clorhidrato de Clorpromacina deben contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{17}H_{19}ClN_2S \cdot HCl$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Clorpromacina SR-FA.

[NOTA: en todos los *Procedimientos* siguientes proteger la muestra, la *Sustancia de referencia* y las soluciones que la contienen, realizando los procedimientos sin demora, bajo luz de baja intensidad y empleando material de vidrio inactínico].

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Los Comprimidos de Clorhidrato de Clorpromacina deben responder al ensayo de *Identificación B* en *Clorhidrato de Clorpromacina*.

B - Pesar una cantidad equivalente a 25 mg de clorhidrato de clorpromacina, a partir del polvo fino obtenido en *Preparación muestra* en *Valoración*, suspender en 25 ml de agua y filtrar: la solución obtenida debe responder al ensayo de *Identificación C* en *Clorhidrato de Clorpromacina*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 50 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,1 N; 900 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{17}H_{19}ClN_2S \cdot HCl$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 254 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Clorhidrato de Clorpromacina SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{17}H_{19}ClN_2S \cdot HCl$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Otras fenotiacinas alquiladas

Fase estacionaria, *Fase móvil*, *Solución estándar*, *Solución estándar diluida* y *Procedimiento* -

Proceder según se indica en en *Otras fenotiacinas alquiladas* en *Clorhidrato de Clorpromacina*.

Solución muestra - [NOTA: si son grageas eliminar la cubierta de azúcar por lavado previo con agua]. Pesar una cantidad equivalente a 50 mg de clorhidrato de clorpromacina, a partir del polvo fino obtenido en *Preparación muestra* en *Valoración*, transferir a un tubo de centrifuga con tapón, agregar 10 ml de metanol, agitar y centrifugar.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Clorhidrato de Clorpromacina. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 100 mg de clorhidrato de clorpromacina, transferir a un matraz aforado de 500 ml. Agregar aproximadamente 200 ml de agua y 5 ml de ácido clorhídrico, tapar y agitar durante 10 minutos. Completar a volumen con agua y mezclar. Filtrar una porción de esta solución, descartando los primeros 50 ml del filtrado. Transferir 10 ml de la solución a una ampolla de decantación de 250 ml, agregar aproximadamente 20 ml de agua, alcalinizar con hidróxido de amonio y extraer con cuatro porciones de 25 ml de éter. Extraer los extractos etéreos combinados con cuatro porciones de 25 ml de ácido clorhídrico 0,1 N pasar una corriente de aire para eliminar el éter residual y transferir los extractos acuosos a un matraz aforado de 250 ml. Completar a volumen con ácido clorhídrico 0,1 N y mezclar.

Preparación estándar - Pesar exactamente una cantidad de Clorhidrato de Clorpromacina SR-FA, disolver en ácido clorhídrico 0,1 N y diluir cuantitativamente y en etapas con el mismo solvente hasta obtener una solución de aproximadamente 8 µg por ml.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y la *Solución estándar* en celdas de 1 cm, determinadas a las longitudes de onda de máxima absorción, 254 y 277 nm, con un espectrofotómetro, empleando ácido clorhídrico 0,1 N como blanco. Calcular la cantidad de $C_{17}H_{19}ClN_2S \cdot HCl$ en los Comprimidos de Clorhidrato de Clorpromacina de acuerdo a la cantidad declarada, relacionando las diferencias entre las absorbancias a 254 y 277 nm, para la *Solución muestra* y la *Solución estándar*.

CLORPROMAZINA, CLORHIDRATO DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Clorhidrato de Clorpromazina es una solución estéril de *Clorhidrato de Clorpromazina en Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 95 por ciento y no más de 105 por ciento de la cantidad declarada de $C_{17}H_{19}ClN_2S \cdot HCl$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Clorpromazina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos monodosis o multidosis, de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

[NOTA: proteger las muestras o soluciones de *Valoración*, la Sustancia de referencia y las soluciones que las contienen, realizando los procedimientos siguientes sin demora, bajo luz de baja intensidad o empleando material de vidrio inactínico].

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver *100. Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Éter y acetato de etilo saturado con hidróxido de amonio (50:50)

Solución estándar - Disolver una cantidad apropiada de Clorhidrato de Clorpromazina SR-FA en metanol diluido 9 en 10 para obtener una solución de aproximadamente 2,5 mg por ml.

Solución muestra - Transferir un volumen de Solución Inyectable de Clorhidrato de Clorpromazina, equivalente a 25 mg de clorhidrato de clorpromazina, a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 μ l de la *Solución muestra* y 5 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente de solvente y dejar secar al aire. Examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal obtenida a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

B - Debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Límite de sulfóxido de clorpromazina

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver *100. Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Éter y acetato de etilo saturado con hidróxido de amonio (50:50)

Solución estándar - Disolver una cantidad apropiada de Clorhidrato de Clorpromazina SR-FA en metanol para obtener una solución de aproximadamente 50 μ g por ml.

Solución muestra - Transferir 4 ml de la *Solución muestra* preparada con metanol según se indica en *Ensayo de Identificación A*, a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución estándar* y 10 μ l de *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones con la ayuda de una corriente de nitrógeno y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm: en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* puede aparecer una única mancha a excepción de la mancha principal; el tamaño e intensidad de la misma no deben ser mayores que el tamaño e intensidad que la mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar* (5,0 %).

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 3,4 y 5,4.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 6,9 Unidades de Endotoxina por mg de Clorhidrato de Clorpromazina.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de Solución Inyectable de Clorhidrato de Clorpromazina, equivalente a

100 mg de clorhidrato de clorpromazina, a un matraz aforado de 500 ml, completar a volumen con ácido clorhídrico 0,1 N y mezclar. Transferir 10 ml de esta solución en una ampolla de decantación, agregar aproximadamente 20 ml de agua, alcalinizar con hidróxido de amonio y extraer con cuatro porciones de 25 ml de éter. Combinar los extractos etéreos, extraer con cuatro porciones de 25 ml de ácido clorhídrico 0,1 N y transferir los extractos acuosos a un matraz aforado de 250 ml. Burbujear para eliminar el éter residual, completar a volumen con ácido clorhídrico 0,1 N y mezclar.

Preparación estándar - Pesar exactamente una cantidad apropiada de Clorhidrato de Clorpromazina SR-FA, disolver en ácido clorhídrico 0,1 N y diluir cuantitativamente y en etapas con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 8 µg por ml.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, en celdas de 1 cm a las longitudes de onda de máxima absorción, 254 y 277 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando ácido clorhídrico 0,1 N como blanco. Calcular la cantidad de $C_{17}H_{19}ClN_2S \cdot HCl$ en de la Solución Inyectable de Clorhidrato de Clorpromazina, relacionando las diferencias de las absorbancias a 254 y 277 nm obtenidas a partir de la *Solución muestra* y de la *Solución estándar*.

COLCHICINA, COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Colchicina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{22}H_{25}NO_6$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Colchicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarrojo <460>. *En fase sólida.*

Pesar exactamente una cantidad equivalente a 20 mg de colchicina a partir del polvo fino obtenido en *Valoración*. Suspender en 20 ml de agua, dejar sedimentar los sólidos y filtrar el líquido sobrenadante en una ampolla de decantación. Extraer con 30 ml de cloroformo. Evaporar el extracto cloroformico hasta sequedad, calentando ligeramente.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

[NOTA: realizar este *Procedimiento* sin demora, con luz tenue y empleando material de vidrio inactínico].

Procedimiento para muestreo unificado

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: agua; 500 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar, reunir en un recipiente apropiado y determinar la cantidad de $C_{22}H_{25}NO_6$ disuelta, mediante la técnica siguiente.

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar, Aptitud del sistema y Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración*.

Tolerancia - No menos de 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{22}H_{25}NO_6$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

[NOTA: realizar todas las diluciones en material de vidrio inactínico].

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Colchicina*.

Preparación muestra - [NOTA: preparar inmediatamente antes de su uso]. Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Colchicina. Transferir una porción exactamente pesada, equivalente a 0,6 mg de colchicina, a un matraz aforado de 100 ml, agregar alrededor de 50 ml de una mezcla de metanol y agua (1:1) y agitar mecánicamente durante 15 minutos, enjuagar las paredes del matraz aproximadamente durante 8 minutos. Completar a volumen con la misma mezcla y filtrar.

Procedimiento - Proceder según se indica para *Procedimiento en Valoración en Colchicina*. Calcular la cantidad de $C_{22}H_{25}NO_6$ en los Comprimidos de Colchicina, de acuerdo a la cantidad declarada.

DACTINOMICINA

PARA INYECCIÓN

Definición - Dactinomicina para Inyección es una mezcla estéril que contiene *Dactinomicina* y *Manitol*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{62}H_{86}N_{12}O_{16}$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Dactinomicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de vidrio Tipo I.

Precaución - Prevenir su inhalación y contacto con la piel.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe responder al ensayo de *Identificación A* en *Dactinomicina*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Preparación estándar*.

Aspecto de la solución reconstituida

Reconstituir la Dactinomicina para Inyección según se indica en el rótulo. La solución reconstituida debe cumplir con los requisitos en 280. *Disolución completa* y estar libre de partículas extrañas cuando se realiza una inspección visual.

Determinación del pH <250>

Entre 5,5 y 7,5; determinado sobre una solución reconstituida según se indica en el rótulo.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 100,0 Unidades de Endotoxina por mg de dactinomicina.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, según se indica en *Método de filtración por membrana*, reconstituyendo asépticamente con *Agua estéril para inyectables* cada envase de Dactinomicina para Inyección y recolectando asépticamente el contenido de todos los envases con la ayuda de 200 ml de *Solución A*.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío, a una presión inferior a 5 mm Hg, a 60 °C, durante 3 horas: no debe perder más de 4,0 % de su peso.

VALORACIÓN

[NOTA: efectuar la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* en el momento de su uso y protegerlas en todo momento de la luz].

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,5 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo y agua (6:4). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Dactinomicina SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente para obtener una solución de aproximadamente 250 µg por ml.

Preparación muestra - Agregar un volumen exactamente medido de *Fase móvil* a un envase de Dactinomicina para Inyección para obtener una solución de aproximadamente 250 µg por ml, filtrando si fuera necesario.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 1.200 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para tres inyecciones repetidas no debe ser mayor de 3,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatografo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{62}H_{86}N_{12}O_{16}$ en Dactinomicina para Inyección, de acuerdo a la cantidad declarada.

ROTULADO

En el rótulo debe figurar la siguiente leyenda: "Proteger de la luz".

DAPSONA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Dapsona deben contener no menos de 92,5 por ciento y no más de 107,5 por ciento de la cantidad declarada de $C_{12}H_{12}N_2O_2S$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Dapsona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Pesar una cantidad equivalente a 100 mg de dapsona a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*. Transferir a un envase apropiado, agregar 5 ml de acetona, agitar durante 5 minutos, filtrar y evaporar el filtrado hasta sequedad. Secar el residuo a 105 °C durante 1 hora: el residuo obtenido debe responder al ensayo de *Identificación A* en *Dapsona*.

B - Pesar una cantidad equivalente a 100 mg de dapsona a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*, suspender en 50 ml de metanol y filtrar. Diluir una porción del filtrado con metanol hasta obtener una solución de aproximadamente 5 µg por ml: debe responder al ensayo de *Identificación B* en *Dapsona*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: ácido clorhídrico diluido (2 en 100); 1.000 ml.

Tiempo: 60 minutos.

Transferir a un matraz aforado de 25 ml una porción exactamente medida del filtrado, que contenga aproximadamente 0,2 mg de dapsona, agregar 5 ml de hidróxido de sodio 1 N, completar a volumen con agua y mezclar.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{12}H_{12}N_2O_2S$ disuelta a partir de las absorbancias medidas en el ultravioleta determinadas a la longitud de onda de máxima absorción, 290 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Dapsona SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{12}H_{12}N_2O_2S$ se debe disolver en 60 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido.

Solución muestra - Transferir un Comprimido de Dapsona a un matraz aforado de 100 ml, agregar 2,0 ml de agua y dejar reposar durante 30 minutos, agitando ocasionalmente por rotación. Agregar aproximadamente 70 ml de metanol y sonicar hasta que la muestra esté completamente disuelta. Completar a volumen con metanol, mezclar y centrifugar una porción de la mezcla. Diluir con metanol un volumen exactamente medido del líquido sobrenadante transparente para obtener una solución de aproximadamente 8 µg de dapsona por ml.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Dapsona SR-FA en metanol para obtener una solución de aproximadamente 8 µg de Dapsona SR-FA por ml.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y de la *Solución estándar* en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, 296 nm, con un espectrofotómetro empleando metanol como blanco. Calcular la cantidad de $C_{12}H_{12}N_2O_2S$ en cada Comprimido de Dapsona en ensayo, en base a la cantidad declarada.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración* en *Dapsona*.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Dapsona. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 50 mg de dapsona, transferir a un matraz aforado de 200 ml. Agregar 150 ml de metanol y colocar el matraz en un baño ultrasónico a 35 °C durante 15 minutos, agitando ocasionalmente. Dejar enfriar a temperatura ambiente, completar a volumen con metanol y mezclar. Centrifugar una porción de la mezcla hasta que sea transparente. Transferir 5,0 ml del líquido sobrenadante transparente a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* en *Valoración* en *Dapsona*. Calcular la cantidad de $C_{12}H_{12}N_2O_2S$ en los Comprimidos de Dapsona, de acuerdo a la cantidad declarada.

DEFEROXAMINA, MESILATO DE PARA INYECCIÓN

Definición - El Mesilato de Deferoxamina para Inyección debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{25}H_{48}N_6O_8 \cdot CH_4O_3S$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Mesilato de Deferoxamina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis o multidosis, de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

Debe responder a los ensayos de *Identificación A* y *B* en *Mesilato de Deferoxamina*.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 1,5 %.

Determinación del pH <250>

Entre 4,0 y 6,0; determinado sobre una solución 1 en 100.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 0,33 Unidades de Endotoxinas por mg de Mesilato de Deferoxamina.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Solución de cloruro férrico - Pesar 6,7 g de cloruro férrico, transferir a un matraz aforado de 100 ml y disolver con ácido clorhídrico diluido 1 en 100. Completar a volumen con el mismo solvente, mezclar y filtrar.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Mesilato de Deferoxamina SR-FA en agua para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml.

Preparación muestra - Reconstituir el contenido de un envase de Mesilato de Deferoxamina para Inyección en agua, diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml.

Solución blanco - Transferir 2 ml de agua a un

matraz aforado de 25 ml, agregar 3 ml de *Solución de cloruro férrico*, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Transferir 2 ml de la *Preparación estándar* y 2 ml de la *Preparación muestra* a sendos matraces aforados de 25 ml, agregar 3 ml de la *Solución de cloruro férrico*, completar a volumen con agua y mezclar. Determinar las absorbancias de las soluciones preparadas a partir de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* a la longitud de onda de máxima absorción, 485 nm, con un espectrofotómetro, empleando la *Solución blanco* como blanco. Calcular la cantidad de $C_{25}H_{48}N_6O_8 \cdot CH_4O_3S$ en Mesilato de Deferoxamina para Inyección, de acuerdo a la cantidad declarada.

DEXAMETASONA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Dexametasona deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{22}H_{29}FO_5$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Dexametasona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloruro de metileno y metanol (45:4).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Dexametasona SR-FA en cloroformo para obtener una solución de aproximadamente 500 µg por ml.

Solución muestra - Evaporar 10 ml del extracto metanólico de los Comprimidos de Dexametasona obtenido según se indica en *Preparación muestra* en *Valoración*, en un baño de vapor hasta sequedad y disolver el residuo en 1 ml con cloroformo.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de la *Solución muestra* y 20 µl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas según se indica en *Valoración de un esteroide aislado previamente* en 750. *Valoración de Esteroides*. Marcar el frente del solvente y examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: ácido clorhídrico diluido (1 en 100); 500 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y determinar la canti-

dad de $C_{22}H_{29}FO_5$ disuelta mediante la siguiente técnica.

Solución estándar - Preparar según se indica en *Preparación estándar* en *Valoración directa* en 750. *Valoración de Esteroides*, empleando Dexametasona SR-FA.

Solución muestra - Extraer cada alícuota filtrada con tres porciones de 15 ml de cloroformo, equivalente a 200 µg de dexametasona, evaporar los extractos clorofórmicos combinados en un baño de vapor hasta sequedad, enfriar y disolver el residuo en 20 ml de alcohol.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* en *Valoración directa* en 750. *Valoración de Esteroides*, excepto que se debe dejar reposar en la oscuridad durante 45 minutos.

Tolerancia - No menos de 70 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{22}H_{29}FO_5$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido.

Solución estándar - Preparar según se indica en *Preparación estándar* en *Valoración directa* en 750. *Valoración de Esteroides*, empleando Dexametasona SR-FA.

Solución muestra - Transferir un Comprimido de Dexametasona a una ampolla de decantación con 15 ml de agua y agitar por rotación hasta desintegrarlo completamente. Extraer con cuatro porciones de 10 ml de cloroformo, filtrando cada porción a través de una torunda de algodón previamente lavada con cloroformo en un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con cloroformo y mezclar. Transferir un volumen de esta solución, equivalente a 200 µg de dexametasona, a un erlenmeyer con tapón de vidrio de 50 ml, evaporar el cloroformo en un baño de vapor hasta sequedad, enfriar y disolver el residuo en 20,0 ml de alcohol. Emplear esta solución donde se especifica la *Preparación muestra* en *Procedimiento*.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* en *Valoración directa* en 750. *Valoración de Esteroides*, excepto que se debe dejar reposar en la oscuridad durante 45 minutos. Calcular la cantidad total de esteroides como $C_{22}H_{29}FO_5$ en los Comprimidos de Dexametasona.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo en agua (1 en 3). Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Metanol diluido (1 en 2).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Dexametasona SR-FA en *Diluyente* hasta obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de diez Comprimidos de Dexametasona. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 5 mg de dexametasona, transferir a un matraz aforado de 50 ml y agregar 30 ml de *Diluyente*. Sonicar aproximadamente durante 2 minutos, agitar durante 30 minutos y completar a volumen con el mismo solvente. Filtrar una porción de la mezcla hasta obtener un filtrado transparente.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: ajustar la *Fase móvil* de tal manera que el tiempo de retención de la dexametasona se encuentre entre 3 y 6 minutos; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 3,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente entre 5 y 25 µl) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos. Calcular la cantidad de C₂₂H₂₉FO₅ en los Comprimidos de Dexametasona, de acuerdo a la cantidad declarada.

DEXAMETASONA

SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Dexametasona es una solución estéril de *Dexametasona* en *Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{22}H_{29}FO_5$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Dexametasona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos monodosis o multidosis, de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloruro de metileno y metanol (180:16).

Revelador - Diluir una solución de ácido *p*-toluensulfónico 1 en 5 en una mezcla alcohol y propilenglicol (9:1). Mezclar y calentar.

Solución muestra - Transferir una cantidad de Solución Inyectable de Dexametasona, equivalente a 5,0 mg de dexametasona, a una ampolla de decantación de 50 ml, agregar 10 ml de agua, y extraer con dos porciones de 20 ml de cloroformo. Filtrar la fase inferior, transferir el filtrado a un erlenmeyer de 50 ml, evaporar hasta sequedad y disolver el residuo con 10 ml de cloroformo.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución estándar* y 10 μ l de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y examinar los cromatogramas: el valor de R_f de la mancha principal obtenida a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 4,0 y 5,5.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 21,0 Unidades de Endotoxinas por mg de dexametasona.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, cuando se procese según se indica en *Métodos de filtración por membrana*.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos para *Inyectables de Pequeño Volumen*.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua y acetonitrilo (70:30). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de aptitud del sistema - Preparar una solución de aproximadamente 0,30 mg de Dexametasona SR-FA, 1,35 mg de alcohol bencílico, 0,27 mg de metilparabeno y 0,03 mg de propilparabeno por ml en *Fase móvil*.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Dexametasona SR-FA en metanol para obtener una solución de aproximadamente 7,5 mg por ml. Transferir 4 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 0,3 mg de Dexametasona SR-FA por ml.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de Solución Inyectable de Dexametasona, equivalente aproximadamente a 30 mg de dexametasona, a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,4 para alcohol bencílico, 0,5 para metilparabeno, 1,0 para dexametasona y 1,4 para propilparabeno; la resolución *R* entre los picos de alcohol bencílico y metilparabeno, metilparabeno y dexametasona y dexametasona y propilparabeno no debe ser menor de 3,0. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los

picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0%.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{22}H_{29}FO_5$ en la Solución Inyectable de Dexametasona, de acuerdo a la cantidad declarada.

DEXAMETASONA, ACETATO DE SUSPENSIÓN INYECTABLE

Definición - La Suspensión Inyectable de Acetato de Dexametasona es una suspensión estéril de *Acetato de Dexametasona* en *Agua para Inyectables*. Debe contener una cantidad de Acetato de Dexametasona monohidrato ($C_{22}H_{29}FO_5 \cdot H_2O$) equivalente a no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de dexametasona ($C_{22}H_{29}FO_5$) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Acetato de Dexametasona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis o multidosis, de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión.*

Solución muestra - Transferir el contenido de un envase de Suspensión Inyectable de Acetato de Dexametasona, previamente agitado, a un recipiente apropiado, filtrar la suspensión a través de un filtro de vidrio de porosidad fina. Lavar el residuo con varias porciones de 10 ml de agua. Remover el polvo del filtro y dejar secar al aire. [NOTA: no emplear calor para secar la muestra. Puede ocurrir una deshidratación parcial o total]. Emplear una preparación similar de Acetato de Dexametasona SR-FA sin secar.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación del pH <210>

Entre 5,0 y 7,5.

Determinación del contenido extraíble del envase <250>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 21,7 Unidades de Endotoxinas por mg de Acetato de Dexametasona.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución reguladora de pH 6,0 y Diluyente - Proceder según se indica en *Valoración en Acetato de Dexametasona*.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Acetato de Dexametasona SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,09 mg por ml.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de Suspensión Inyectable de Acetato de Dexametasona, equivalente aproximadamente a 40 mg de dexametasona, a un matraz aforado de 100 ml, agregar 75 ml de *Diluyente*, sonicar hasta obtener una solución transparente, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales, (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* (antes y después de la *Preparación muestra*) y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{22}H_{29}FO_5$ en la Suspensión Inyectable de Acetato de Dexametasona, de acuerdo a la cantidad declarada.

DEXAMETASONA, FOSFATO SÓDICO DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Fosfato Sódico de Dexametasona es una solución estéril de Fosfato Sódico de Dexametasona en Agua para Inyectables. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 115,0 por ciento de la cantidad declarada de fosfato de dexametasona ($C_{22}H_{30}FO_8P$), presente como sal disódica y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias	de	referencia	-
Dexametasona SR-FA.	Fosfato	de	
Dexametasona SR-FA.			

CONSERVACIÓN

En envases inactivos monodosis o multidosis, de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. Cromatografía) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, acetona y agua (50:50:1).

Solución reguladora de pH 9,0 - Mezclar 3,1 g de ácido bórico y 500 ml de agua en un matraz aforado de 1 litro. Agregar 21 ml de hidróxido de sodio 1 N y 10 ml de cloruro de magnesio 0,1 M, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución de fosfatasa alcalina - Transferir 50 mg de fosfatasa alcalina a un matraz aforado de 50 ml y disolver con *Solución reguladora de pH 9,0*. Completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Solución estándar - Preparar una solución de Dexametasona SR-FA en cloruro de metileno de aproximadamente 300 µg por ml.

Solución muestra - Transferir un volumen de Solución Inyectable de Fosfato Sódico de Dexametasona, equivalente a 10 mg de fosfato de dexametasona, a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 5 ml de esta solución en una ampolla de decantación de 125 ml y lavar con dos porciones de 10 ml de cloruro de metileno lavado con agua, descartando los lavados. Transferir la solución a un tubo con tapón de vidrio de 50 ml y agregar 5 ml de *Solución de fosfatasa alcalina*. Dejar reposar a 37 °C durante 45 minutos y extraer con 25 ml de cloruro de metileno. Evaporar el extracto de

cloruro de metileno en un baño de vapor hasta sequedad y disolver el residuo en 1 ml de cloruro de metileno.

Revelador - Ácido sulfúrico diluido 1 en 2.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de la *Solución muestra* y 5 µl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar a 105 °C hasta que aparezcan manchas marrones o negras: el valor de R_f de la mancha principal obtenida a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución estándar*.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 7,0 y 8,5.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 31,3 Unidades de Endotoxina por mg de fosfato de dexametasona.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,4 ml por minuto.

Fase móvil - Preparar una solución de fosfato monobásico de potasio 1,36 g por litro de una mezcla de metanol y agua (50:50). Filtrar y degasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. Cromatografía).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Fosfato de Dexametasona SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 80 µg por ml. [NOTA: preparar esta solución en el momento de su uso].

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de Solución Inyectable de Fosfato Sódico de Dexametasona, equivalente a 8 mg de fosfato de dexametasona, a un matraz

aforado de 100 ml. Completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para cinco inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,5 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{22}H_{30}FO_8P$ en la Solución Inyectable de Fosfato Sódico de Dexametasona, en base a la cantidad declarada.

DIATRIZOATO DE MEGLUMINA

SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Diatrizoato de Meglumina es una solución estéril de *Diatrizoato de Meglumina en Agua para Inyectables*, o una solución estéril de *Ácido Diatrizoico en Agua para Inyectables* preparada con *Meglumina*. Puede contener cantidades pequeñas de reguladores de pH y de *Edetato de Calcio Disódico* o *Edetato Disódico* como estabilizadores. La Solución Inyectable de Diatrizoato de Meglumina para uso intravascular no contiene agentes antimicrobianos. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{11}H_9I_3N_2O_4 \cdot C_7H_{17}NO_5$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Ácido Diatrizoico SR-FA. Impureza A de Ácido Diatrizoico SR-FA: Ácido 5-acetamido-3-amino-2, 4, 6-triiodobenzoico.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos monodosis de vidrio Tipo I o Tipo III cuando esté destinada para inyección intravascular. En botellas inactínicas de vidrio Tipo I o Tipo III de 500 ml o 1 litro cuando esté destinada para administración con un inyector a presión mediante una conexión de transferencia apropiada. [NOTA: cuando esté para uso no intravascular se pueden envasar en envases inactínicos multidosis de 100 ml de vidrio Tipo I o Tipo III.]

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver *100. Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol e hidróxido de amonio (20:10:2).

Diluyente - Solución de hidróxido de sodio en metanol (0,8 en 1.000).

Solución estándar - Preparar una solución de aproximadamente 1 mg de Ácido Diatrizoico SR-FA por ml de *Diluyente*.

Solución muestra - Diluir un volumen de Solución Inyectable de Diatrizoato de Meglumina, si fuera necesario, con *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal obtenida a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución estándar*.

B - Evaporar hasta sequedad un volumen de Solución Inyectable de Diatrizoato de Meglumina, equivalente a 500 mg de diatrizoato de meglumina, calentar el residuo obtenido en un crisol: se deben producir vapores de color violeta.

Determinación del pH <250>

Entre 6,0 y 7,7.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Las soluciones inyectables con menos de 50 % de diatrizoato de meglumina deben contener menos de 1,1 Unidades de Endotoxina por ml y las soluciones inyectables con 50 % o más de diatrizoato de meglumina deben contener menos de 5,0 Unidades de Endotoxina por ml.

Iodo y yoduro

Solución muestra - Transferir un volumen de Solución Inyectable de Diatrizoato de Meglumina, equivalente a 2,0 g de diatrizoato de meglumina, a un tubo de centrifuga de 50 ml con tapa y diluir con 24 ml de agua.

Procedimiento - Agregar a la *Solución muestra* 5 ml de tolueno y 5 ml de ácido sulfúrico 2 N, agitar y centrifugar: la fase orgánica no debe adquirir color rojo. Agregar 1 ml de solución de nitrito de sodio 1 en 50, agitar y centrifugar: el color rojo producido en la fase orgánica no debe ser más intenso que el obtenido cuando se sustituye la *Solución muestra* por un volumen de solución de yoduro de potasio 1 en 4.000 con una cantidad de yoduro equivalente al 0,02 % del peso de diatrizoato de meglumina en el volumen de Solución Inyectable de Diatrizoato de Meglumina en ensayo y se diluye a 24 ml con agua (0,02 % de yoduro).

Límite de metales pesados <590>

Solución estándar - Transferir 2,0 ml de *Solución estándar de plomo (10 ppm)* a un tubo de Nessler de 50 ml, agregar 5 ml de hidróxido de sodio 1 N, diluir con agua a 40 ml y mezclar.

Solución muestra - En un tubo de Nessler de 50 ml, mezclar un volumen de Solución Inyectable de Diatrizoato de Meglumina, equivalente a 1,0 g

de diatrizoato de meglumina con 5 ml de hidróxido de sodio 1 N, diluir a 40 ml con agua y mezclar.

Procedimiento - Proceder según se indica en el ensayo para *Límite de metales pesados* en *Diatrizoato de Meglumina*: el límite es 0,002 %.

Aminas aromáticas libres

Solución estándar - Disolver una cantidad de Impureza A de Ácido Diatrizoico SR-FA en hidróxido de sodio 0,1 N, empleando 0,2 ml de hidróxido de sodio 0,1 N por cada 5,0 mg de Impureza A de Ácido Diatrizoico SR-FA. Diluir con agua para obtener una solución de aproximadamente 500 µg por ml. Transferir un volumen exactamente medido de la solución anterior a un matraz aforado de 50 ml, diluir a 5 ml con agua y agregar 10 ml de hidróxido de sodio 0,1 N. [NOTA: el volumen empleado de *Solución estándar* debe contener una cantidad de aminas aromáticas libres correspondiente a 0,05 % del peso de diatrizoato de meglumina en el volumen de *Solución Inyectable* de *Diatrizoato* de *Meglumina* en ensayo.]

Solución muestra - Transferir un volumen exactamente medido de *Solución Inyectable* de *Diatrizoato* de *Meglumina*, equivalente a 1 g de diatrizoato de meglumina, a un matraz aforado de 50 ml con tapón de vidrio. Diluir con agua a 5 ml y agregar 10 ml de hidróxido de sodio 0,1 N.

Blanco - Transferir 5 ml de agua y 10 ml de hidróxido de sodio 0,1 N a un matraz aforado de 50 ml.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* en *Aminas aromáticas libres* en *Diatrizoato de Meglumina*

Contenido de meglumina

Determinar la rotación óptica (ver 170. *Determinación de la rotación óptica*) de la *Solución Inyectable* de *Diatrizoato* de *Meglumina*, empleando una celda de 10 cm y un polarímetro apropiado. Calcular el contenido, en mg por ml, de meglumina en la *Solución Inyectable* de *Diatrizoato* de *Meglumina* por la fórmula siguiente:

$$1.000a/24,9$$

en la cual *a* es la rotación óptica observada en grados, corregida por el blanco y el factor 24,9 es la rotación específica promedio en grados de la meglumina. El contenido de meglumina se debe encontrar entre 22,9 y 25,3 % de la cantidad declarada de *Diatrizoato* de *Meglumina*.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Transferir un volumen de *Solución Inyectable* de *Diatrizoato* de *Meglumina*, o una dilución apropiada, equivalente a 600 mg de diatrizoato de meglumina, a un erlenmeyer con tapón de vidrio de 125 ml; agregar 30 ml de hidróxido de sodio 1,25 N y 500 mg de polvo de zinc, conectar el erlenmeyer a un condensador y calentar la mezcla a reflujo durante 1 hora. Enfriar el erlenmeyer a temperatura ambiente, lavar el condensador con 20 ml de agua, desconectar el erlenmeyer del condensador y filtrar la mezcla. Lavar el filtro y el erlenmeyer exhaustivamente, agregando los lavados al filtrado. Agregar 5 ml de ácido acético glacial y 1 ml de tetrabromofenoltaleinato de etilo (SR) y titular con nitrato de plata 0,05 N (SV) hasta que el precipitado amarillo se vuelva de color verde. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de nitrato de plata 0,05 N equivale a 13,49 mg de $C_{11}H_9I_3N_2O_4 \cdot C_7H_{17}NO_5$.

ROTULADO

Indicar en el rótulo de la *Solución Inyectable* de *Diatrizoato* de *Meglumina* en envases monodosis para inyección intravascular que se debe descartar cualquier porción no utilizada del envase o que, cuando estén envasadas en botellas a granel debe figurar la siguiente leyenda: "*Envase a Granel - exclusivamente para llenado estéril de inyectores a presión*"; indicar que no contiene conservantes antimicrobianos y que se debe descartar cualquier porción no utilizada remanente en el envase después de 6 horas. Indicar en las botellas a granel que el inyector a presión se debe llenar con una dosis inmediatamente antes de la administración de la solución inyectable. Indicar en el rótulo de las *Solución Inyectable* de *Diatrizoato* de *Meglumina* para inyección no intravascular que el contenido no está destinado para inyección intravascular.

DIAZEPAM

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Diazepam deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{16}H_{13}ClN_2O$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Diazepam SR-FA. Nordazepam SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención relativo al estándar interno, del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo y *n*-hexano (1:1).

Solución estándar - Preparar una solución de Diazepam SR-FA de aproximadamente 4 mg por ml en alcohol.

Solución muestra - Pesar una cantidad equivalente a 10 mg de diazepam a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*. Transferir a un matraz de 5 ml, disolver y completar a volumen con alcohol. Centrifugar. Emplear el líquido sobrenadante.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 4 μ l de la *Solución muestra* y 2 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Examinar la placa a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,1 N; 900 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con

Medio, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{16}H_{13}ClN_2O$ disuelta a partir de las absorbancias medidas en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 242 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Diazepam SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 85 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{16}H_{13}ClN_2O$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 15 cm \times 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo, agua y metanol (2:2:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Diazepam SR-FA en metanol, diluir cuantitativamente y en etapas si fuera necesario, con metanol para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Diazepam. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 10 mg de diazepam, transferir a un matraz aforado de 100 ml. Agregar aproximadamente 50 ml de metanol, sonicar durante 5 minutos, agitar durante 5 minutos, completar a volumen con metanol y mezclar.

Solución de aptitud del sistema - Disolver cantidades apropiadas de Nordazepam SR-FA y Diazepam SR-FA en metanol para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg de cada una por ml.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,76 para nordazepam y 1,0 para diazepam; la resolución R entre los picos de nordazepam y diazepam no debe ser menor de 4,0; la eficiencia de la columna no debe ser me-

nor de 5.000 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{16}H_{13}ClN_2O$ en los comprimidos de Diazepam, de acuerdo a la cantidad declarada.

DIAZEPAM

SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Diazepam es una solución estéril de *Diazepam* en *Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{16}H_{13}ClN_2O$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Diazepam SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los espectros obtenidos en *Valoración*. El máximo de absorción, a 368 nm, obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo y metanol (10:1).

Solución estándar - Preparar una solución de Diazepam SR-FA de aproximadamente 1 mg por ml de metanol.

Solución muestra - Emplear un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Diazepam que contenga aproximadamente 1 mg de Diazepam por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas, en una cámara sin saturar, hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Examinar la placa a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 6,2 y 7,0.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Diluyente - *Solución reguladora de fosfato de pH 7,0* (ver *Soluciones*).

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Diazepam, equivalente a 10 mg de diazepam, a una ampolla de decantación y agregar 20 ml de *Diluyente*. Extraer la solución con cuatro porciones de 20 ml de cloroformo, pasar cada extracto a través de los mismos 5 g de sulfato de sodio anhidro. Combinar los extractos clorofórmicos, diluir a 100 ml con el mismo solvente y mezclar. Evaporar 10 ml hasta sequedad bajo corriente de nitrógeno, disolver el residuo obtenido en 25 ml de ácido sulfúrico metanólico 0,05 M y mezclar.

Preparación estándar - Proceder según se indica en *Preparación muestra*, transfiriendo 10 mg de Diazepam SR-FA.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de las soluciones preparadas a partir de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* a la longitud de onda de máxima absorción, 368 nm, con un espectrofotómetro. Calcular la cantidad de $C_{16}H_{13}ClN_2O$ en la Solución Inyectable de Diazepam, de acuerdo a la cantidad declarada.

DIETILCARBAMAZINA, CITRATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Citrato de Dietilcarbamazina deben contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{10}H_{21}N_3O \cdot C_6H_8O_7$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Citrato de Dietilcarbamazina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Los comprimidos de Citrato de Dietilcarbamazina deben cumplir con los requisitos según se indica en 490. *Identificación de bases orgánicas nitrogenadas.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y determinar la cantidad de $C_{10}H_{21}N_3O \cdot C_6H_8O_7$ disuelta mediante la siguiente técnica.

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución reguladora de fosfato - Disolver 62,48 g de fosfato monobásico de potasio en 1 litro de agua.

Solución muestra - Diluir una alícuota de las porciones filtradas con igual volumen de *Solución reguladora de fosfato*.

Tolerancia - No menos de 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{10}H_{21}N_3O \cdot C_6H_8O_7$ se debe disolver en 45 minutos.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución reguladora de fosfato y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración* en *Citrato de Dietilcarbamazina*.

Solución muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Citrato de Dietilcarbamazina. Pesar exactamente una cantidad

equivalente a 300 mg de citrato de dietilcarbamazina, transferir a un matraz aforado de 100 ml y diluir a volumen con *Solución amortiguadora de fosfato*. Mezclar, filtrar o centrifugar y emplear el sobrenadante o filtrado transparente.

Solución de ácido cítrico - Preparar una solución de ácido cítrico en *Solución reguladora de fosfato* que contenga 2 mg por ml.

Solución estándar - Preparar una solución de Citrato de Dietilcarbamazina SR-FA que contenga aproximadamente 0,003 mg por ml.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución estándar*, la *Solución muestra* y la *Solución de ácido cítrico*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas correspondientes a todos los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza individual obtenida a partir de la *Solución muestra* en relación a la respuesta del pico principal obtenido a partir de la *Solución estándar*. Ignorar los picos cuyo tiempo de retención se corresponden con el pico principal de la *Solución de ácido cítrico*. No debe contener más de 0,1 % de cualquier impureza individual.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control higiénico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución reguladora de fosfato, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración* en *Citrato de Dietilcarbamazina*.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Citrato de Dietilcarbamazina. Pesar exactamente una cantidad de polvo equivalente a 5 mg de citrato de dietilcarbamazina y transferir a un matraz aforado de 50 ml. Disolver en *Solución reguladora de fosfato*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* en *Valoración* en *Citrato de Dietilcarbamazina*. Calcular la cantidad de $C_{10}H_{21}N_3O \cdot C_6H_8O_7$ en los Comprimidos de Citrato de Dietilcarbamazina, en base a la cantidad declarada.

DIFENHIDRAMINA, CLORHIDRATO DE CÁPSULAS

Definición - Las Cápsulas de Clorhidrato de Difenhidramina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{17}H_{21}NO \cdot HCl$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Difenhidramina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: agua; 500 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{17}H_{21}NO \cdot HCl$ disuelta empleando la siguiente técnica.

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución de aptitud del sistema, Aptitud del sistema y Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Difenhidramina SR-FA en *Medio* para obtener una solución de concentración similar a la de la *Solución muestra*.

Solución muestra - Emplear las alícuotas filtradas.

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{17}H_{21}NO \cdot HCl$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 250 mm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por grupos nitrilo químicamente unidos a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol, agua y trietilamina (50:50:0,5). Ajustar a pH 6,5 con ácido acético glacial. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Difenhidramina SR-FA en agua para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar y extraer el contenido de no menos de veinte Cápsulas de Clorhidrato de Difenhidramina. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 50 mg de clorhidrato de difenhidramina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución de aptitud del sistema - Disolver aproximadamente 5 mg de benzofenona en 5 ml de acetonitrilo, diluir con agua a 100 ml y mezclar. Transferir 1,0 ml de esta solución y 5 mg de Clorhidrato de Difenhidramina a un matraz aforado de 10 ml, diluir a volumen con agua y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de benzofenona y difenhidramina no debe ser menor de 2,0. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría para el pico de clorhidrato de difenhidramina no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{17}H_{21}NO \cdot HCl$ en las Cápsulas de Clorhidrato de Difenhidramina, de acuerdo a la cantidad declarada.

DIFENHIDRAMINA, CLORHIDRATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Clorhidrato de Difenhidramina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{17}H_{21}NO \cdot HCl$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Difenhidramina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: agua; 500 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso y determinar la cantidad de $C_{17}H_{21}NO \cdot HCl$ disuelta empleando la siguiente técnica.

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución de aptitud del sistema, Aptitud del sistema y Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Difenhidramina SR-FA en *Medio* para obtener una solución de concentración similar a la de la *Solución muestra*.

Solución muestra - Combinar las alícuotas extraídas de cada uno de los vasos, centrifugar durante 15 minutos a 4.000 rpm y emplear el sobrenadante.

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{17}H_{21}NO \cdot HCl$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución de aptitud del sistema, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Transferir un Comprimido de Clorhidrato de Difenhidramina a un matraz aforado de 100 ml, disolver con agua, sonicar durante 10 minutos y completar a volumen con el mismo solvente. Centrifugar durante 15 minutos a 4.000 rpm y emplear el sobrenadante.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración*.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 250 mm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por grupos nitrilo químicamente unidos a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol, agua y trietilamina (50:50:0,5). Ajustar a pH 6,5 con ácido acético glacial. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Difenhidramina SR-FA en agua para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Clorhidrato de Difenhidramina. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 50 mg de clorhidrato de difenhidramina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver con agua, sonicar 10 minutos, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución de aptitud del sistema - Disolver aproximadamente 5 mg de benzofenona en 5 ml de acetonitrilo, diluir con agua a 100 ml y mezclar. Transferir 1,0 ml de esta solución y 5 mg de Clorhidrato de Difenhidramina a un matraz aforado de 10 ml, diluir a volumen con agua y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de benzofenona y difenhidramina no debe ser menor de 2,0. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría para el pico de clorhidrato de difenhidramina no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{17}H_{21}NO \cdot HCl$ en los Comprimidos de Clorhidrato de Difenhidramina, de acuerdo a la cantidad declarada.

DIFENHIDRAMINA, CLORHIDRATO DE SOLUCIÓN ORAL

Definición - La Solución Oral de Clorhidrato de Difenhidramina debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{17}H_{21}NO \cdot HCl$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Difenhidramina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica.

Solución estándar - Transferir 50 mg de Clorhidrato de Difenhidramina SR-FA a una ampolla de decantación y disolver con 25 ml de agua.

Solución muestra - Transferir una cantidad de la Solución Oral de Clorhidrato de Difenhidramina, equivalente a 50 mg de clorhidrato de difenhidramina, a una ampolla de decantación, agregar 0,5 ml de ácido sulfúrico 2 N y extraer con tres porciones de éter. Agregar 15 ml de agua.

Procedimiento - Tratar a la *Solución muestra* y a la *Solución estándar* del siguiente modo. Agregar 2 ml de hidróxido de sodio 1 N y extraer con 75 ml de *n*-heptano. Lavar el extracto de *n*-heptano con 10 ml de agua, evaporar el extracto hasta sequedad y disolver el residuo en 4 ml de disulfuro de carbono y filtrar. Determinar el espectro de absorción infrarroja de la *Solución estándar* y la *Solución muestra* según se indica en 490. *Identificación de bases orgánicas nitrogenadas.*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación de alcohol <130>

Entre 90,0 y 110,0 % de la cantidad de C_2H_5OH declarada en el rótulo.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector

ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 250 mm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por grupos nitrilo químicamente unidos a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol, agua y trietilamina (50:50:0,5). Ajustar a pH 6,5 con ácido acético glacial. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver Aptitud del sistema en 100. Cromatografía).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Difenhidramina SR-FA en agua para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg por ml.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Oral de Clorhidrato de Difenhidramina, equivalente a 50 mg de clorhidrato de difenhidramina, a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución de aptitud del sistema - Disolver aproximadamente 5 mg de benzofenona en 5 ml de acetonitrilo, diluir con agua a 100 ml y mezclar. Transferir 1,0 ml de esta solución y 5 mg de Clorhidrato de Difenhidramina a un matraz aforado de 10 ml, diluir a volumen con agua y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. Cromatografía) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de benzofenona y difenhidramina no debe ser menor de 2,0. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría para el pico de clorhidrato de difenhidramina no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* en *Valoración* en Clorhidrato de Difenhidramina. Calcular la cantidad de $C_{17}H_{21}NO \cdot HCl$ en la Solución Oral de Clorhidrato de Difenhidramina, de acuerdo a la cantidad declarada.

DIGOXINA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Digoxina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{41}H_{64}O_{14}$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Digoxina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria, Fase móvil y Reactivo de cloramina T y Ácido tricloroacético - Proceder según se indica en *Glucósidos Relacionados en Digoxina*.

Diluyente - Alcohol absoluto.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Digoxina SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,25 mg por ml.

Solución muestra - Pesar una cantidad equivalente a 0,5 mg de digoxina a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración* y transferir a un tubo de centrífuga de 10 ml. Agregar 2 ml de *Diluyente*, sonicar entre 10 y 15 minutos y centrifugar. Emplear la solución sobrenadante.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Glucósidos Relacionados en Digoxina*, excepto que se debe omitir el empleo de *Solución estándar de Digoxina*. Examinar la placa a 366 nm: el valor de R_f de la mancha principal obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Ensayo de disolución <320>

[NOTA: durante todo el ensayo, emplear material de vidrio perfectamente limpio, enjuagado previa y sucesivamente con ácido clorhídrico, agua y alcohol y secado cuidadosamente. Tomar precauciones para evitar la contaminación con partículas fluorescentes y con superficies metálicas y de elastómeros].

Aparato 1: 120 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,1 N; 500 ml.

Tiempo: 60 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrarlas a través de un filtro de membrana de 0,8 μ m de porosidad, descartar los primeros 10 ml del filtrado y determinar la cantidad de $C_{41}H_{64}O_{14}$ disuelta mediante la técnica siguiente.

Solución de ácido ascórbico-metanol - Preparar una solución de aproximadamente 2 mg de ácido ascórbico por ml de metanol.

Solución de peróxido de hidrógeno-metanol - Diluir en el día de su uso, 2,0 ml de peróxido de hidrógeno al 30 %, recientemente valorado, a 100 ml con metanol. Almacenar en un refrigerador. Inmediatamente antes de usar, diluir 2,0 ml de esta solución a 100 ml con metanol.

Soluciones estándar - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Digoxina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 500 ml, disolver en una cantidad mínima de alcohol, completar a volumen con alcohol diluido (4 en 5) y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con alcohol diluido (4 en 5) y mezclar. Inmediatamente antes de usar, diluir alícuotas de la solución resultante a 50,0 ml con *Medio* para preparar *Soluciones estándar* equivalentes a 20 %; 40 %; 60 %; 80 % y 100 %, respectivamente, de la cantidad declarada de Digoxina en 500 ml.

Procedimiento - Transferir por duplicado 1,0 ml de las *Soluciones estándar* a un matraz con tapón de vidrio. Repetir el mismo procedimiento con 1,0 ml de la *Solución muestra* y 1,0 ml de *Medio* para proporcionar un blanco. Mantener todos los matraces en el mismo orden, para que el tiempo transcurrido desde el agregado del reactivo hasta la lectura de la fluorescencia sea el mismo para todos los matraces. Proceder con un matraz a la vez agregando los reactivos en el siguiente orden, lo más rápido posible, agitando por rotación después de cada agregado: 1,0 ml de *Solución de ácido ascórbico-metanol*, 5,0 ml de ácido clorhídrico y 1,0 ml de *Solución de peróxido de hidrógeno-metanol*. Tapar los matraces y después de 2 horas medir la fluorescencia, a 485 nm, siendo la longitud de onda de excitación 372 nm. Para controlar la estabilidad del fluorómetro, repetir la medición de fluorescencia en una o varias *Soluciones estándar* tratadas. Corregir cada lectura por el blanco y trazar una curva de fluorescencia con los estándares en función del porcentaje de disolución. Determinar la ecuación de la recta que mejor ajuste y calcular el porcentaje de $C_{41}H_{64}O_{14}$ disuelto.

Tolerancias - No menos de 80 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{41}H_{64}O_{14}$ se debe disolver en 60 minutos. Los comprimidos deben disolverse

según la tabla siguiente en lugar de la descrita en 320. *Ensayo de disolución.*

Etapa	Unidades Probadas	Criterios de aceptación
E ₁	6	Cada unidad no debe ser menor que $Q + 5\%$.
E ₂	6	El promedio de 12 unidades (E ₁ +E ₂) debe ser igual o mayor que Q y ninguna unidad debe ser menor que $Q - 5\%$

Uniformidad de unidades de dosificación
<740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Digoxina.*

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Digoxina SR-FA en alcohol diluido, sonicar, y diluir con el mismo solvente hasta obtener una solución de aproximadamente 40 µg por ml. .

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Digoxina. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 1,0 mg de digoxina, transferir a un erlenmeyer de 50 ml con tapón de vidrio. Agregar 25 ml de alcohol diluido agitando por rotación, sonicar durante 30 minutos y enfriar. Filtrar una porción de esta solución a través de un filtro de membrana de 0,8 µm de porosidad descartando los primeros 10 ml del filtrado.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₄₁H₆₄O₁₄ en los Comprimidos de Digoxina, de acuerdo a la cantidad declarada.

DIGOXINA

SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Digoxina es una solución estéril de *Digoxina* en *Agua para Inyectables* y *Alcohol* u otros solventes apropiados. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{41}H_{64}O_{14}$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Digoxina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis de vidrio Tipo I

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria, Fase móvil, Reactivo de cloramina T y Ácido tricloroacético y Diluyente - Proceder según se indica en *Glucosidos relacionados en Digoxina*.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Digoxina SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,25 mg por ml.

Solución muestra - Transferir un volumen de la Solución Inyectable de Digoxina, equivalente a 0,5 mg de digoxina, a una ampolla de decantación, y agregar 5 ml de agua. Extraer con tres porciones de 10 ml de cloroformo y combinar los extractos obtenidos en un erlenmeyer. Evaporar hasta sequedad en un baño de vapor [NOTA: si quedan vestigios de agua o propilenglicol, secar al vacío a 100 °C durante 30 minutos.] Disolver el residuo obtenido en 2 ml de *Diluyente*.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de *Solución muestra* y 10 μ l de *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Pulverizar sobre la placa con *Reactivo de cloramina T y Ácido tricloroacético* y calentar en estufa a 110 °C durante 10 minutos. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 366 nm: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la

Solución muestra se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Determinación de alcohol <130>

Entre 9,0 y 11,0 % de C_2H_5OH .

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

No debe contener más de 200 Unidades de Endotoxina por mg de Digoxina.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Digoxina*.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Digoxina SR-FA en alcohol diluido y diluir cuantitativamente con el mismo solvente hasta obtener una solución de aproximadamente 250 μ g por ml. Sonicar hasta disolver. Si fuera necesario, diluir cuantitativamente para obtener en una solución de concentración similar a la *Preparación muestra*.

Preparación muestra - Emplear la Solución Inyectable de Digoxina.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{41}H_{64}O_{14}$ en la Solución Inyectable de Digoxina en ensayo.

DIGOXINA

SOLUCIÓN ORAL

Definición - La Solución Oral de Digoxina debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{41}H_{64}O_{14}$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Digoxina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto, evitar la exposición excesiva al calor.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria, Fase móvil, Reactivo de cloramina T y Ácido tricloroacético y Diluyente - Proceder según se indica en *Glucósidos relacionados en Digoxina*.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Digoxina SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,25 mg por ml.

Solución muestra - Transferir un volumen de la Solución Oral de Digoxina, equivalente a 0,5 mg de digoxina, a una ampolla de decantación. Agregar cantidad suficiente de agua para obtener un volumen de 50 ml, extraer la fase acuosa con tres porciones de 30 ml de cloroformo y combinar los extractos en un erlenmeyer. Evaporar hasta sequedad. Agregar 2 ml de *Diluyente* al residuo y agitar durante 2 minutos.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Glucósidos relacionados en Digoxina*, omitiendo el uso de la *Solución estándar de gitoxina*. Examinar bajo luz visible los cromatogramas obtenidos: el valor de R_f de la mancha principal obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución estándar*.

Determinación de alcohol <130>

Entre 90 y 115 % de la cantidad declarada de alcohol.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 218 nm y una columna de 15 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 0,5 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, acetonitrilo y alcohol isopropílico (70:27,5:2,5). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Solución de aptitud del sistema - Preparar según se indica en *Valoración en Digoxina*

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Digoxina SR-FA en alcohol diluido y diluir, cuantitativamente y en etapas, con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 20 μ g de Digoxina por ml.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Oral de Digoxina, equivalente a 500 μ g de digoxina, a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con alcohol diluido y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. Cromatografía) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución R entre los picos de digoxina y digoxigenina no debe ser mayor de 2,0; el factor de asimetría para el pico de digoxina no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{41}H_{64}O_{14}$ en la Solución Oral de Digoxina, de acuerdo a la cantidad declarada.

DOXICICLINA

CÁPSULAS

Definición - Las Cápsulas de Doxiciclina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{22}H_{24}N_2O_8$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Hiclato de Doxiciclina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Pesar una cantidad apropiada a partir del contenido de las Cápsulas de Doxiciclina obtenido en *Preparación muestra* en *Valoración*, diluir con metanol para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml, agitar y filtrar. Emplear esta solución como *Solución muestra*. Proceder según se indica en *Método 1* en 500. *Identificación de tetraciclinas*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 75 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,01 N; 900 ml.

Tiempo: 60 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{22}H_{24}N_2O_8$ disuelta a partir de las absorbancias medidas en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 268 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Hiclato de Doxiciclina SR-FA, en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 85 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{22}H_{24}N_2O_8$ se debe disolver en 60 minutos.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No debe contener más de 5,5 %.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

[NOTA: proteger de la luz la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*].

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 270 nm y una columna de 25 cm x 4,6 mm con fase estacionaria constituida por copolímero rígido, esférico de divinilbenceno y estireno de 5 a 10 μ m de diámetro. Mantener la columna a 60 ± 1 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Pesar exactamente alrededor de 2,72 g de fosfato monobásico de potasio, 0,74 g de hidróxido de sodio, 0,50 g de sulfato ácido de tetrabutilamonio y 0,40 g de edetato disódico, transferir a un matraz aforado de 1 litro, agregar aproximadamente 850 ml de agua y agitar hasta disolver. Agregar 60 g de alcohol butílico terciario con la ayuda de agua, completar a volumen con agua y ajustar a pH $8,0 \pm 0,1$ con hidróxido de sodio 1 N. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*). [NOTA: si se disminuye la cantidad de alcohol butílico terciario se aumenta el tiempo de retención de doxiciclina y mejora la separación con las sustancias relacionadas].

Diluyente - Ácido clorhídrico 0,01 N.

Solución de resolución - Preparar una solución de Hiclato de Doxiciclina SR-FA en *Diluyente* de aproximadamente 6 mg de doxiciclina por ml. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 25 ml, calentar durante aproximadamente 60 minutos y evaporar hasta sequedad. Disolver el residuo con ácido clorhídrico 0,01 N, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Filtrar y emplear el filtrado como *Solución de resolución*. Esta solución contiene una mezcla de 4-epidoxiciclina, 6-epidoxiciclina y doxiciclina. [NOTA: esta solución puede ser usada dentro de los 14 días de preparada cuando se conserva en un refrigerador].

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Hiclato de Doxiciclina SR-FA, transferir a un recipiente apropiado, agregar aproximadamente 6 ml de *Diluyente*, sonicar durante 5 minutos hasta disolver y diluir a 20 ml con *Diluyente* y mezclar.

Preparación muestra - Extraer el contenido de no menos de veinte Cápsulas de Doxiciclina y mezclar. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 100 mg de doxiciclina y transferir a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 20 ml de

ácido clorhídrico 0,1 N, sonicar y agitar durante 5 y 15 minutos, respectivamente. Completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,4 para 4-epidoxiciclina (el principal pico de degradación), 0,7 para 6-epidoxiciclina y 1,0 para doxiciclina; la resolución *R* entre los picos de 4-epidoxiciclina y doxiciclina no debe ser menor de 3,0; el factor de asimetría para el pico de doxiciclina no debe ser mayor de 2,0. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{22}H_{24}N_2O_8$ en las Cápsulas de Doxiciclina, de acuerdo a la cantidad declarada.

DOXICICLINA, HICLATO DE CÁPSULAS

Definición - Las Cápsulas de Hiclato de Doxiciclina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de la cantidad declarada de Doxiciclina ($C_{22}H_{24}N_2O_8$) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Hiclato de Doxiciclina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Pesar una cantidad apropiada a partir del contenido de las Cápsulas de Hiclato de Doxiciclina obtenido en *Preparación muestra* en *Valoración*, diluir con metanol hasta obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml, agitar y filtrar. Emplear esta solución como *Solución muestra*. Proceder según se indica en *Método 1* en *500. Identificación de tetraciclinas*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

[NOTA: proteger de la luz la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*].

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Diluyente, Solución de resolución, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración* en *Cápsulas de Doxiciclina*.

Preparación muestra - Extraer el contenido de no menos de veinte Cápsulas de Hiclato de Doxiciclina. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 100 mg de doxiciclina y transferir a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 75 ml de *Diluyente*, sonicar durante 5 minutos y agitar durante 15 minutos, respectivamente. Completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la

principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 75 rpm. Mantener una distancia de $4,5 \pm 0,5$ cm entre la paleta y el interior del fondo del vaso.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{22}H_{24}N_2O_8$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 276 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Hiclato de Doxiciclina SR-FA, en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{22}H_{24}N_2O_8$ se debe disolver en 30 minutos.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No debe contener más de 8,5%.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

cantidad de $C_{22}H_{24}N_2O_8$ en las Cápsulas de Hiclato de Doxiciclina, de acuerdo a la cantidad declarada.

DOXICICLINA, HICLATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Hiclato de Doxiciclina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de la cantidad declarada de Doxiciclina ($C_{22}H_{24}N_2O_8$) y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Hiclato de Doxiciclina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Pesar exactamente una cantidad apropiada a partir del polvo fino obtenido en *Valoración*. Disolver y diluir con metanol para obtener una solución equivalente a 1 mg de doxiciclina por ml y filtrar. Emplear el filtrado como *Solución muestra* y proceder según se indica para *Método I* en 500. *Identificación de tetraciclinas*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 75 rpm; la distancia entre la paleta del rotor y el fondo de interior del vaso se mantiene a $4,5 \pm 0,5$ cm durante el ensayo.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 90 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{22}H_{24}N_2O_8$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 276 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Hiclato de Doxiciclina SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 85 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{22}H_{24}N_2O_8$ se debe disolver en 90 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 5,0 %.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

[NOTA: proteger de la luz a la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*].

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Diluyente, Solución de resolución, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Cápsulas de Doxiciclina*.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Hiclato de Doxiciclina. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 100 mg de doxiciclina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar aproximadamente 75 ml de *Diluyente*, sonicar durante 5 minutos, agitar durante 15 minutos, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos de principales. Calcular la cantidad de Doxiciclina ($C_{22}H_{24}N_2O_8$) en los Comprimidos de Hiclato de Doxiciclina, de acuerdo a la cantidad declarada.

DOXORUBICINA, CLORHIDRATO DE PARA INYECCIÓN

Definición - Clorhidrato de Doxorubicina para Inyección es una mezcla estéril que contiene *Clorhidrato de Doxorubicina* y *Lactosa*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{27}H_{29}NO_{11} \cdot HCl$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Doxorubicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis o multidosis de vidrio Tipo I.

Precaución - *Manipular el Clorhidrato de Doxorubicina para Inyección con sumo cuidado, evitando la inhalación de sus partículas y el contacto con la piel.*

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Aspecto de la solución reconstituida

Reconstituir el Clorhidrato de Doxorubicina para Inyección según se indica en el rótulo. La solución reconstituida debe cumplir con los requisitos en *280. Disolución completa* y estar libre de partículas extrañas cuando se realiza una inspección visual.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 6,5, determinado sobre una solución reconstituida según se indica en el rótulo.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 4,0 %, excepto que la muestra debe transferirse empleando una jeringa seca para inyectar un volumen exactamente medido de metanol u otro disolvente, a un recipiente pesado y agitando para disolver la muestra. Con la misma jeringa, retirar la solución anterior y transferirla al frasco de titulación.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 2,2 Unidades de Endotoxinas por mg de clorhidrato de doxorubicina, empleando una solución de clorhidrato de doxoru-

bicina para Inyección de aproximadamente 1,1 mg de clorhidrato de doxorubicina por ml.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, según se indica el *Método de filtración por membrana*, recolectando asépticamente el contenido de todos los envases con la ayuda de 200 ml de *Solución A*.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Solución de resolución y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Clorhidrato de Doxorubicina*.

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm x 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 0,8 ml por minuto.

Fase móvil - Solución de laurilsulfato de sodio de aproximadamente 2,88 g/l y ácido fosfórico de aproximadamente 2,3 g/l, acetonitrilo y metanol (50:45:5). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en *100. Cromatografía*).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Clorhidrato de Doxorubicina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en *Fase móvil* y completar a volumen con el mismo solvente. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Preparación muestra - Transferir el contenido de no menos de diez envase de Clorhidrato de Doxorubicina para Inyección a un recipiente apropiado y mezclar. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 50 mg de clorhidrato de doxorubicina, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en *Fase móvil* y completar a volumen con el mismo solvente. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{27}H_{29}NO_{11} \cdot HCl$ en Clorhidrato de Doxorubicina para Inyección, de acuerdo a la cantidad declarada.

EDETATO CÁLCICO DISÓDICO

SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Edetato Cálcico Disódico es una solución estéril de *Edetato Cálcico Disódico* en *Agua para Inyectables*. Debe contener por cada ml no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{10}H_{12}CaN_2Na_2O_8$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Edetato Cálcico Disódico SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

A - Transferir un volumen de la Solución Inyectable de Edetato Cálcico Disódico, que contenga aproximadamente 1 g de edetato cálcico disódico, a una cápsula de evaporación y evaporar a sequedad en un baño de vapor: el residuo obtenido debe responder al ensayo de *Identificación A* en *Edetato Cálcico Disódico*.

B - Debe responder al ensayo de *Identificación B* en *Edetato Cálcico Disódico*.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 6,5 y 8,0.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 0,01 Unidades de Endotoxina por mg de edetato cálcico disódico.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos para inyecciones de pequeño volumen.

VALORACIÓN

Transferir un volumen exactamente medido de Solución Inyectable de Edetato Cálcico Disódico que contenga 1 g de edetato cálcico disódico y diluir con agua hasta 75 ml aproximadamente. Agregar 25 ml de ácido acético 1 N y 1 ml de difenilcarbazona (SR), mezclar y valorar lentamente con nitrato mercúrico 0,1 M (SV) hasta la primera aparición de color púrpura. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (Ver 780. *Valoración*).

Cada ml de nitrato mercúrico 0,1 M equivale a 37,43 mg de $C_{10}H_{12}CaN_2Na_2O_8$.

ENALAPRIL, MALEATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Maleato de Enalapril deben contener no menos del 90,0 por ciento y no más del 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Maleato de Enalapril SR-FA. Enalaprilat SR-FA. Dicotopiperazina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrarlas y determinar la cantidad de $C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$ disuelta según se indica en *Procedimiento en Uniformidad de unidades de dosificación*, empleando:

- agua en lugar de *Solución reguladora de fosfato pH 2,5* para preparar la *Solución estándar*,
- una porción filtrada de la alícuota tomada como la *Preparación muestra*; y
- realizar las modificaciones necesarias en las concentraciones de muestra y estándar.

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido

Sistema cromatográfico, Solución reguladora de fosfato pH 2,5, Fase móvil, Solución de dicotopiperazina, Solución estándar de enalaprilat, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Transferir aproximadamente 10 mg de Maleato de Enalapril SR-FA a un matraz aforado de 100 ml. Agregar aproximadamente

50 ml de *Solución reguladora de fosfato pH 2,5*, agitar y sonicar si fuera necesario para disolver. Completar a volumen con *Solución reguladora de fosfato pH 2,5* y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg de Maleato de Enalapril SR-FA por ml.

Solución muestra - Transferir un Comprimido de Maleato de Enalapril a un matraz aforado apropiado para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg de maleato de enalapril por ml. Agregar un volumen de *Solución reguladora de fosfato pH 2,5* que sea aproximadamente la mitad del volumen nominal del matraz, sonicar durante 15 minutos y luego agitar durante 30 minutos. Completar a volumen con *Solución reguladora de fosfato pH 2,5*, agitar y sonicar durante 15 minutos.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 μ l) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$ en cada Comprimido de Maleato de Enalapril en ensayo, de acuerdo a la cantidad declarada.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Solución reguladora de fosfato pH 2,5, Fase móvil, Solución de dicotopiperazina, Solución estándar de enalaprilat, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Emplear la *Preparación estándar* según se indica en *Valoración*.

Solución estándar diluida - Transferir 5 ml de la *Solución estándar* a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con *Solución reguladora de fosfato pH 2,5*.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* según se indica en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 μ l) de la *Solución estándar diluida*, la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Ignorar la respuesta obtenida debida al ácido maleico. Calcular el porcentaje de enalaprilat (expresado como porcentaje de Maleato de Enalapril) en la porción de Maleato de Enalapril en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$100(492,5/348,4)C_E/C_M(r_i/r_E)$$

en la cual 492,5 y 348,4 son los pesos moleculares de Maleato de Enalapril y Enalaprilat, respectivamente, C_E es la concentración en mg por ml de Enalaprilat SR-FA en la *Solución estándar*, C_M es la concentración en mg por ml de Maleato de Enala-

pril en la *Solución muestra*, r_i es la respuesta del pico correspondiente a enalaprilat en la *Solución muestra* y r_E es la respuesta del pico de enalaprilat en la *Solución estándar*. Calcular el porcentaje de dicetopiperazina (expresado como porcentaje de Maleato de Enalapril) en la porción de Maleato de Enalapril en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$100(492,5/358,4)C_E/C_M(r_i/1,25r_E)$$

en la cual 358,4 es el peso molecular de dicetopiperazina, C_E es la concentración en mg por ml de Maleato de Enalapril SR-FA en la *Solución estándar diluida*, C_M es la concentración en mg por ml de Maleato de Enalapril en la *Solución muestra*, r_i es la respuesta del pico correspondiente a enalapril dicetopiperazina en la *Solución muestra*, r_E es la respuesta del pico de enalapril en la *Solución estándar diluida* y los demás términos están indicados anteriormente. Calcular el porcentaje de sustancias relacionadas desconocidas (expresado como porcentaje de Maleato de Enalapril) en la porción de Maleato de Enalapril en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$100C_E/C_M(r_i/r_E)$$

en la cual C_E es la concentración en mg por ml de Maleato de Enalapril SR-FA en la *Solución estándar diluida*, C_M es la concentración en mg por ml de Maleato de Enalapril en la *Solución muestra*, r_i es la sumatoria de las respuestas correspondientes a cualquier pico que aparezca en el cromatograma de la *Solución muestra*, excepto los correspondientes a ácido maleico, enalapril, enalaprilat y Dicetopiperazina y r_E es la respuesta del pico de enalapril en la *Solución estándar diluida*. No debe contener más de 5,0 % de impurezas totales.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Solución reguladora de fosfato pH 2,5, Fase móvil, Solución de dicetopiperazina, Solución estándar de enalaprilat, Preparación estándar, Solución aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Maleato de Enalapril*.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de diez Comprimidos de Maleato de Enalapril. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 20 mg de maleato de enalapril y transferir a un matraz aforado de 100 ml. Agregar aproximadamente 50 ml de *Solución reguladora de fosfato pH 2,5*, sonicar durante 15 minutos hasta disolución

total, agitar durante 15 minutos y completar a volumen con el mismo solvente.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$ en los Comprimidos de Maleato de Enalapril, de acuerdo a la cantidad declarada.

EPINEFRINA

SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Epinefrina es una solución estéril de *Epinefrina* en *Agua para Inyectables* preparada con el agregado de Ácido Clorhídrico u otro regulador apropiado del pH. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 115,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_9H_{13}NO_3$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Tartrato Ácido de Epinefrina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos monodosis o multidosis, de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

A - A 5 ml de Solución reguladora de ftalato de pH 4,0 (ver *Soluciones Reguladoras en Reactivos y Soluciones*), agregar 0,5 ml de Solución Inyectable de Epinefrina y 1,0 ml de iodo 0,1 N. Mezclar y dejar reposar durante 5 minutos. Agregar 2 ml de solución de tiosulfato de sodio (1 en 40): se debe producir un color rojo intenso.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Color y Transparencia

Solución estándar - Transferir 2,0 ml de iodo 0,1 N (SV) a un matraz aforado de 500 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Examinar una porción de la Solución Inyectable de Epinefrina (*Solución muestra*) en un tubo de ensayo de vidrio transparente contra un fondo blanco: no debe ser de color rosado ni debe contener precipitado. Si se observara cualquier coloración amarillenta en la *Solución muestra*, determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y de la *Solución estándar* en celdas de 1 cm con un espectrofotómetro a 460 nm: la absorbancia de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la de la *Solución estándar*.

Determinación del pH <250>

Entre 2,2 y 5,0.

Acidez total

Transferir 5,0 ml de la Solución Inyectable de Epinefrina a un erlenmeyer, agregar 10 ml de agua y titular con hidróxido de sodio 0,01 N (SV) hasta pH 7,40. Realizar una determinación con un blanco

y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). No se deben consumir más de 25,0 ml de hidróxido de sodio 0,01 N.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 357,0 Unidades de Endotoxina por mg de Epinefrina.

Ensayo de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 15 cm x 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas totalmente porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Solución reguladora de fosfato pH 3,8 - A 1 litro de fosfato monobásico de sodio 0,05 M, agregar aproximadamente 519 mg de 1-octanosulfonato de sodio y aproximadamente 45 mg de edetato disódico y mezclar. Ajustar a pH 3,8 mediante el agregado gota a gota de ácido fosfórico, si fuera necesario.

Fase móvil - *Solución reguladora de fosfato pH 3,8* y metanol (85:15). Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Tartrato Ácido de Epinefrina SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente y en etapas si fuera necesario, con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg de Epinefrina por ml.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de Solución Inyectable de Epinefrina, equivalente aproximadamente a 1 mg de Epinefrina, a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución de aptitud del sistema - Disolver 10 mg de clorhidrato de dopamina en 100 ml de la *Preparación estándar* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 1,0 para Epinefrina y

2,0 para dopamina; la resolución R entre los picos de Epinefrina y dopamina no debe ser menor de 3,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_9H_{13}NO_3$ en la Solución Inyectable de Epinefrina, de acuerdo a la cantidad declarada.

ROTULADO

Indicar en el rótulo que la Solución Inyectable de Epinefrina no debe emplearse si su color fuera rosado o más oscuro que amarillo pálido o si contuviera un precipitado.

ERGOMETRINA, MALEATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los comprimidos de Maleato de Ergometrina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de $C_{19}H_{23}N_3O_2 \cdot C_4H_4O_4$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Maleato de Ergometrina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Alcaloides relacionados*. El valor de R_f de la mancha principal azul obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{19}H_{23}N_3O_2 \cdot C_4H_4O_4$ disuelta a partir de las absorbancias medidas por fluorescencia empleando una longitud de onda de excitación a un máximo de 322 nm y el máximo de emisión a 428 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Maleato de Ergometrina SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 75 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{19}H_{23}N_3O_2 \cdot C_4H_4O_4$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

Alcaloides relacionados

[NOTA: realizar el ensayo rápidamente, sin exponer a la luz natural y con mínima exposición a la luz artificial].

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100.

Cromatografía) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol e hidróxido de amonio (75:25:1).

Solución madre del estándar - Pesar exactamente alrededor 25 mg de Maleato de Ergometrina SR-FA, transferir a una ampolla de decantación, agitar con 10 ml de agua, agregar hidróxido de amonio 6 N hasta alcalinidad y extraer con tres porciones de 10 ml de cloroformo. Evaporar los extractos combinados bajo corriente de nitrógeno, pero sin calentar, hasta sequedad. Disolver y diluir el residuo a 10 ml con *Fase móvil*.

Soluciones estándar A, B, C y D - Diluir volúmenes exactamente medidos de la *Solución madre del estándar* con *Fase móvil* hasta obtener las *Soluciones estándar* procediendo según se indica en la tabla siguiente:

Solución estándar	Dilución	concentración (µg por ml)	% con respecto a la muestra
A	1 en 20	125	5,0
B	1 en 33	75	3,0
C	1 en 100	25	1,0
D	1 en 200	12,5	0,5

Solución muestra - Pesar una cantidad equivalente a 5 mg de maleato de ergometrina a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*, transferir a una ampolla de decantación, agitar con 10 ml de agua, agregar hidróxido de amonio 6 N hasta alcalinidad y extraer con tres porciones de 10 ml de cloroformo. Evaporar los extractos combinados bajo corriente de nitrógeno, pero sin calentar, hasta sequedad. Disolver y diluir el residuo a 2,0 ml con *Fase móvil*. [NOTA: preparar esta solución en el momento de su uso].

Revelador - Cuidadosamente disolver 800 mg de *p*-dimetilaminobenzaldehído en una mezcla de alcohol y ácido sulfúrico (100:10).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 20 µl de la *Solución muestra* y 20 µl de las *Soluciones estándar A, B, C y D*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore en una corriente de aire frío. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 366 nm y localizar las manchas principales y secundarias fluorescentes. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y localizar las manchas principales y secundarias de color azul. Comparar las intensidades de las manchas secundarias en el cromatograma obtenido a partir de

la *Solución muestra* con las manchas principales de la *Solución estándar*: la suma de las intensidades de las manchas secundarias obtenidas a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor de 5,0 % de sustancias relacionadas.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 312 nm y una columna de 30 cm × 3 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1 ml por minuto.

Solución reguladora de fosfato 0,5 M - Disolver 6,8 g de fosfato monobásico de potasio en 600 ml de agua y ajustar a pH 2,1 con ácido fosfórico. Diluir a 1 litro con agua y mezclar.

Fase móvil - *Solución reguladora de fosfato 0,5 M* y acetonitrilo (80:20). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Maleato de Ergometrina SR-FA en *Fase móvil* hasta obtener una solución de aproximadamente 0,02 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Maleato de Ergometrina. Pesar exactamente una cantidad equivalente aproximadamente a 1 mg de maleato de ergometrina, transferir a un matraz aforado de 50 ml. Agregar 25 ml de *Fase móvil*, sonicar durante 5 minutos, enfriar a temperatura ambiente, completar a volumen con *Fase móvil*, mezclar y centrifugar. Emplear el líquido sobrenadante.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el tiempo de retención relativo debe ser aproximadamente 3 minutos para el maleato de ergometrina; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 3,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 100 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{19}H_{23}N_3O_2 \cdot C_4H_4O_4$ en la porción de los Comprimidos de Maleato de Ergometrina, de acuerdo a la cantidad declarada.

ERGOMETRINA, MALEATO DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Maleato de Ergometrina es una solución estéril de *Maleato de Ergometrina* en *Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{19}H_{23}N_3O_2 \cdot C_4H_4O_4$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Maleato de Ergometrina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos monodosis de vidrio Tipo I, en un sitio frío.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en el ensayo de *Alcaloides relacionados*. El valor de R_f de la mancha azul principal, obtenida a partir de la *Solución muestra*, se debe corresponder con el de la *Solución estándar A*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación del pH <250>

Entre 2,7 y 3,5.

Alcaloides relacionados

[NOTA: realizar este ensayo rápidamente, sin exposición a la luz del día y con exposición mínima a la luz artificial].

Fase estacionaria, Fase móvil, Diluyente, Solución madre del estándar y Soluciones estándar - Proceder según se indica en *Alcaloides relacionados* en *Maleato de Ergometrina*.

Solución muestra - Inmediatamente antes de usar, transferir un volumen de Solución Inyectable de Maleato de Ergometrina, equivalente a 5 mg de maleato de ergometrina, a una ampolla de decantación y extraer con tres porciones de 5 ml de cloroformo. Descartar los extractos clorofórmicos. Alcalinizar frente al tornasol con hidróxido de amonio 6 N y extraer con tres porciones de 5 ml de cloroformo. Evaporar hasta sequedad los extractos combinados con la ayuda de una corriente de nitrógeno, pero sin calentar. Disolver el residuo obtenido en 0,5 ml de *Diluyente*.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* en el ensayo de *Alcaloides relacionados* en *Maleato de Ergometrina*.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 700,0 Unidades de Endotoxina por mg de maleato de ergometrina

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 312 nm y una columna de 30 cm x 3,0 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución reguladora de fosfato 0,05 M - Disolver 6,8 g de fosfato monobásico de potasio en 600 ml de agua y ajustar con ácido fosfórico a pH 2,1. Diluir a 1 litro con agua y mezclar.

Fase móvil - Solución reguladora de fosfato 0,05 M y acetonitrilo (80:20). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Maleato de Ergometrina SR-FA en *Fase móvil*, agregando una cantidad de agua equivalente al 10 % del volumen final, para obtener una solución de aproximadamente 0,02 mg por ml.

Preparación muestra - Diluir cuantitativamente un volumen exactamente medido de Solución Inyectable de Maleato de Ergometrina, equivalente a 2 mg de maleato de ergometrina con *Fase móvil* y agua, si fuera necesario, hasta obtener una solución de 0,02 mg por ml en la cual el volumen de Solución Inyectable de Maleato de Ergonovina más el agua agregada constituya 10 % del volumen final.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el tiempo de retención debe ser aproximadamente 3 minutos. La desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe mayor de 3,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 100 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y

medir las respuestas de los picos principales.
Calcular la cantidad en de $C_{19}H_{23}N_3O_2 \cdot C_4H_4O_4$ en
la Solución Inyectable de Maleato de Ergometrina,
en base a la cantidad declarada.

ERGOTAMINA, TARTRATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Tartrato de Ergotamina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de $(C_{33}H_{35}N_5O_5)_2 \cdot C_4H_6O_6$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Tartrato de Ergotamina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Pesar una cantidad equivalente aproximadamente a 5 mg de tartrato de ergotamina a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*, triturar con 10 ml de éter de petróleo durante unos minutos, dejar decantar y descartar el extracto con éter de petróleo. Agregar al residuo 10 ml de cloroformo saturado con amoníaco (agitar el cloroformo con hidróxido de amonio, descartar la capa clorofórmica sobrenadante) y triturar durante unos minutos. Filtrar y evaporar el filtrado hasta sequedad en un baño de agua. Disolver el residuo en una mezcla de 4 ml de ácido acético glacial y 4 ml de acetato de etilo. A 1 ml de esta solución agregar lentamente, con agitación continua y enfriando 1 ml de ácido sulfúrico: se debe desarrollar una coloración azul con un tinte rojo. Agregar 0,1 ml de cloruro férrico, previamente diluido con el mismo volumen de agua: el tinte rojo debe ser menos aparente y el color azul más pronunciado.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención relativo del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disgregación <310>

No más de 5 minutos.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 75 rpm.

Medio: solución de ácido tartárico (1 en 100); 1.000 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $(C_{33}H_{35}N_5O_5)_2 \cdot C_4H_6O_6$ disuelta a partir de las absorbancias medidas por fluorescencia empleando una longitud de onda de excitación a un máximo de

327 nm y el máximo de emisión a 427 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Tartrato de Ergotamina SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $(C_{33}H_{35}N_5O_5)_2 \cdot C_4H_6O_6$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm x 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo y fosfato monobásico de potasio 0,01 M (55:45). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Acetonitrilo y agua (55:45).

Solución del estándar interno - Transferir aproximadamente 40 mg de *Maleato de Ergometrina* a un matraz aforado de 250 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Tartrato de Ergotamina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, agregar 5,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino los Comprimidos de Tartrato de Ergotamina, pesar una cantidad equivalente a 10 mg de tartrato de ergotamina, transferir a un matraz aforado de 500 ml. Agregar 50 ml de la *Solución del estándar interno*, 300 ml de *Diluyente* y sonicar durante 10 minutos. Completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Filtrar y descartar los primeros 25 ml del filtrado.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,7 para el maleato de

ergometrina y 1,0 para el tartrato de ergotamina; la resolución R entre el tartrato de ergotamina y el estándar interno no debe ser menor de 3,0; la eficiencia de la columna no debe ser menor de 3.000 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $(C_{33}H_{35}N_5O_5)_2 \cdot C_4H_6O_6$ en los Comprimidos de Tartrato de Ergotamina, de acuerdo a la cantidad declarada.

ERITROMICINA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Eritromicina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{37}H_{67}NO_{13}$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Eritromicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Metanol y cloroformo (85:15).

Revelador - Alcohol, *p*-metoxibenzaldehído y ácido sulfúrico (90:5:5).

Solución muestra - Pesar y reducir a polvo fino tres Comprimidos de Eritromicina. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 125 mg de eritromicina, transferir a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 125 mg de Eritromicina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*. Calentar la placa a 100 °C durante 10 minutos: la presencia de eritromicina se evidencia como una mancha púrpura casi negra; el valor de R_f de la mancha principal obtenida a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: solución reguladora de fosfato 0,05 M pH 6,8 (ver *Soluciones reguladoras en Reactivos y soluciones*); 900 ml.

Tiempo: 60 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y determinar la

cantidad de $C_{37}H_{67}NO_{13}$ disuelta mediante la siguiente técnica.

Solución muestra - Diluir una porción filtrada de la alícuota en ensayo con *Medio* para obtener una solución de aproximadamente 0,28 mg de Eritromicina por ml y mezclar.

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Eritromicina SR-FA en metanol (no más de 1 ml de metanol por cada 14 mg de la *Sustancia de referencia*) y diluir con agua para obtener una solución de aproximadamente 0,56 mg por ml.

Solución estándar - Diluir la *Solución madre del estándar* con agua para obtener una solución de aproximadamente 0,28 mg por ml. [NOTA: preparar la solución inmediatamente antes de su uso].

Procedimiento - Transferir 5,0 ml de la *Solución muestra* y 5,0 ml de la *Solución estándar* a sendos matraces aforados de 25 ml y proceder con cada matraz del siguiente modo: agregar 2,0 ml de agua y dejar reposar durante 5 minutos agitando intermitentemente. Agregar 15,0 ml de hidróxido de sodio 0,25 N, completar a volumen con *Medio* y mezclar. Calentar a 60 °C durante 5 minutos y dejar enfriar. Determinar las absorbancias a la longitud de onda de máxima absorción, 236 nm, con un espectrofotómetro, empleando una solución blanco preparada de forma similar, pero sustituir los 2,0 ml de agua por 2,0 ml de ácido sulfúrico 0,5 N.

Tolerancia - No menos de 70 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{37}H_{67}NO_{13}$ se debe disolver en 60 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Pérdida por secado <680>

Pesar aproximadamente 100 mg del polvo fino obtenido en *Valoración*. Transferir a un pesafiltro con tapa provista de un capilar y secar al vacío a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 5,0 % de su peso.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Proceder según se indica para Eritromicina en 770. *Valoración microbiológica de antibióticos*. Pesar y reducir a polvo fino no menos de diez Comprimidos de Eritromicina. Pesar exactamente una cantidad apropiada y diluir con metanol para obtener una *Solución madre de la muestra* que contenga no menos de 1 mg de Eritromicina.

Agitar esta solución durante 15 minutos y diluir con *Solución reguladora N° 3* para obtener las soluciones de ensayo.

ERITROMICINA

GEL TÓPICO

Definición - El Gel Tópico de Eritromicina debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 125,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{37}H_{67}NO_{13}$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Eritromicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Metanol, agua y trietilamina (90:9:1).

Solución muestra - Transferir una cantidad de Gel Tópico de Eritromicina, equivalente a 20 mg de eritromicina, a un tubo con tapón de 50 ml, agregar 20 ml de ácido clorhídrico 0,01 N y calentar en baño de agua a reflujo. Remover el tubo del baño de agua y agitar. Colocar en el baño, calentar nuevamente, remover el tubo del mismo y transferir inmediatamente una porción del sobrenadante clarificado a un tubo de ensayo. Dejar en reposo hasta que alcance la temperatura ambiente, agregar el mismo volumen de *Fase móvil* y mezclar.

Solución estándar - Transferir 5 mg de Eritromicina SR-FA a un tubo con tapón, agregar 5 ml de ácido clorhídrico 0,01 N y calentar en baño de agua a reflujo. Proceder según se indica en *Solución muestra* comenzando donde dice: "Remover el tubo del baño...".

Revelador - Alcohol, *p*-metoxibenzaldehído y ácido sulfúrico (90:5:5).

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 5 μ l de la *Solución muestra* y 5 μ l de *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Pulverizar la placa con *Revelador*, calentar a 100 °C durante 10 minutos y examinar los cromatogramas: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración tópica.

Determinación del contenido neto del envase <220>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Proceder según se indica para Eritromicina en 770. *Valoración microbiológica de antibióticos*.

Transferir una porción exactamente pesada del Gel Tópico de Eritromicina, equivalente a 20 mg de eritromicina, a un recipiente de vidrio, agregar 200 ml de *Solución reguladora N° 3* adicionada con 0,5 % de polisorbato 80 y agitar durante 3 minutos a alta velocidad. Diluir un volumen exactamente medido de la solución resultante con *Solución reguladora N° 3* para obtener las soluciones de ensayo.

ERITROMICINA

SOLUCIÓN TÓPICA

Definición - La Solución Tópica de Eritromicina es una solución de *Eritromicina*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 125,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{37}H_{67}NO_{13}$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Eritromicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Metanol y cloroformo (85:15).

Revelador - Alcohol, *p*-metoxibenzaldehído y ácido sulfúrico (90:5:5).

Solución estándar - Preparar una solución de Eritromicina SR-FA en metanol de aproximadamente 2,5 mg por ml.

Solución muestra - Transferir una cantidad apropiada de la Solución Tópica de Eritromicina a un recipiente apropiado y diluir con metanol para obtener una solución de aproximadamente 2,5 mg de eritromicina por ml.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente la mitad de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*, calentar a 100 °C durante 10 minutos y examinar las manchas de color púrpura a negro en los cromatogramas: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 8,0 % si contiene 20 mg por ml, no más de 5,0 % si contiene 15 mg por ml, o no más de 2,0 % si contiene acetona. Emplear 20 ml de una mezcla de piridina y metanol (1:1) para reemplazar al metanol en el recipiente de titulación.

Determinación de alcohol <130>

Método II. Entre 92,5 y 107,5 % de la cantidad declarada de C_2H_5OH .

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración tópica.

VALORACIÓN

Proceder según se indica para Eritromicina en 770. *Valoración microbiológica de antibióticos*.

Emplear un volumen exactamente medido de la Solución Tópica de Eritromicina y diluir cuantitativamente y en etapas con *Solución reguladora N° 3* para obtener las soluciones de ensayo.

ERITROMICINA, ESTEARATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Estearato de Eritromicina deben contener el equivalente a no menos de 90,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de la cantidad declarada de eritromicina ($C_{37}H_{67}NO_{13}$) y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Eritromicina SR-FA. Estearato de Eritromicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Metanol y cloroformo (85:15).

Revelador 1 - Solución metanólica de diclorofluorescína (1 en 500).

Revelador 2 - Alcohol absoluto, *p*-metoxibenzaldehído y ácido sulfúrico (90:5:5).

Solución muestra - Pesar una cantidad apropiada del polvo fino obtenido en *Valoración*, agregar metanol para obtener una solución de aproximadamente 5 mg de eritromicina por ml. Agitar durante aproximadamente 30 minutos. Centrifugar y emplear el sobrenadante transparente.

Solución estándar - Preparar una solución de Estearato de Eritromicina SR-FA en metanol de aproximadamente 8 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 20 μ l de la *Solución muestra* y 20 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente la mitad de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 1* y examinar bajo luz ultravioleta a 366 nm: los valores de R_f de las manchas principales obtenidas a partir de la *Solución muestra* se deben corresponder con las de la *Solución estándar*. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 2*, calentar la placa a 100 °C durante 10 minutos y examinar los cromatogramas: la mancha correspondiente a la eritromicina debe ser color negro o púrpura; el valor de R_f de la mancha principal obtenida a partir de la *Solución muestra* se debe corres-

ponder con el de la *Solución estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 100 rpm.

Medio: *Solución reguladora de fosfato pH 6,8* (ver *Soluciones reguladoras en Reactivos y Soluciones*); 900 ml.

Tiempo: 120 minutos.

Determinar la cantidad de $C_{15}H_{12}N_2O_2$ disuelta mediante la siguiente técnica.

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Eritromicina SR-FA en metanol para obtener una solución de aproximadamente 14 mg por ml. Transferir una porción de esta solución a un matraz aforado y diluir cuantitativamente con agua para obtener una solución de aproximadamente 0,56 mg por ml.

Solución estándar - Transferir 25,0 ml de *Solución madre del estándar* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con agua y mezclar. [NOTA: preparar esta solución en el día de su uso].

Solución muestra - Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, para obtener una solución de aproximadamente 0,28 mg de eritromicina por ml.

Procedimiento - Transferir 5,0 ml de la *Solución estándar* a dos matraces aforados de 25 ml, empleando uno de los matraces como *Blanco del estándar*. Proceder del mismo modo con 5,0 ml de la *Solución muestra*, pero empleando uno de los matraces como *Blanco de la muestra*. A cada uno de los blancos agregar 2 ml de ácido sulfúrico 0,5 N y a los otros matraces agregar 2,0 ml de agua. Dejar en reposo durante 5 minutos, agitando ocasionalmente. Agregar a todos los matraces 15,0 ml de hidróxido de sodio 0,25 N, completar a volumen con *Medio* y mezclar. Transferir a sendos recipientes apropiados y calentar en un baño de agua a $60 \pm 0,5$ °C y luego dejar enfriar. Determinar las absorbancias de la *Solución muestra*, la *Solución estándar*, el *Blanco del estándar* y el *Blanco de la muestra*, a la longitud de onda de máxima absorción, 236 nm. Determinar la cantidad de eritromicina ($C_{37}H_{67}NO_{13}$) disuelta a partir de la *Solución muestra* comparando con la solución obtenida a partir de la *Solución estándar*.

Tolerancia - No menos de 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{37}H_{67}NO_{13}$ se debe disolver en 120 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Pérdida por secado <680>

Pesar exactamente alrededor de 100 mg del polvo fino obtenido en *Valoración* en un recipiente con tapa

con perforación capilar y secar al vacío a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 5,0 % de su peso.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Proceder según se indica en *Valoración en Comprimidos de Eritromicina*.

ERITROMICINA, ESTOLATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Estolato de Eritromicina deben contener el equivalente a no menos de 90,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de la cantidad declarada de eritromicina ($C_{37}H_{67}NO_{13}$) y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias	de	referencia	-
Eritromicina SR-FA.		Estolato	de
Eritromicina SR-FA.			

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Metanol y cloroformo (85:15).

Solución muestra - Pesar y reducir a polvo fino tres Comprimidos de Estolato de Eritromicina. Transferir una cantidad apropiada a una ampolla de decantación, diluir con metanol para obtener una solución equivalente a 20 mg de eritromicina por ml y mezclar.

Solución estándar - Preparar una solución de Estolato de Eritromicina SR-FA en metanol de aproximadamente 20 mg de eritromicina por ml.

Revelador - Alcohol, *p*-metoxibenzaldehído y ácido sulfúrico (90:5:5).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 3 μ l de la *Solución muestra* y 3 μ l de *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente la mitad de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y secar a 100 °C durante 10 minutos: la presencia de eritromicina se evidencia como una mancha púrpura casi negra; el valor de *R_f* de la mancha principal obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Ensayo de disgregación <310>

Tiempo: 30 minutos; procediendo según se indica para *Comprimidos no Recubiertos*, pero no usar discos y emplear *Fluido gástrico simulado* como líquido de inmersión en vez de agua.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 5,0 %.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Proceder según se indica para Eritromicina en 770. *Valoración microbiológica de antibióticos*. Pesar y reducir a polvo fino no menos de diez Comprimidos de Estolato de Eritromicina. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 0,25 g de estolato de eritromicina, transferir a un matraz aforado de 1 litro, agregar 400 ml de metanol, 200 ml de *Solución reguladora N° 3* y completar a volumen con *Agua purificada* estéril. Mantener esta solución a 60 °C durante 3 horas, enfriar y diluir con *Solución reguladora N° 3* para obtener las soluciones de ensayo.

ERITROMICINA, ESTOLATO DE SUSPENSIÓN ORAL

Definición - La Suspensión Oral de Estolato de Eritromicina debe contener el equivalente a no menos de 90,0 por ciento y no más de 115,0 por ciento de la cantidad declarada de eritromicina ($C_{37}H_{67}NO_{13}$) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias	de	referencia	-
Eritromicina SR-FA.		Estolato	de
Eritromicina SR-FA.			

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto. Conservar y almacenar en un sitio frío.

ENSAYOS

Identificación

Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Metanol y cloroformo (85:15).

Solución estándar - Pesar exactamente una cantidad de Estolato de Eritromicina SR-FA, equivalente a 20 mg de eritromicina. Transferir a una ampolla de decantación y realizar la extracción según se indica en *Solución muestra*.

Solución muestra - Transferir una cantidad de la Suspensión Oral de Estolato de Eritromicina, equivalente a 20 mg de eritromicina, a una ampolla de decantación. Agregar 15 ml de hidróxido de sodio 0,02 N y mezclar por rotación. Agregar 2 g de cloruro de sodio, 25 ml de cloroformo y agitar durante 3 minutos. Transferir la fase clorofórmica a través de una pequeña cantidad de sulfato de sodio anhidro, previamente lavado con cloroformo, y recoger el extracto clorofórmico en un vaso de precipitados, lavando el sulfato de sodio anhidro con 10 ml adicionales del mismo solvente. Evaporar el cloroformo hasta sequedad y disolver el residuo en 1 ml de metanol.

Revelador - Alcohol absoluto, *p*-metoxibenzaldehído y ácido sulfúrico (90:5:5).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 3 μ l de la *Solución estándar* y 3 μ l de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente la mitad de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar

secar al aire. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*, calentar a 100°C durante 10 minutos y examinar los cromatogramas, donde las manchas de eritromicina aparecen de color negro-púrpura: el valor de R_f de la mancha principal obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 3,5 y 6,5.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Proceder según se indica para *Eritromicina* en 770. *Valoración microbiológica de antibióticos*.

Diluir un volumen exactamente medido de la Suspensión Oral de Estolato de Eritromicina, recientemente mezclado y libre de burbujas, con metanol para obtener una solución de aproximadamente 2,5 mg de eritromicina por ml. Diluir cuantitativamente y en etapas con *Solución reguladora N° 3* y dejar reposar durante 18 horas a temperatura ambiente para obtener las soluciones de ensayo.

ERITROMICINA, ETILSUCCINATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Etilsuccinato de Eritromicina deben contener el equivalente a no menos del 90,0 por ciento y no más del 120,0 por ciento de la cantidad declarada de eritromicina ($C_{37}H_{67}NO_{13}$) y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias	de	referencia	-
Eritromicina SR-FA.		Etilsuccinato	de
Eritromicina SR-FA.			

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Metanol y cloroformo (85:15).

Solución muestra - Pesar y reducir a polvo fino tres Comprimidos de Etilsuccinato de Eritromicina, transferir una cantidad apropiada a un matraz y agregar una cantidad suficiente de metanol para obtener una solución de aproximadamente 2,5 mg de eritromicina por ml. Agitar durante aproximadamente 30 minutos. Centrifugar una porción de esta mezcla y emplear el líquido sobrenadante transparente.

Solución estándar - Preparar una solución de Etilsuccinato de Eritromicina SR-FA en metanol de aproximadamente 3 mg por ml.

Revelador - Alcohol, *p*-metoxibenzaldehído y ácido sulfúrico (90:5:5).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de la *Solución estándar*. Colocar la placa en una cámara cromatográfica y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente la mitad de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*. Calentar la placa a 100 °C durante 10 minutos: la presencia de eritromicina y ácido succínico se evidencian como manchas púrpuras casi negras; los valores de R_f de las manchas principales obtenidas a partir de la *Solución muestra* se deben corresponder con los de la *Solución estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,01 N; 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso y determinar la cantidad de $C_{37}H_{67}NO_{13}$ disuelta mediante la siguiente técnica.

Reactivo de color - A 173 ml de agua fría, agregar 325 ml de ácido sulfúrico agitando constante y lentamente. Dejar enfriar la solución, agregar 2 ml de solución de cloruro férrico 1 en 40, 1 g de *p*-dimetilaminobenzaldehído y agitar hasta disolución. Almacenar en un recipiente de vidrio inactivo. [NOTA: preparar este reactivo en el día de su uso].

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Eritromicina SR-FA en *Medio* para obtener una solución de aproximadamente 0,44 mg por ml, sonicar para disolver, si fuera necesario. [NOTA: emplear esta solución dentro de aproximadamente 5 horas de preparada].

Solución muestra - Filtrar porciones de las alícuotas en ensayo, descartando los primeros 5 ml del filtrado. Emplear el filtrado como *Solución muestra*.

Procedimiento - A tres erlenmeyers de 50 ml, con tapones de vidrio, agregar 2,0 ml de la *Solución estándar*, 2,0 ml de la *Solución muestra* y 2,0 ml de *Medio* para emplear como blanco, respectivamente. Colocar los erlenmeyers en un baño de hielo durante aproximadamente 15 minutos. A intervalos precisos de 1 minuto, agregar 10,0 ml de *Reactivo de color* a la *Solución estándar*, a la *Solución muestra* y al blanco. Inmediatamente después de agregar el *Reactivo de color*, retirar cada uno de los erlenmeyers del baño de hielo, taparlos, mezclar y dejar reposar a temperatura ambiente exactamente durante 30 minutos. Determinar las absorbancias a 480 nm de la *Solución estándar* y la *Solución muestra* a intervalos precisos de 1 minuto, con un espectrofotómetro, empleando el blanco preparado.

Tolerancia - No menos de 75 % (*Q*) de la cantidad declarada equivalente a $C_{37}H_{67}NO_{13}$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Pérdida por secado <680>

Pesar exactamente alrededor de 100 mg a partir del polvo fino obtenido en *Valoración*, secar al vacío a una presión que no exceda los 5 mm de Hg a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 4,0 % de su peso.

Control microbiológico de productos no

obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Proceder según se indica en *Valoración en Comprimidos de Eritromicina*.

ERITROMICINA, ETILSUCCINATO DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Etilsuccinato de Eritromicina es una solución estéril de *Etilsuccinato de Eritromicina* en *Polietilenglicol 400* y 2 % de aminobenzoato de butilo. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 115,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{37}H_{67}NO_{13}$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Eritromicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis o multidosis, de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 1,5 %, empleando 20 ml de metanol con 10 % de imidazol en lugar de metanol en el recipiente de titulación.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos según se indica en *Método de filtración por membrana*, empleando un filtro de membrana resistente al efecto solvente del polietilenglicol 400.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Proceder según se indica para *Eritromicina* en 770. *Valoración microbiológica de antibióticos.*

Diluir cuantitativamente un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Etilsuccinato de Eritromicina con metanol para obtener una solución de aproximadamente 1 mg de eritromicina por ml. Diluir una porción de esta solución cuantitativamente y en etapa con *Solución reguladora N° 3* para obtener las soluciones de ensayo.

ERITROMICINA, ETILSUCCINATO DE SUSPENSIÓN ORAL

Definición - La Suspensión Oral de Etilsuccinato de Eritromicina es una suspensión de *Etilsuccinato de Eritromicina* en un vehículo apropiado. Debe contener el equivalente a no menos de 90,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de la cantidad declarada de eritromicina ($C_{37}H_{67}NO_{13}$) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias	de	referencia	-
Eritromicina SR-FA.		Etilsuccinato	de
Eritromicina SR-FA.			

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto, en un sitio frío.

ENSAYOS

Identificación

Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Metanol y cloroformo (85:15).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Etilsuccinato de Eritromicina SR-FA en metanol para obtener una solución de aproximadamente 3 mg por ml.

Solución muestra - Diluir una cantidad apropiada de la Suspensión Oral de Etilsuccinato de Eritromicina en metanol para obtener una solución que contenga el equivalente a 2,5 mg de eritromicina por ml. Agitar durante 30 minutos, centrifugar una porción de la mezcla y emplear el sobrenadante.

Revelador - Alcohol absoluto, *p*-metoxibenzaldheido y ácido sulfúrico (90:5:5).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución estándar* y 10 μ l de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente la mitad de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*, secar a 100 °C durante 10 minutos y examinar los cromatogramas: las manchas de eritromicina y ácido succínico se visualizan como manchas de color negro púrpura; los valores de R_f de las manchas principales obtenidos a partir de la

Solución muestra se deben corresponder con los de la *Solución estándar*.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 6,5 y 8,5.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Proceder según se indica para *Eritromicina* en 770. *Valoración microbiológica de antibióticos*. Transferir un volumen exactamente medido de la Suspensión Oral de Etilsuccinato de Eritromicina, recientemente mezclado y libre de burbujas, a un recipiente de vidrio apropiado. Agitar durante aproximadamente 4 minutos a alta velocidad con cantidad suficiente de metanol para obtener una solución de 1 mg de eritromicina por ml. Diluir cuantitativamente y en etapas con *Solución reguladora N° 3* para obtener las soluciones de ensayo.

ESPIRONOLACTONA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Espironolactona deben contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{24}H_{32}O_4S$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Espironolactona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, acetato de etilo y metanol (2:2:1).

Solución muestra - Reducir a polvo fino los Comprimidos de Espironolactona, pesar una cantidad equivalente a 100 mg de espironolactona, mezclar con 25 ml de metanol y filtrar.

Solución estándar - Preparar una solución de Espironolactona SR-FA en metanol de aproximadamente 4 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 75 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,1 N que contenga 0,1 % de lauril sulfato de sodio; 1.000 ml.

Tiempo: 60 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{24}H_{32}O_4S$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 242 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Espironolactona SR-FA en el mismo medio. [NOTA: se puede emplear un volumen de alcohol que no exceda el 1 % del volumen final de la solución para preparar la *Solución estándar*].

Tolerancia - No menos de 75 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{24}H_{32}O_4S$ se debe disolver en 60 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación
<740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Espironolactona*.

Preparación muestra - Pesar exactamente veinte Comprimidos de Espironolactona, transferir a un matraz aforado de 1 litro, agregar 100 ml de agua, sonicar durante 15 minutos o hasta que los Comprimidos de Espironolactona se hayan desintegrado y dejar enfriar durante 10 minutos. Agregar 500 ml de acetonitrilo, agitar durante 30 minutos y luego sonicar durante 30 minutos. Enfriar a temperatura ambiente, completar a volumen con acetonitrilo y mezclar. Centrifugar una porción de la mezcla aproximadamente a 3.000 rpm durante 10 minutos. Diluir una cantidad exactamente medida de la solución sobrenadante, cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con una mezcla de acetonitrilo y agua (1:1) para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg de espironolactona por ml.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración en Espironolactona*. Calcular la cantidad de $C_{24}H_{32}O_4S$ en los Comprimidos de Espironolactona, de acuerdo a la cantidad declarada.

ESTREPTOMICINA, SULFATO DE PARA INYECCIÓN

Definición - Estreptomina para Inyección debe contener una cantidad de Sulfato de Estreptomina equivalente a no menos de 90,0 por ciento y no más de 115,0 por ciento de la cantidad declarada de estreptomina ($C_{21}H_{39}N_7O_{12}$) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Sulfato de Estreptomina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

Debe responder a los ensayos de *Identificación* en *Sulfato de Estreptomina*.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 7,0, determinado en una solución de 200 mg de Estreptomina por ml.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 0,25 Unidades de Endotoxina por mg de Estreptomina.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

Pérdida por secado <680>

Secar 100 mg de Sulfato de Estreptomina para Inyección en un pesafiltro provisto de perforación capilar al vacío a una presión que no exceda los 5 mm Hg, a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 5,0 % de su peso.

VALORACIÓN

Preparación muestra 1 - (cuando está contenida en un envase monodosis). Reconstituir la Estreptomina para Inyección en un volumen de agua, exactamente medido, correspondiente al volumen de solvente indicado en el rótulo. Retirar todo el contenido extraíble y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con agua para obtener una solución que contenga una cantidad apropiada de estreptomina por ml.

Preparación muestra 2 - (cuando en el rótulo se indica la cantidad de estreptomina en un volumen

de solución reconstituida). Reconstituir un envase de Sulfato de Estreptomina para Inyección en un volumen exactamente medido de agua, correspondiente al volumen de solvente indicado en el rótulo. Diluir una porción exactamente medida de la solución reconstituida de Sulfato de Estreptomina para Inyección, cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con agua para obtener una solución que contenga una cantidad apropiada de estreptomina por ml.

Procedimiento - Proceder según se indica en 770. *Valoración microbiológica de antibióticos*, empleando un volumen exactamente medido de la *Preparación muestra* diluida cuantitativamente con agua para obtener una *Preparación muestra diluida* con una concentración igual al nivel de dosis intermedio del *Estándar*.

ETAMBUTOL, CLORHIDRATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Clorhidrato de Etambutol deben contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{10}H_{24}N_2O_2 \cdot 2HCl$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Etambutol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Pesar una cantidad equivalente a 100 mg de etambutol a partir del polvo fino obtenido en *Preparación muestra* en *Valoración*. Suspender con 3 ml de metanol en un mortero de vidrio. Agregar 5 ml de metanol y filtrar a través de un papel de filtro previamente humedecido con metanol. Transferir el filtrado a un vaso de precipitados con aproximadamente 100 ml de acetona. Agitar la mezcla y dejar cristalizar durante 15 minutos. Decantar el líquido y secar suavemente los cristales hasta peso constante: los cristales obtenidos deben cumplir con los ensayos de *Identificación* en *Clorhidrato de Etambutol*.

Ensayo de Disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y determinar la cantidad de $C_{10}H_{24}N_2O_2 \cdot 2HCl$ disuelta mediante la siguiente técnica.

Solución reguladora de fosfato - Disolver 38,0 g de fosfato monobásico de sodio y 2,0 g de fosfato dibásico de sodio anhidro en agua hasta obtener 1 litro de solución.

Solución de verde de bromocresol - Disolver 200 mg de verde de Bromocresol en 30 ml de agua y 6,5 ml de hidróxido de sodio 0,1 N. Diluir a 500 ml con *Solución reguladora de fosfato*, mezclar y ajustar a pH $4,6 \pm 0,1$ con ácido clorhídrico 0,1 N.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Etambu-

tol SR-FA en agua y diluir con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg de por ml.

Procedimiento - Emplear tres tubos de centrifuga de vidrio de 50 ml con tapón, transferir (a) 1,0 ml de una porción filtrada de la alícuota en ensayo, (b) 1,0 ml de *Preparación estándar* y (c) 1,0 ml de agua como blanco. Agregar 5,0 ml de *Solución de verde de bromocresol* a cada tubo y mezclar. Agregar 10,0 ml de cloroformo a cada uno, tapar y agitar las mezclas vigorosamente. Decantar y descartar las fases acuosas y filtrar la fase clorofórmica a través de distintas torundas de algodón. Determinar la cantidad de $C_{10}H_{24}N_2O_2 \cdot 2HCl$ disuelta a partir de las absorbancias medidas a la longitud de onda de máxima absorción, 415 nm, obtenidas a partir de las alícuotas en ensayo comparando con las de la *Solución estándar*. Llevar a cero con el blanco.

Tolerancia - No menos de 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{10}H_{24}N_2O_2 \cdot 2HCl$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

Límite de 2-aminobutanol

Fase estacionaria, Fase móvil y Revelador - Proceder según se indica en *Límite de 2-aminobutanol* en *Clorhidrato de Etambutol*.

Solución estándar - Disolver 50 mg de 2-aminobutanol en metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente. Diluir 1,0 ml de esta solución a 10 ml con metanol.

Solución muestra - Pesar una cantidad equivalente a 50 mg de etambutol a partir del polvo fino obtenido en *Preparación muestra* en *Valoración*, agitar durante 5 minutos con cantidad suficiente de metanol y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* en *Límite de 2-aminobutanol* en *Clorhidrato de Etambutol*. La mancha correspondiente a 2-aminobutanol en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser más intensa que la mancha obtenida con la *Solución estándar* (1,0 %).

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 200 nm y una columna de

15 cm × 4,6 mm desactivada para bases con fase estacionaria constituida por grupos nitrilos químicamente unidos a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución de trietilamina - Mezclar 1 ml de trietilamina con 1 litro de agua. Ajustar a pH 7,0 con ácido fosfórico.

Fase móvil - Solución de trietilamina y acetonitrilo (1:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Pesar exactamente una cantidad de Clorhidrato de Etambutol SR-FA, disolver en agua para obtener una solución de aproximadamente 0,30 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Clorhidrato de Etambutol. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 30 mg de clorhidrato de etambutol, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en agua, sonicar hasta disolución y completar a volumen con el mismo solvente. Filtrar esta solución descartando los primeros 10 ml.

Aptitud del Sistema - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 µl) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{10}H_{24}N_2O_2 \cdot 2HCl$ en los Comprimidos de Clorhidrato de Etambutol, de acuerdo a la cantidad declarada.

ETOSUXIMIDA

CÁPSULAS

Definición - Las Cápsulas de Etosuximida deben contener no menos de 93,0 por ciento y no más de 107,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_7H_{11}NO_2$, presente en la forma de una solución de *Etosuximida en Polietilenglicol 400* u otro solvente apropiado y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Etosuximida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. Extraer el contenido de tres Cápsulas de Etosuximida y mezclar. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 250 mg de etosuximida y transferir a una ampolla de decantación que contenga 50 ml de éter. Mezclar con tres porciones de 10 ml de agua, descartando los extractos acuosos. Agregar aproximadamente 5 g de sulfato de sodio anhidro, mezclar durante 3 minutos, filtrar a través de una torunda de algodón previamente lavado con éter. Evaporar la solución etérea, a temperatura ambiente, hasta sequedad y disolver el residuo obtenido en 5 ml de cloroformo: el espectro de absorción infrarroja de esta solución, en la región comprendida entre 3.000 cm^{-1} y 1.650 cm^{-1} , determinada en celdas de 0,1 mm, debe presentar sólo máximos a las mismas longitudes de onda que una solución de Etosuximida SR-FA en cloroformo 1 en 15.

Ensayo de disolución <320>

Procedimiento para muestreo unificado

Aparato 1: 50 rpm.

Medio: *Solución reguladora de fosfato pH 6,8* (ver *Soluciones reguladoras en Reactivos y Soluciones*); 900 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y determinar la cantidad de $C_7H_{11}NO_2$ disuelta, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Etosuximida SR-FA en el mismo medio, empleando la siguiente técnica.

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm × 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El

caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Agua y acetonitrilo (80:20). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 µl) de las alícuotas en ensayo y la *Solución estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales.

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_7H_{11}NO_2$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

Límite de ácido 2-etil-2-metilsuccínico

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de ácido 2-etil-2-metilsuccínico en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,026 mg por ml.

Solución muestra - Transferir veinte Cápsulas de Etosuximida a un matraz aforado de 2 litros, disolver en 1.800 ml de *Fase móvil*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de ácido 2-etil-2-metilsuccínico en las Cápsulas de Etosuximida, relacionando las respuestas de los picos de ácido 2-etil-2-metilsuccínico obtenidos a partir de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. No debe contener más de 0,5 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 225 nm y una columna de vidrio de 15 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido

a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, acetonitrilo y ácido acético glacial (875:125:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de aptitud del sistema - Disolver una cantidad apropiada de Etosuximida SR-FA y ácido 2-etil_2-metilsuccínico en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,062 mg por ml y 0,064 mg por ml, respectivamente.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de ácido Etosuximida SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,062 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de veinte Cápsulas de Etosuximida, transferir a un matraz aforado de 2 litros, disolver en 1.800 ml de *Fase móvil*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de etosuximida y ácido 2-etil-2-metilsuccínico no debe ser menor de 3,5; el factor de asimetría no debe ser mayor de 1,5; la desviaciones estándar relativas para inyecciones repetidas determinadas para etosuximida y ácido 2-etil-2-metilsuccínico no deben ser mayor de 2,0 % y 5,0 %, respectivamente.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $\text{C}_7\text{H}_{11}\text{NO}_2$ en las Cápsulas de Etosuximida, de acuerdo a la cantidad declarada.

FENITOÍNA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Fenitoína deben contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{15}H_{12}N_2O_2$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Fenitoína SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 100 rpm.

Solución reguladora de tris 0,05 M - Disolver 60,5 g de tris(hidroximetil)aminometano en 6 litros de agua. Diluir a 10 litros con agua. Ajustar a pH $9,00 \pm 0,05$ con ácido fosfórico. Disolver 100 g de lauril sulfato de sodio en aproximadamente 6 litros de la solución reguladora, transferir esta solución a la solución reguladora remanente y mezclar.

Medio: *Solución reguladora de tris 0,05 M*; 900 ml.

Tiempo: 120 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y determinar la cantidad de $C_{15}H_{12}N_2O_2$ disuelta mediante la siguiente técnica.

Sistema cromatográfico, Solución de trietilamina, Fase móvil y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Fenitoína SR-FA en metanol para obtener una solución de aproximadamente 3 mg de fenitoína por ml. Transferir una porción de esta solución a un matraz aforado y diluir cuantitativamente con *Medio*, en etapas si fuera necesario, para obtener una solución de aproximadamente 0,06 mg de fenitoína por ml.

Solución estándar - Transferir 10,0 ml de *Solución madre del estándar* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución muestra - Retirar una porción de cada alícuota y descartar los primeros 3 ml del filtrado.

Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 25 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos.

Tolerancia - No menos de 70 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{15}H_{12}N_2O_2$ se debe disolver en 120 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación
<740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Solución de trietilamina - Transferir 1 ml de trietilamina a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Fase móvil - Agua, metanol, acetonitrilo, *Solución de trietilamina* y ácido acético (500:270:230:5:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Fenitoína SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg de fenitoína por ml.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Fenitoína. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 250 mg de fenitoína, transferir a un matraz aforado de 500 ml, disolver y completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 6.500 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 1,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 25 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{15}H_{12}N_2O_2$ en los Comprimidos de Fenitoína, de acuerdo a la cantidad declarada.

FENITOÍNA

SUSPENSIÓN ORAL

Definición - La Suspensión Oral de Fenitoína es una suspensión de *Fenitoína* en un medio apropiado. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{15}H_{12}N_2O_2$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Fenitoína SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto. Evitar el congelamiento.

ENSAYOS

Identificación

A - Agitar un volumen de la Suspensión Oral de Fenitoína, equivalente a 100 mg de fenitoína, con 50 ml de una mezcla de éter y cloroformo (1 en 2) en una ampolla de decantación. Evaporar el extracto hasta sequedad y secar al vacío a 105 °C durante 4 horas: debe fundir entre 292 y 299 °C, con descomposición. Emplear el *Método I* en 260. *Determinación del punto de fusión*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 35 rpm.

Solución reguladora Tris 0,05 M: Disolver 36,3 g de tris (hidroximetil)amino metano y 60 g de laurilsulfato de sodio en 6 litros de agua, ajustar a pH $7,5 \pm 0,05$ con ácido clorhídrico y desgasificar.

Medio: *Solución reguladora Tris 0,05 M*; 900 ml.

Tiempo: 60 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{15}H_{12}N_2O_2$ disuelta mediante la siguiente técnica.

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 240 nm y una columna de 15 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución reguladora de fosfato de sodio 0,02 M - Disolver 2,76 g de fosfato monobásico de sodio en 1 litro de agua.

Fase móvil - Solución reguladora de fosfato de sodio 0,02 M, metanol y acetonitrilo (50:27:23). Ajustar a pH 3,0 con ácido fosfórico. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 35 mg de Fenitoína SR-FA, transferir a un matraz aforado de 250 ml. Disolver con 15 ml de metanol, completar a volumen con *Medio* y mezclar.

Aptitud del sistema - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 5.400 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Solución estándar* y las soluciones en ensayo, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales.

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{15}H_{12}N_2O_2$ se debe disolver en 60 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Para suspensiones orales en envases monodosis: debe cumplir con los requisitos.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Para suspensiones orales en envases multidosis: debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 229 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, metanol, acetonitrilo, trietilamina 0,5 % en agua y ácido acético 1,74 N (191:100:40:1,3:1). Filtrar y desgasificar. Hacer

los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación muestra - Transferir un volumen de la Suspensión Oral de Fenitoína equivalente a 125 mg de fenitoína a un matraz aforado de 200 ml, lavar la pipeta con 40 ml de metanol y agregar los lavados al matraz. Agregar 50 ml de *Fase móvil*, completar a volumen con metanol, mezclar, sonicar y filtrar.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Fenitoína SR-FA en metanol y diluir con *Fase móvil* para obtener una solución de concentración similar a la obtenida a partir de la *Preparación muestra*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 1,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{15}H_{12}N_2O_2$ en la Suspensión Oral de Fenitoína, de acuerdo a la cantidad declarada.

FENITOÍNA SÓDICA

SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Fenitoína Sódica es una solución estéril de Fenitoína Sódica con propilenglicol y alcohol en *Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{15}H_{11}N_2NaO_2$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Fenitoína SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis o multidosis de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*. Transferir un volumen de la Solución Inyectable de Fenitoína Sódica, equivalente a 250 mg de fenitoína sódica, a una ampolla de decantación que contiene 25 ml de agua. Extraer, en el orden enumerado, con porciones de 50, 30 y 30 ml de acetato de etilo. Lavar cada extracto con dos porciones de 20 ml de solución de acetato de sodio 1 en 100. Evaporar los extractos combinados de acetato de etilo y secar el residuo de fenitoína a 105 °C hasta peso constante: el espectro de absorción infrarroja de una dispersión en bromuro de potasio del residuo así obtenido debe presentar máximos sólo a las mismas longitudes de onda que el de una preparación similar de Fenitoína SR-FA. .

B - Debe responder al ensayo a la llama para *Sodio* <410>

Determinación del pH <250>

Entre 10,0 y 12,3.

Contenido de alcohol y propilenglicol

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografías de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 1,8 m × 2,0 mm con fase estacionaria silanizada con un soporte constituido por un copolímero de estireno-divinilbenceno con un área superficial nominal de 500 a 600 m² por g y un diámetro de poro promedio de 0,0075 µm, de malla 50 a 80. Mantener la columna a 140 °C durante 3 minutos, aumentar la temperatura a razón de 6 °C por minuto hasta llegar a 190 °C y mantener a esta temperatura durante 6 minutos. Emplear helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 40 ml por minuto. Mantener el inyector y el detector a 200 °C.

Solución del estándar interno - Transferir 8 ml de metanol y 20 ml de etilenglicol a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución de alcohol - Transferir 6 ml de alcohol absoluto a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución de propilenglicol - Transferir 20 ml de propilenglicol a un matraz aforado de 100 ml, diluir a volumen con agua y mezclar.

Solución estándar - Transferir 10 ml de *Solución del estándar interno*, 10 ml de *Solución de alcohol* y 10 ml de *Solución de propilenglicol* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución muestra - Transferir 5 ml de la Solución Inyectable de Fenitoína Sódica y 10 ml de *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el orden de elusión debe ser metanol, alcohol, etilenglicol y propilenglicol; la resolución *R* entre el metanol y el alcohol no debe ser menor de 2,0; la resolución *R* entre el etilenglicol y el propilenglicol no debe ser menor de 3,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 2 µl) de la *Solución estándar* y de la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales.

Calcular el cociente relativo de la respuesta para el pico de alcohol con respecto al pico de metanol y para el pico de propilenglicol con respecto al pico de etilenglicol. Calcular el porcentaje de alcohol por la fórmula siguiente:

$$12(R_M/R_E)$$

en la cual R_M y R_E son los cocientes relativos de las respuestas de los picos del metanol y los picos del alcohol obtenidos a partir de la *Solución muestra* y de la *Solución estándar*, respectivamente. No debe contener menos de 9,0 ni más de 11,0 % de alcohol.

Calcular el porcentaje de propilenglicol por la fórmula siguiente:

$$40(R'_M/R'_E)$$

en la cual R'_M y R'_E son los cocientes relativos de las respuestas de los picos del etilenglicol y del propilenglicol obtenidos a partir de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, respectivamente.

No debe contener menos de 37,0 ni más de 43,0 % de propilenglicol.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 0,3 Unidades de Endotoxina por mg de Fenitoína Sódica.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un cromatógrafo de líquidos equipado con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 250 mm × 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice porosas de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol y agua (55:45). Filtrar y desgasificar. Hacer ajustes si fuera necesario (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Fenitoína SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 230 µg por ml.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Fenitoína Sódica, equivalente a 250 mg de fenitoína sódica, a un matraz aforado de capacidad apropiada y diluir cuantitativamente y en etapas, con *Fase móvil* hasta obtener una solución de aproximadamente 250 µg de fenitoína sódica por ml.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar*, y registrar las respuestas de los picos según se indica en el *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir la respuesta de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{15}H_{11}N_2NaO_2$ en la Solución Inyectable de Fenitoína Sódica, de acuerdo a la cantidad declarada.

ROTULADO

Indicar en el rótulo que la Solución Inyectable de Fenitoína Sódica no se debe emplear si presenta turbidez o contiene un precipitado.

FENOBARBITAL

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Fenobarbital deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{12}H_{12}N_2O_3$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Fenobarbital SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Pesar una cantidad equivalente a 60 mg de fenobarbital a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*, suspender con 50 ml de cloroformo y filtrar. Evaporar el filtrado hasta sequedad y secar a 105 °C durante 2 horas: el residuo obtenido debe responder al ensayo de *Identificación A* en *Fenobarbital*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Solución reguladora alcalina de borato de pH 9,6* (ver *Soluciones Reguladoras estándar* en *Reactivos y Soluciones*), si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{12}H_{12}N_2O_3$ disuelta a partir de las absorbancias medidas en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 240 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Fenobarbital SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{12}H_{12}N_2O_3$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Solución reguladora de pH 4,5, Fase móvil, Solución del estándar interno, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración* en *Fenobarbital*.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Fenobarbital. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 20 mg de fenobarbital, agregar 15 ml de *Solución del estándar interno*, mezclar y sonicar durante 15 minutos. Filtrar antes de su uso.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{12}H_{12}N_2O_3$ en los Comprimidos de Fenobarbital, de acuerdo a la cantidad declarada.

FENOBARBITAL SÓDICO

SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Fenobarbital Sódico es una solución estéril de *Fenobarbital Sódico* en un solvente apropiado. El Fenobarbital puede sustituir a una cantidad equivalente de Fenobarbital Sódico para ajustar el pH. La Solución Inyectable de Fenobarbital Sódico debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{12}H_{11}N_2NaO_3$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Fenobarbital SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis o multidosis, de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Transferir a una ampolla de decantación un volumen de la Solución Inyectable de Fenobarbital Sódico, equivalente a 50 mg de fenobarbital sódico, agregar 15,0 ml de agua, agregar 2,0 ml de ácido clorhídrico, agitar y extraer el fenobarbital liberado con cuatro porciones de 25 ml de cloroformo. Filtrar los extractos combinados y transferir a un vaso de precipitados. Lavar la ampolla de decantación y el filtro con varias porciones pequeñas de cloroformo. Evaporar una porción de 50 ml de la solución clorofórmica de fenobarbital en un baño de vapor. Agregar 10,0 ml de éter, evaporar nuevamente y secar el residuo a 105 °C durante 2 horas: el espectro de absorción infrarroja de una dispersión en bromuro de potasio del residuo así obtenido debe presentar máximos sólo a las mismas longitudes de onda que el de una preparación similar de Fenobarbital SR-FA.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*, ambos relativos al estándar interno.

Determinación del pH <250>

Entre 9,2 y 10,2.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 0,3 Unidades de Endotoxina por mg de Fenobarbital Sódico.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Solución reguladora de pH 4,5, Fase móvil, Solución del estándar interno y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Fenobarbital*.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 15,0 mg de Fenobarbital SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, agregar 25 ml de *Fase móvil* y sonicar hasta disolver. Agregar 15,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 0,3 mg por ml.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Fenobarbital Sódico, equivalente a 65,0 mg de fenobarbital sódico, a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Transferir 25,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, agregar 15,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Procedimiento - Proceder según se indica para *Procedimiento en Valoración en Fenobarbital*. Calcular la cantidad de $C_{12}H_{11}N_2NaO_3$ en la Solución Inyectable de Fenobarbital Sódico, de acuerdo a la cantidad declarada.

ROTULADO

Indicar en el rótulo que la Solución Inyectable de Fenobarbital Sódico no se debe emplear si contiene un precipitado.

FENOXIMETILPENICILINA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Fenoximetilpenicilina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de Unidades de Fenoximetilpenicilina declarado y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Fenoximetilpenicilina Potásica SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{16}H_{18}N_2O_5S$ disuelta a partir de las absorbancias medidas en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Fenoximetilpenicilina Potásica SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos del 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{16}H_{18}N_2O_5S$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 3,0 %.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar y Solución de resolución - Proceder según se indica en *Valoración en Fenoximetilpenicilina*.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte comprimidos de Fenoximetilpenicilina. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 400.000 Unidades de fenoximetilpenicilina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil*, agitar durante 5 minutos y filtrar.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración en Fenoximetilpenicilina*. Calcular la cantidad de Unidades de Fenoximetilpenicilina en los Comprimidos de Fenoximetilpenicilina, de acuerdo a la cantidad declarada.

ROTULADO

Indicar en el rótulo el contenido de Fenoximetilpenicilina en mg y/o en Unidades considerando que 1.600 Unidades de Fenoximetilpenicilina equivalen a 1 mg de Fenoximetilpenicilina o ambas.

FENOXIMETILPENICILINA POTÁSICA COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Fenoximetilpenicilina Potásica deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de Unidades de Fenoximetilpenicilina declaradas y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Fenoximetilpenicilina Potásica SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: solución reguladora de fosfato de pH 6,0 (ver *Soluciones reguladoras* en *Reactivos y Soluciones*); 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de Unidades de Fenoximetilpenicilina disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, con un espectrofotómetro, comparando con una *Solución estándar* de Fenoximetilpenicilina Potásica SR-FA de concentración conocida de Unidades de Fenoximetilpenicilina, en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{16}H_{18}N_2O_5S$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Pérdida por secado <680>

Pesar aproximadamente 100 mg del polvo fino obtenido en *Preparación muestra* en *Valoración*. Secar en un recipiente de pesaje con tapa con perforación capilar al vacío a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 1,5 % de su peso.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar, Solución de resolución y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Fenoximetilpenicilina*.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Fenoximetilpenicilina Potásica. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 400.000 Unidades de fenoximetilpenicilina, transferir a un matraz aforado de 100 ml. completar a volumen con *Fase móvil*, agitar durante aproximadamente 5 minutos y filtrar.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración en Fenoximetilpenicilina*. Calcular la cantidad de Unidades de Fenoximetilpenicilina en los Comprimidos de Fenoximetilpenicilina Potásica, de acuerdo a la cantidad declarada.

ROTULADO

Indicar en el rótulo el contenido de Fenoximetilpenicilina en mg y/o en Unidades considerando que 1.600 Unidades de Fenoximetilpenicilina equivalen a 1 mg de Fenoximetilpenicilina.

FERROSO, SULFATO

SOLUCIÓN ORAL

Definición - La Solución Oral de Sulfato Ferroso debe contener no menos de 94,0 por ciento y no más de 106,0 por ciento de la cantidad declarada de sulfato ferroso ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Debe responder a los ensayos para *Sales ferrosas* <410> y *Sulfato* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 1,4 y 5,3.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Oral de Sulfato Ferroso, equivalente a 625 mg de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, a un erlenmeyer de 200 ml. Agregar 25 ml de ácido sulfúrico 2 N y 75 ml de agua recientemente hervida y enfriada. Agregar ortofenantrolina (SR) y titular de inmediato con sulfato cérico 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de sulfato cérico 0,1 N equivale a 27,80 mg de sulfato ferroso ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$).

ROTULADO

Indicar en el rótulo el contenido de Sulfato Ferroso ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) y el contenido de hierro elemental.

FITOMENADIONA

EMULSIÓN INYECTABLE

Definición - La Emulsión Inyectable de Fitomenadiona es una dispersión estéril, acuosa de *Fitomenadiona*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{31}H_{46}O_2$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Fitomenadiona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos monodosis o multidosis, de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Determinación del pH <250>

Entre 3,5 y 7,0.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 14,0 Unidades de Endotoxina por mg de Fitomenadiona.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

[NOTA: emplear material de vidrio inactínico durante todo el ensayo y proteger las soluciones de la exposición a la luz].

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 0,7 ml por minuto.

Fase móvil - Alcohol absoluto y agua (95:5). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Fitomenadiona SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml. Transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml,

completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml.

Preparación muestra - Medir exactamente un volumen de Emulsión Inyectable de Fitomenadiona y diluir, cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,5 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{31}H_{46}O_2$ en la Emulsión Inyectable de Fitomenadiona, de acuerdo a la cantidad declarada.

FLUOROURACILO

SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Fluorouracilo es una solución estéril de Fluorouracilo en Agua para Inyectables, preparada con Hidróxido de Sodio. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de $C_4H_3FN_2O_2$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Fluorouracilo SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis de vidrio Tipo I. Evitar la congelación y la exposición a la luz.

ENSAYOS

Identificación

A - Acidificar cuidadosamente una porción de la Solución Inyectable de Fluorouracilo, equivalente a 100 mg de fluorouracilo, con ácido acético glacial. Agitar y enfriar apenas la solución para precipitar el fluorouracilo. Recolectar el precipitado, lavar con 1 ml de agua y secar al vacío sobre pentóxido de fósforo a 80 °C durante 4 horas: el residuo obtenido debe responder al ensayo de *Identificación A* en Fluorouracilo.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

C - Debe responder al ensayo de *Identificación C* en Fluorouracilo.

Determinación del pH <250>

Entre 8,6 y 9,4.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 0,33 Unidades de Endotoxina por mg de fluorouracilo.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración* en Fluorouracilo.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Fluorouracilo, equivalente a 50 mg de fluorouracilo, a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Diluir cuantitativamente con agua un volumen conocido de esta solución hasta obtener una solución de aproximadamente 10 µg por ml.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_4H_3FN_2O_2$ de la Solución Inyectable de Fluorouracilo, de acuerdo a la cantidad declarada.

ROTULADO

Indicar en el rótulo que la Solución Inyectable de Fluorouracilo no debe emplearse si se ha formado un precipitado como resultado de la exposición a temperaturas bajas. Disolver calentando a 60 °C, agitar y dejar enfriar a alrededor de 37 °C antes de usar.

FLUOROURACILO

UNGÜENTO

Definición - El Ungüento de Fluorouracilo debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_4H_3FN_2O_2$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Fluorouracilo SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

Precaución: evitar el contacto con la piel y la inhalación de partículas de fluorouracilo.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación del contenido neto del envase
<220>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Libre de patógenos, el recuento de organismos mesófilos aerobios no debe ser mayor de 100 ufc por g y el recuento total de hongos filamentosos y levaduras no debe ser mayor de 10 ufc por g.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Fluorouracilo*.

Solución reguladora pH 4,7 - Pesar exactamente alrededor de 8,4 g de acetato de sodio, transferir a un matraz aforado de 1 litro, agregar 3,35 ml de ácido acético glacial, completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación muestra - Pesar exactamente una cantidad del Ungüento de Fluorouracilo, equivalente a 45 mg de fluorouracilo, transferir a un matraz aforado de 200 ml, agregar 100 ml de *Solución reguladora pH 4,7*, agitar durante 5 minutos, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Filtrar, descartar los primeros 20 ml de filtrado, transferir 20 ml a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Solución reguladora pH 4,7* y mezclar. Transferir 20 ml de esta solución a una ampolla de decantación, extraer

con 5 porciones de 20 ml de éter etílico y combinar los extractos orgánicos en otra ampolla de decantación. Extraer la fase acuosa de la primer ampolla con cuatro porciones de 20 ml de cloroformo, descartar los extractos clorofórmicos y transferir la fase acuosa a un matraz aforado de 100 ml. Extraer el éter etílico de la segunda ampolla de decantación con dos porciones de 20 ml de *Solución reguladora pH 4,7*, combinar los extractos acuosos y transferir al matraz aforado mencionado anteriormente. Evaporar el solvente residual en baño de vapor bajo una corriente de nitrógeno, dejar reposar hasta que alcance la temperatura ambiente, completar a volumen con *Solución reguladora pH 4,7* y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_4H_3FN_2O_2$ en la porción del Ungüento Tópico de Fluorouracilo en ensayo, en base a la cantidad declarada.

FLUTAMIDA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Flutamida deben contener no menos de 93,0 por ciento y no más de 107,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{11}H_{11}F_3N_2O_3$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Flutamida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

Precauciones - Todos los ensayos deben realizarse bajo campana de extracción. Evitar la inhalación del polvo o el contacto de la solución con la piel o mucosas.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo y acetato de etilo (3:1).

Diluyente - Cloroformo y metanol (5:1).

Solución estándar - Preparar una solución de Flutamida SR-FA en *Diluyente* de aproximadamente 3,0 mg de flutamida por ml.

Solución muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de diez Comprimidos de Flutamida, pesar una cantidad equivalente a 75 mg de flutamida, transferir a un matraz aforado de 25ml y disolver en *Diluyente*. Completar a volumen con el mismo solvente, mezclar y filtrar si fuera necesario.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 20 μ l de la *Solución muestra* y 20 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Examinar la placa a 254 nm: la mancha principal obtenida a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder en valor de R_f , tamaño e intensidad con los de la *Solución estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 75 rpm.

Medio: lauril sulfato de sodio al 2 %; 1.000 ml.

Tiempo: 60 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y determinar la cantidad disuelta de Flutamida por el método siguiente.

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 12,5 mg de Flutamida SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver, completar a volumen con *Medio* y mezclar. Transferir 3,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con *Medio* y mezclar.

Solución muestra - Transferir de cada porción filtrada, una cantidad equivalente a 750 μ g de flutamida, a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con *Medio* y mezclar.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución estándar* y la *Solución muestra* en el ultravioleta, a la longitud de onda de máxima absorción, 306 nm, empleando *Medio* como blanco. Calcular la cantidad de $C_{11}H_{11}F_3N_2O_3$ disuelta, en base a la cantidad declarada.

Tolerancia - No menos de 75 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{12}H_{15}N_3O_2S$ se debe disolver en 60 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido

Diluyente - Metanol y agua (95:5).

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 12,5 mg de Flutamida SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Transferir 3,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Solución muestra - Pesar una cantidad equivalente a 12,5 mg de flutamida a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*, transferir a un matraz aforado de 50 ml, agregar *Diluyente* y agitar durante 30 minutos. Completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Transferir 3,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución estándar* y la *Solución muestra* en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 299 nm, empleando *Diluyente* como blanco. Calcular la cantidad de $C_{12}H_{15}N_3O_2S$ en cada Comprimido de Flutamida.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol y fosfato monobásico de potasio 0,05 M (7:4). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Diluyente - Metanol y agua (95:5).

Solución de aptitud del sistema - Pesar aproximadamente 18 mg de Flutamida SR-FA y 9,0 mg de testosterona de pureza conocida, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver, completar a volumen con metanol y mezclar. Esta solución contiene 0,18 mg de flutamida y 0,09 mg de testosterona por ml.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 9,0 mg de Flutamida SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver, completar a volumen con metanol y mezclar.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Flutamida. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 150 mg de flutamida, transferir a un matraz aforado de 50 ml, agregar 40 ml de *Diluyente*, agitar durante 30 minutos. Completar a volumen con *Diluyente*, mezclar y filtrar. Transferir 3,0 ml a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de flutamida y testosterona no debe ser menor de 2,0; los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 1,2 para testosterona y 1,0 para flutamida; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₁₁H₁₁F₃N₂O₃ en los Comprimidos de Flutamida, de acuerdo a la cantidad declarada.

FÓLICO, ÁCIDO

COMPRIMIDOS

Definición - Los comprimidos de Ácido Fólico deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 115,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{19}H_{19}N_7O_6$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Ácido Fólico SR-FA. Impureza A de Ácido Fólico SR-FA: Formiltetrahidrofolato cálcico.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Absorción ultravioleta <470>

Pesar una cantidad equivalente a 100 mg de ácido fólico a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*, suspender en 100 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 250) y filtrar. Ajustar a pH 3,0 con ácido clorhídrico, enfriar a 5 °C, filtrar y lavar el precipitado con agua fría hasta que no se detecte cloruro. Lavar con acetona y secar a 80 °C durante 1 hora: el espectro de absorción ultravioleta de una solución de ácido fólico 1 en 100.000, empleando una solución de hidróxido de sodio (1 en 250) como blanco, debe presentar máximos y mínimos a las mismas longitudes de onda que una solución similar de Ácido Fólico SR-FA, medida concomitantemente. La relación A_{256}/A_{365} debe estar comprendida entre 2,80 y 3,00.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: agua; 500 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{19}H_{19}N_7O_6$ disuelta, empleando la técnica especificada en *Valoración*; realizar modificaciones si fuera necesario.

Tolerancia - No menos de 75 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{19}H_{19}N_7O_6$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Pesar exactamente alrededor de 35,1 g de perclorato de sodio y 1,40 g de fosfato monobásico de potasio, transferir a un matraz aforado de 1 litro, agregar 7,0 ml de hidróxido de potasio 1 N y 40 ml de metanol, completar a volumen con agua y mezclar. Ajustar a pH 7,2 con hidróxido de potasio 1 N o ácido fosfórico. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Transferir 1 g de perclorato sódico y 2 ml de hidróxido de amonio a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua.

Solución de aptitud del sistema - Preparar una solución de aproximadamente 0,2 mg de Ácido Fólico SR-FA y 0,2 mg de Impureza A de Ácido Fólico SR-FA por ml de *Diluyente*.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 30 mg de Ácido Fólico SR-FA, disolver y diluir cuantitativamente en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,20 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Ácido Fólico. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 10 mg de ácido fólico, transferir a un matraz aforado de 50 ml con la ayuda de *Diluyente*. Agitar suavemente hasta que el Ácido Fólico se haya disuelto, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Aptitud del sistema - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución R entre los picos de impureza A de Ácido Fólico y de ácido fólico no debe ser menor de 3,6; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 25 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las

respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{19}H_{19}N_7O_6$ en los Comprimidos de Ácido Fólico, de acuerdo a la cantidad declarada.

FÓLICO, ÁCIDO

SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Ácido Fólico es una solución estéril de *Ácido Fólico* en *Agua para Inyectables* preparada con *Hidróxido de Sodio* o *Carbonato de Sodio*. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{19}H_{19}N_7O_6$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Ácido Fólico SR-FA. Impureza A de ácido Fólico SR-FA: Formiltetrahidrofolato cálcico.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos monodosis o multidosis, de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

Absorción ultravioleta <470>. A un volumen de la Solución Inyectable de Ácido Fólico, equivalente a 100 mg de ácido fólico, agregar agua hasta aproximadamente 25 ml. Ajustar a pH 3,0 con ácido clorhídrico, enfriar a 5 °C, filtrar y lavar el precipitado de ácido fólico con agua fría hasta que en los últimos lavados no se detecte cloruro. A continuación lavar con acetona y secar a 80 °C durante 1 hora: el espectro de absorción ultravioleta de una solución de ácido fólico 1 en 100.000, obtenido con solución de hidróxido de sodio 1 en 250, debe presentar máximos y mínimos a las mismas longitudes de onda que una solución similar de Ácido Fólico SR-FA. La relación A_{256}/A_{365} debe estar comprendida entre 2,80 y 3,00.

Determinación del pH <250>

Entre 8,0 y 11,0.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 357,1 Unidades de Endotoxina por mg de Ácido Fólico.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Diluyente, Solución de aptitud del sistema y Preparación estándar - Proceder según se indica en *Valoración en Comprimidos de Ácido Fólico*.

Preparación muestra - Diluir un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Ácido Fólico, cuantitativamente y en etapas, con *Diluyente* hasta obtener una solución con una concentración entre 0,20 y 0,80 mg por ml, similar a la de la *Preparación estándar*.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración en Comprimidos de Ácido Fólico*. Calcular la cantidad de $C_{19}H_{19}N_7O_6$ en la Solución Inyectable de Ácido Fólico, de acuerdo a la cantidad declarada.

FUROSEMIDA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Furosemida deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Furosemida SR-FA. Impureza A de Furosemida SR-FA: Ácido 2-cloro-4-[(2-furilmetil)amino]-5-sulfamoilbenzoico. Impureza B de Furosemida SR-FA: Ácido 4-cloro-5-sulfamoilantranílico.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos bien cerrados.

ENSAYOS

[NOTA: proteger las soluciones preparadas que contengan furosemida de la luz]

Identificación

A - Examinar la solución obtenida en *Valoración* entre 220 y 320 nm (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*): la solución debe presentar dos máximos de absorción a 228 y 271 nm.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: solución reguladora de fosfato de pH 5,8 (ver *Soluciones Reguladoras* en *Reactivos y Soluciones*); 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de 10 ml de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio* para obtener una solución de aproximadamente 0,01 mg de furosemida por ml y determinar la cantidad de $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$ disuelta, a partir de las absorbancias en el ultravioleta a 277 nm, comparando con una *Solución estándar* de aproximadamente 0,01 mg de Furosemida SR-FA por ml en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 70 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

Límite de Impureza B de Furosemida

Sistema cromatográfico, Diluyente, Fase móvil, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Impureza B de Furosemida SR-FA en *Diluyente* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 8,0 µg por ml.

Solución muestra - Pesar exactamente una cantidad equivalente a 10 mg de furosemida a partir del polvo fino obtenido en *Preparación muestra* en *Valoración*. Transferir a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales: la respuesta del pico correspondiente a impureza B de furosemida obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la respuesta del pico obtenido a partir de la *Solución estándar* (0,8 %).

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unidos a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Diluyente - Diluir 22 ml de ácido acético glacial a 1 litro con una mezcla de agua y acetonitrilo (50:50).

Fase móvil - Agua, tetrahidrofurano y ácido acético glacial (70:30:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de aptitud del sistema - Disolver cantidades apropiadas de Furosemida SR-FA e Impureza A de Furosemida SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 20 y 12 µg por ml, respectivamente.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Furosemida SR-FA en *Diluyente* y diluir cuantitativamente y en etapas, si

fuera necesario, con *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 1,0 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Furosemida. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 50 mg de furosemida, transferir a un matraz aforado de 50 ml, agregar 30 ml de *Diluyente*, sonicar durante 10 minutos, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de furosemida e impureza A de furosemida no debe ser menor de 2,5, la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$ en los Comprimidos de Furosemida, de acuerdo a la cantidad declarada.

FUROSEMIDA

SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Furosemida es una solución estéril de *Furosemida* en *Agua para Inyectables* empleando Hidróxido de Sodio como coadyuvante. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Furosemida SR-FA. Impureza A de Furosemida SR-FA: Ácido 2-cloro-4-[2-furilmetilamino]-5-sulfamoilbenzoico SR-FA. Impureza B de Furosemida SR-FA: Ácido 2-cloro-5-sulfamoilantranílico SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos monodosis o multidosis, de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

[NOTA: proteger las soluciones preparadas que contengan furosemida de la luz]

Identificación

A - Examinar la solución obtenida en *Valoración* entre 220 y 320 nm (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*): la solución debe presentar dos máximos de absorción a 228 y 271 nm.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Límite de Impureza B de Furosemida

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Diluyente, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Disolver una cantidad de Impureza B de furosemida SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 10 µg por ml.

Solución muestra - Proceder según se indica en *Preparación muestra* en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. La respuesta de ningún pico a excepción del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser mayor que la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar* (1 %).

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 8,0 y 9,3.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 3,6 Unidades de Endotoxina por mg de furosemida.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, tetrahidrofurano y ácido acético glacial (70:30:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Diluir 22 ml de ácido acético glacial en una mezcla de acetonitrilo y agua (50:50) a 1 litro y mezclar.

Solución de aptitud del sistema - Disolver una cantidad de Furosemida SR-FA y de Impureza A de Furosemida SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 20 µg y 12 µg por ml, respectivamente.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de furosemida e impureza A de furosemida no debe ser menor de 2,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Preparación estándar - Pesar exactamente una cantidad apropiada de Furosemida SR-FA, disolver y diluir cuantitativamente en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 1,0 mg por ml.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Furosemida, equivalente a 10 mg de furosemida, a un matraz aforado de 10ml. Completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular la cantidad de $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$ en la Solución Inyectable de

Furosemida en ensayo, de acuerdo a la cantidad declarada.

FUROSEMIDA

SOLUCIÓN ORAL

Definición - La Solución Oral de Furosemida debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Furosemida SR-FA. Impureza A de Furosemida SR-FA: Ácido 2-cloro-4-[(2-furilmetil)amino]-5-sulfamoilbenzoico. Impureza B de Furosemida SR-FA: Ácido 4-cloro-5-sulfamoilantranílico.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

[NOTA: proteger las soluciones preparadas de que contengan furosemida de la luz]

Identificación

A - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: hidróxido de sodio 0,01 N.

Concentración: 6 µg de por ml.

Las absorbividades no deben ser significativamente diferentes.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación del contenido neto del envase <220>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 7,0 y 10,0.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

Límite de Impureza B de Furosemida

Sistema cromatográfico, Diluyente, Fase móvil, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Impureza B de Furosemida SR-FA en *Diluyente* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario,

con *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 15,0 µg por ml.

Solución muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Oral de Furosemida, equivalente a 10 mg de furosemida, a un matraz aforado de 10 ml. Completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales: la respuesta del pico correspondiente a la impureza B de furosemida obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor que la de la *Solución estándar*.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por grupos nitrilo unidos químicamente a partículas de sílice porosa, de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Diluyente - Agua, acetonitrilo y ácido acético glacial (22:22:1).

Fase móvil - Agua, acetonitrilo y ácido acético glacial (165:35:2). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de aptitud del sistema - Disolver cantidades apropiadas de Furosemida SR-FA, Impureza A de Furosemida SR-FA e Impureza B de Furosemida SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg de cada una por ml.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Furosemida SR-FA en *Diluyente* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 1 mg de furosemida por ml.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Oral de Furosemida, equivalente a 10 mg de furosemida, a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,2 para la impureza B de furosemida, 1,0 para la furosemida y 1,1 para la impureza A de furosemida; la resolución *R* entre los picos de furosemida y la impureza A de

furosemida no debe ser menor de 1,5; el factor de asimetría para el pico de furosemida no debe ser mayor de 1,5. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$ en la Solución Oral de Furosemida, de acuerdo a la cantidad declarada.

GANCICLOVIR PARA INYECCIÓN

Definición - Ganciclovir para Inyección es un polvo liofilizado preparado mediante la neutralización de ganciclovir con hidróxido de sodio. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de ganciclovir ($C_9H_{13}N_5O_4$), calculado sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Ganciclovir SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto, de vidrio Tipo I, a una temperatura comprendida entre 15 y 30 °C. Proteger de la humedad.

ENSAYOS

Precaución - *Manipular el Ganciclovir para Inyección con sumo cuidado, ya que es un potente agente citotóxico y un posible carcinógeno.*

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Emplear una mezcla de formamida anhidra y metanol (50:50) como solvente en el frasco de titulación. El volumen de *Reactivo* consumido por el solvente en el frasco de titulación no debe ser mayor de 10 % del volumen inicial del solvente en el frasco de titulación. La concentración de Ganciclovir para Inyección en el frasco de titulación no debe ser mayor de 7 mg por ml. No debe contener más de 3,0 %.

Determinación del pH <250>

Entre 10,8 y 11,4, determinado sobre una solución reconstituida según se indica en el rótulo.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 0,84 Unidades de Endotoxina por mg de Ganciclovir para Inyección.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, según se indica en *Método de filtración por membrana*.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos para inyectables de pequeño volumen.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 10 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,2 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 1,4 g de fosfato monobásico de amonio y 2,0 g de ácido fosfórico en 500 ml de agua, diluir a 1 litro con agua y mezclar. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución del estándar interno - Pesar exactamente alrededor de 75 mg de hipoxantina, transferir a un matraz aforado de 500 ml, disolver, completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación madre del estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Ganciclovir SR-FA en agua para obtener una solución de aproximadamente 250 μg por ml.

Preparación estándar - Transferir 20 ml de *Preparación madre del estándar* y 10 ml de *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 100 ml. Completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Preparación madre de la muestra - Reconstituir el Ganciclovir para Inyección en una porción de agua, transferir cuantitativamente con agua a un matraz aforado apropiado y completar a volumen con agua para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml.

Preparación muestra - Transferir 5 ml de la *Preparación madre de la muestra* y 10 ml de la *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,7 para hipoxantina y 1,0 para ganciclovir; la resolución *R* entre los picos de hipoxantina y ganciclovir no debe ser menor de 3,0; la eficiencia de la columna no debe ser menor de 1.000 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente

10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_9H_{13}N_5O_4$ en Ganciclovir para Inyección, en base a la cantidad declarada.

GEMCITABINA

PARA INYECCIÓN

Definición - Gemcitabina para Inyección debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de clorhidrato de gemcitabina en la cantidad declarada de $C_9H_{11}F_2N_3O_4$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Precaución - *Clorhidrato de Gemcitabina es un potente agente citotóxico. Evitar la inhalación de partículas y la exposición a la piel.*

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Gemcitabina SR-FA. Citosina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de vidrio tipo I a temperatura ambiente controlada. No refrigerar después de la reconstitución.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción ultravioleta <470>

Concentración: 16 µg por ml.

Solvente: Agregar 13,8 mg de fosfato monobásico de sodio y 2,5 ml de ácido fosfórico a 1 litro de agua para obtener una solución reguladora de fosfato 0,14 M de pH 2,5.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación del pH <250>

Entre 2,7 y 3,3; determinado sobre una solución de aproximadamente 40 mg de gemcitabina por ml de solución de cloruro de sodio al 0,9 %.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 0,05 Unidades de Endotoxina por mg de gemcitabina.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, según se indica en *Método de filtración por membrana*.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos para inyectables de pequeño volumen.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución de aptitud del sistema, Solución estándar y Aptitud

del sistema - Proceder según se indica en *Pureza cromatográfica en Clorhidrato de Gemcitabina*.

Solución muestra - Reconstituir el contenido de un envase de Gemcitabina para Inyección en agua para obtener una solución de aproximadamente 2 mg por ml.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Pureza cromatográfica en Clorhidrato de Gemcitabina*. Calcular la cantidad de citosina, expresada como porcentaje de clorhidrato de gemcitabina, por la fórmula siguiente:

$$0,1(263,20/299,66)(C_c V/L)(r_i / r_E)$$

en la cual 263,20 y 299,66 son los pesos moleculares de gemcitabina y de clorhidrato de gemcitabina, respectivamente; C_c es la concentración en µg por ml de Citosina SR-FA en la *Solución estándar*; V es el volumen de agua en ml empleado para reconstituir el contenido del envase; L es la cantidad en mg de Gemcitabina en el envase; r_i es la respuesta correspondiente al pico de citosina en la *Solución muestra*; y r_E es la respuesta de citosina en la *Solución estándar*: no debe contener más de 0,1 % de citosina. Calcular el porcentaje de cada impureza diferente de citosina en la porción de Gemcitabina en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$0,1(263,20/299,66)(C_E V/L)(r_i / r_E)$$

en donde C_E es la concentración en µg por ml de Clorhidrato de Gemcitabina SR-FA en la *Solución estándar*; r_i es la respuesta del número α de gemcitabina o cualquier otra impureza individual en la *Solución muestra*; r_E es la respuesta correspondiente al pico de gemcitabina en la *Solución estándar*; el resto de los términos son los descriptos anteriormente: no debe contener más de 0,1 % de número α de gemcitabina; no debe contener más de 0,2 % de cualquier otra impureza y la suma de todas las impurezas no debe ser mayor de 0,3 %. Ignorar cualquier pico que esté por debajo del límite de cuantificación (0,02 %).

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución de aptitud del sistema, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Clorhidrato de Gemcitabina*.

Preparación muestra - Reconstituir una cantidad de envases de Gemcitabina para Inyección en agua para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración en Clorhidrato de Gemcitabina*. Calcular la cantidad de $C_9H_{11}F_2N_3O_4$ en cada

envase de Gemcitabina para Inyección, en base a la cantidad declarada.

GENTAMICINA, SULFATO DE CREMA DÉRMICA

Definición - La Crema Dérmica de Sulfato de Gentamicina debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 135,0 por ciento de la cantidad declarada de gentamicina y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Sulfato de Gentamicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor con un tamaño de poro promedio de 6 nm.

Fase móvil - Cloroformo, metanol e hidróxido de amonio (20:13:10).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Sulfato de Gentamicina SR-FA, equivalente a 5 mg de gentamicina, en 5 ml de agua.

Solución muestra - Transferir una cantidad de la Crema Dérmica de Sulfato de Gentamicina, equivalente a 5 mg de gentamicina, a un recipiente apropiado, agregar una mezcla de 5 ml de agua y 200 ml de cloroformo y agitar. Permitir que las fases se separen y filtrar la fase acuosa. Emplear el filtrado.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 20 µl de la *Solución muestra* y 20 µl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Exponer a vapores de yodo en un recipiente conteniendo cristales de yodo: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración tópica.

Determinación del contenido neto del envase <220>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Proceder según se indica para Gentamicina en 770. *Valoración microbiológica de antibióticos*.

Transferir una porción exactamente pesada de la Crema Dérmica de Sulfato de Gentamicina, equivalente a 1 mg de gentamicina, a una ampolla de decantación, agregar 50 ml de éter y agitar. Extraer con cuatro porciones de 20 ml de *Solución reguladora N° 3*. Combinar los extractos acuosos y diluir cuantitativamente y en etapas esta solución con *Solución reguladora N° 3* para obtener las soluciones de ensayo.

GENTAMICINA, SULFATO DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Sulfato de Gentamicina es una solución estéril de *Sulfato de Gentamicina en Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 125,0 por ciento de la cantidad declarada de gentamicina y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Sulfato de Gentamicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis o multidosis, de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol e hidróxido de amonio (20:13:10).

Solución muestra - Diluir la Solución Inyectable de Sulfato de Gentamicina en agua, si fuera necesario, para obtener una solución de aproximadamente 1,0 mg de gentamicina por ml. Si la Solución Inyectable de Sulfato de Gentamicina contiene menos de 1,0 mg por ml, aplicar sobre la placa cromatográfica un volumen equivalente a 20 µg de gentamicina.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Sulfato de Gentamicina SR-FA en agua para obtener una solución de aproximadamente 1,0 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa una cantidad, equivalente a 20 µg de gentamicina, de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Exponer la placa a vapores de yodo en una cámara de detección que contenga cristales de yodo: las intensidades y los valores de R_f de las tres manchas principales obtenidas a partir de la *Solución muestra* se deben corresponder con los obtenidos con la *Solución estándar*.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 3,0 y 5,5.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 0,71 Unidades de Endotoxina por mg de gentamicina.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Proceder según se indica en 770. *Valoración microbiológica de antibióticos*, diluir un volumen exactamente medido de Solución Inyectable de Sulfato de Gentamicina con *Solución reguladora* N° 3 para obtener las soluciones de ensayo.

GENTAMICINA, SULFATO DE SOLUCIÓN OFTÁLMICA

Definición - La Solución Oftálmica de Sulfato de Gentamicina es una solución estéril de *Sulfato de Gentamicina*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 135,0 por ciento de la cantidad declarada de Gentamicina y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Sulfato de Gentamicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol e hidróxido de amonio (20:13:10).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Sulfato de Gentamicina SR-FA en agua para obtener una solución con la misma concentración que la *Solución muestra*.

Solución muestra - Diluir una porción de la Solución Oftálmica de Sulfato de Gentamicina en agua para obtener una solución de aproximadamente 1.000 µg de gentamicina por ml. [NOTA: si la solución oftálmica contiene una cantidad menor de 1.000 µg de gentamicina por ml, aplicar un volumen equivalente a 20 µg de gentamicina sobre la placa en porciones separadas de no más de 20 µl, dejando secar antes de la siguiente aplicación]

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa un volumen equivalente a 20 µg de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Exponer la placa a vapores de yodo: la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder en valor de R_f e intensidad con la obtenida en la *Solución estándar*.

Determinación del pH <250>

Entre 6,5 y 7,5.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos según se indica en *Método de filtración por membrana*.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Proceder según se indica para Gentamicina en 770. *Valoración microbiológica de antibióticos*. Diluir un volumen exactamente medido de la Solución Oftálmica de Sulfato de Gentamicina, cuantitativamente y en etapas, con *Solución reguladora N° 3* para obtener las soluciones de ensayo (aproximadamente de 0,1 µg de gentamicina por ml).

GLIBENCLAMIDA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Glibenclamida deben contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Glibenclamida SR-FA. Impureza A de Glibenclamida SR-FA: 4-[2-(5-Cloro-2-metoxibenzamido)etil] bencenosulfonamida. Impureza B de Glibenclamida SR-FA: N-4-[2-(5-cloro-2-metoxibenzamido)etil] bencenosulfonilcarbamato de metilo.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Sustancias relacionadas*. El valor de R_f de la mancha principal obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar C*.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Ciclohexano, cloroformo, ácido acético glacial y alcohol (45:45:5:5).

Diluyente - Cloroformo y metanol (50:50).

Solución estándar A - Preparar una solución de Impureza A de Glibenclamida SR-FA en *Diluyente* de aproximadamente 0,12 mg por ml.

Solución estándar B - Preparar una solución de Impureza B de Glibenclamida SR-FA en *Diluyente* de aproximadamente 0,20 mg por ml.

Solución estándar C - Preparar una solución de Glibenclamida SR-FA en *Diluyente* de aproximadamente 5,0 mg por ml.

Solución muestra - Pesar una cantidad equivalente a 20 mg de glibenclamida a partir del polvo fino obtenido en *Preparación muestra* en *Valoración* y transferir a una ampolla de decantación. Realizar cuatro extracciones, de 5 ml cada una, con una mezcla de diclorometano y acetona (20:10) y filtrar. Evaporar hasta sequedad a una temperatura

no mayor de 40 °C y a 15 mm Hg. Disolver el residuo en 4 ml de *Diluyente*.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de las *Soluciones estándar A, B y C*. Desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, secar al aire y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm: las manchas correspondientes a impureza A de glibenclamida e impureza B de glibenclamida en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no deben ser más intensas que las obtenidas con las *Soluciones estándar A (2,4 %)* y *B (4,0 %)*, respectivamente.

Ensayo de disgregación <310>

No más de 15 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Solución muestra - Pesar y reducir a polvo fino un Comprimido de Glibenclamida. Pesar una cantidad equivalente a 5 mg o menos de glibenclamida, transferir a un recipiente apropiado. Agregar una mezcla de 2 ml de agua y 20 ml de metanol. Sonicar hasta dispersar completamente y filtrar a través de una membrana filtrante de 0,2 μ m de espesor.

Solución estándar - Transferir una solución de Glibenclamida SR-FA en metanol de aproximadamente 0,25 mg por ml, a un recipiente apropiado y diluir a 20 ml con el mismo solvente. Agregar 2 ml de agua y sonicar hasta dispersar completamente. Filtrar a través de una membrana filtrante de 0,2 μ m de espesor.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración*. Calcular el contenido de $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$ en cada Comprimido de Glibenclamida en ensayo.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 300 nm y una columna de 10 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Solución de fosfato monobásico de potasio de aproximadamente 13,6 mg por ml, ajustada a pH 3,0 con ácido fosfórico y acetoni-

lo (53:47). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Glibenclamida SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en 10 ml de metanol, sonicar durante aproximadamente 20 minutos y completar a volumen con el mismo solvente. Diluir 1 volumen de esta solución a 4 volúmenes con metanol. A 20 ml de esta solución, agregar 2 ml de agua y mezclar.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino veinte Comprimidos de Glibenclamida. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 5 mg de glibenclamida, transferir a un matraz que contenga 2 ml de agua y 20 ml de metanol. Mezclar hasta dispersar completamente y filtrar a través de una membrana filtrante de 0,2 µm de espesor.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el contenido de $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$ en los Comprimidos de Glibenclamida, de acuerdo a la cantidad declarada.

GLUCOSA

SOLUCIÓN INYECTABLE

Sinonimia - Solución Inyectable de Dextrosa.

Definición - La Solución Inyectable de Glucosa es una solución estéril de *Glucosa* en *Agua para Inyectables* en envases monodosis no mayores a 1 litro, esterilizada en su envase final. No debe contener conservantes ni otras sustancias agregadas. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de glucosa anhidra o glucosa monohidrato según corresponda y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases de plástico o de vidrio tipo I o II.

ENSAYOS

Identificación

Debe responder a los *Ensayos de Identificación* en *Glucosa*.

Determinación del pH <250>

Entre 3,2 y 6,5; determinado sobre una alícuota a la cual se han agregado 0,30 ml de solución saturada de cloruro de potasio cada 100 ml y que previamente se ha diluido con agua, si fuera necesario, a una concentración de no más de 5 % de glucosa.

Límite de metales pesados <590>

Método I. Transferir un volumen de Solución Inyectable de Glucosa, equivalente a 4,0 g de glucosa a un recipiente apropiado, y ajustar el volumen a 25 ml por evaporación o agregado de agua, según sea necesario. No debe contener más de 0,0005C %, donde C es la cantidad declarada en g de glucosa por ml de solución.

5-Hidroximetilfurfural y sustancias relacionadas

Transferir un volumen exactamente medido de Solución Inyectable de Glucosa, equivalente a 1,0 g de glucosa, a un matraz aforado de 250,0 ml y completar a volumen con agua. Determinar la absorbancia de esta solución (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) en una celda de 1 cm, a 284 nm, empleando agua como blanco. La absorbancia de esta solución no debe ser mayor de 0,25.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando la concentración de glucosa es menor de 5 % no debe contener más de 0,5 Unidades de Endotoxina por ml. Para soluciones comprendidas entre el 5 y el 70 % de glucosa, no debe contener

más de 10,0 Unidades de Endotoxina por g de glucosa.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

PARA GLUCOSA ANHIDRA

Transferir un volumen exactamente medido de Solución Inyectable de Glucosa, que contenga entre 2 y 5 g de glucosa anhidra, a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 0,2 ml de hidróxido de amonio 6 N, completar a volumen con agua y mezclar. Determinar la rotación angular (ver 170. *Determinación de la rotación óptica*), a 25 °C. Calcular el peso en g de glucosa anhidra en la porción de Solución Inyectable de Glucosa en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$0,9477Aa$$

en la cual A es el cociente entre 200 y la longitud en mm del tubo polarimétrico empleado y a es la rotación observada en grados.

PARA GLUCOSA MONOHIDRATO

Proceder del mismo modo transfiriendo un volumen exactamente medido de Solución Inyectable de Glucosa, que contenga entre 2 y 5 g de glucosa monohidrato. Calcular el peso en g de glucosa monohidrato en la porción de Solución Inyectable de Glucosa en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$1,0425Aa$$

en la cual los términos son los definidos anteriormente.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si la Solución Inyectable de Glucosa contiene glucosa anhidra o monohidrato. Indicar en el rótulo la concentración osmolar ideal expresada en miliosmoles por litro (mosm/l). Cuando el volumen es menor a 100 ml o cuando en el rótulo se indique que la solución no se debe administrar sin diluir, la concentración osmolar ideal puede expresarse en miliosmoles por ml (mosm/ml).

GLUCOSA Y CLORURO DE SODIO

SOLUCIÓN INYECTABLE

Sinonimia - Solución Inyectable de Dextrosa y Cloruro de Sodio.

Definición - La Solución Inyectable de Glucosa y Cloruro de Sodio es una solución estéril de *Glucosa* y *Cloruro de Sodio* en *Agua para Inyectables* en envases monodosis no mayores a 1 litro, esterilizada en su envase final. No debe contener conservantes ni otras sustancias agregadas. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de glucosa anhidra o glucosa monohidrato, según corresponda, y cloruro de sodio. Debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases de plástico o de vidrio tipo I o II.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe responder a los ensayos de *Identificación* en *Glucosa*.

B - Debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

C - Debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 3,2 y 6,5; determinado sobre una alícuota de la Solución Inyectable de Glucosa y Cloruro de Sodio que previamente se ha diluido con agua, si fuera necesario, para obtener una solución de no más de 5 % de glucosa.

Límite de metales pesados <590>

Método I. Transferir un volumen de Solución Inyectable de Glucosa y Cloruro de Sodio, equivalente a 4,0 g de glucosa a un recipiente apropiado, y ajustar el volumen a 25 ml por evaporación o agregado de agua, según sea necesario. No debe contener más de 0,0005C %, donde C es la cantidad declarada en el rótulo en g de glucosa por ml de solución.

5-Hidroximetilfurfural y sustancias relacionadas

Transferir un volumen exactamente medido de Solución Inyectable de Glucosa y Cloruro de Sodio, equivalente a 1,0 g de glucosa, a un matraz aforado de 250,0 ml y completar a volumen con agua. Determinar la absorbancia de esta solución (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) en una celda de 1 cm, a 284 nm, empleando agua como

blanco. La absorbancia de esta solución no debe ser mayor de 0,25.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando la concentración de glucosa es menor de 5 % no debe contener más de 0,5 Unidades de Endotoxina por ml. Para soluciones comprendidas entre el 5 y el 70 % de glucosa, no debe contener más de 10,0 Unidades de Endotoxina por g de glucosa.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

PARA GLUCOSA ANHIDRA

Transferir un volumen exactamente medido de Solución Inyectable de Glucosa y Cloruro de Sodio, que contenga entre 2 y 5 g de glucosa anhidra, a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 0,2 ml de hidróxido de amonio 6 N, completar a volumen con agua y mezclar. Determinar la rotación angular (ver 170. *Determinación de la rotación óptica*), a 25 °C. Calcular el peso en g de glucosa anhidra en la porción de Solución Inyectable de Glucosa y Cloruro de Sodio en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$0,9477Aa$$

en la cual A es el cociente entre 200 y la longitud en mm del tubo polarimétrico empleado y a es la rotación observada en grados.

PARA GLUCOSA MONOHIDRATO

Proceder del mismo modo transfiriendo un volumen exactamente medido de Solución Inyectable de Glucosa y Cloruro de Sodio, que contenga entre 2 y 5 g de glucosa monohidrato. Calcular el peso en g de glucosa monohidrato en la porción de Solución Inyectable de Glucosa y Cloruro de Sodio en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$1,0425Aa$$

en la cual los términos son los definidos anteriormente.

PARA CLORURO DE SODIO

Transferir un volumen exactamente medido de Solución Inyectable de Glucosa y Cloruro de Sodio, equivalente aproximadamente a 50 mg de Cloruro de Sodio a un erlenmeyer. Agregar agua, si fuera necesario, hasta aproximadamente 50 ml. Titular con nitrato de plata 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de nitrato de plata 0,1 N equivale a 5,844 mg de NaCl.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si la Solución Inyectable de Glucosa y Cloruro de Sodio contiene glucosa anhidra o monohidrato. Indicar en el rótulo la concentración osmolar ideal expresada en miliosmoles por litro (mosm/l). Cuando el volumen es menor a 100 ml o cuando en el rótulo se indique que la solución no se debe administrar sin diluir, la concentración osmolar ideal puede expresarse en miliosmoles por ml (mosm/ml).

GRISEOFULVINA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Griseofulvina deben contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{17}H_{17}ClO_6$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Griseofulvina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Pesar una cantidad equivalente a 125 mg de griseofulvina a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación madre de la muestra* en *Valoración*, extraer con 20 ml de cloroformo, agregar 1 g de sulfato de sodio anhidro, mezclar y filtrar. Evaporar el filtrado y secar el residuo durante aproximadamente 1 hora a una presión que no exceda los 5 mm Hg; el espectro de absorción infrarroja de este residuo se debe corresponder con el obtenido con una solución preparada del mismo modo empleando Griseofulvina SR-FA.

B - Pesar una cantidad equivalente a 80 mg de griseofulvina a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación madre de la muestra* en *Valoración*, mezclar con 150 ml de alcohol durante 20 minutos. Diluir a 200 ml con el mismo solvente y filtrar. Diluir 2 ml del filtrado con 100 ml de alcohol. Examinar la solución obtenida entre 240 y 400 nm (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*): la solución debe presentar dos máximos de absorción a 291 y 325 nm y un hombro a 250 nm.

C - Pesar 5 mg a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación madre de la muestra* en *Valoración*, disolver con 1 ml de ácido sulfúrico y agregar 5 mg de dicromato de potasio pulverizado: se debe producir un color rojo.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 75 rpm.

Medio: solución de lauril sulfato de sodio al 4%; 1.000 ml.

Tiempo: 90 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas en una mezcla de metanol y agua (4:1), si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{17}H_{17}ClO_6$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción,

291 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Griseofulvina SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 75 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{17}H_{17}ClO_6$ se debe disolver en 90 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido.

Solución muestra - Transferir un Comprimido de Griseofulvina a un recipiente apropiado, agregar metanol para obtener una solución de aproximadamente 1 mg de griseofulvina por ml, agitar durante 1 hora, o más si fuera necesario, para dispersar la muestra completamente y sonicar durante 1 minuto. Centrifugar una porción de esta solución y diluir cuantitativamente un volumen exactamente medido del líquido sobrenadante transparente para obtener una solución de aproximadamente 10 µg de griseofulvina por ml.

Solución estándar - Preparar una solución de Griseofulvina SR-FA en metanol de aproximadamente 10 µg por ml.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, 292 nm, con un espectrofotómetro, empleando metanol como blanco. Calcular la cantidad de $C_{17}H_{17}ClO_6$ en cada Comprimido de Griseofulvina, en base a la cantidad declarada.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

Pérdida por secado <680>

Pesar exactamente alrededor de 100 mg a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación madre de la muestra* en *Valoración*. Secar en un pesafiltro con tapa provisto de un capilar a una presión que no exceda los 5 mm Hg a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 5,0 % de su peso.

VALORACIÓN

Preparación madre de la muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Griseofulvina. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 35 mg de griseofulvina y transferir a un recipiente apropiado. Agregar 60 ml de acetato de etilo, mezclar y calentar a 60 °C con agitación durante 20 minutos. Dejar enfriar, diluir a 100 ml con acetato de etilo y centrifugar.

Preparación muestra A - Transferir 5 ml del líquido sobrenadante transparente de la *Preparación madre de la muestra*, a un matraz aforado de

100 ml. Agregar 5 ml de ácido metanosulfónico metanólico 2 M, dejar en reposo a 20 °C durante aproximadamente 30 minutos y completar a volumen con metanol.

Preparación muestra B - Transferir 5 ml del líquido sobrenadante transparente de la *Preparación madre de la muestra*, a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con metanol.

Preparación madre del estándar - Proceder según se indica para *Preparación madre de la muestra* empleando 35 mg de Griseofulvina SR-FA.

Preparación estándar A y Preparación estándar B - Proceder según se indica en *Preparación muestra A y Preparación muestra B*, empleando la *Preparación madre del estándar* en lugar de *Preparación madre de la muestra*, respectivamente.

Blanco - Transferir 5 ml de ácido metanosulfónico metanólico 2 M a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con metanol.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de las *Preparaciones muestra A y B* y las *Preparaciones estándar A y B* (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*), en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, 266 nm, con un espectrofotómetro. Calcular la cantidad de $C_{17}H_{17}ClO_6$ en los Comprimidos de Griseofulvina, a partir de la relación entre la diferencia de la absorbancia obtenida con la *Preparación muestra A* y la suma de las absorbancias obtenidas con la *Preparación muestra B* y el *Blanco* ($A_{MA} - [A_{MB} + A_B]$) y la diferencia entre la absorbancia de la *Preparación estándar A* y la suma de las absorbancias obtenidas con la *Preparación estándar B* y el *Blanco* ($A_{EA} - [A_{EB} + A_B]$).

HALOPERIDOL

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Haloperidol deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{21}H_{23}ClFNO_2$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Haloperidol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: fluido gástrico simulado (SR) (sin enzima); 900 ml.

Tiempo: 60 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y determinar la cantidad de $C_{21}H_{23}ClFNO_2$ disuelta empleando la siguiente técnica cromatográfica.

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{21}H_{23}ClFNO_2$ disuelta comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Haloperidol SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{21}H_{23}ClFNO_2$ se debe disolver en 60 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Haloperidol SR-FA, metanol hasta obtener una solución de aproximadamente 20 μ g por ml.

Solución muestra - Reducir a polvo fino un Comprimido de Haloperidol, transferir a un recipiente apropiado, agregar metanol para obtener una

solución de aproximadamente 20 μ g por ml. Mezclar durante 15 minutos y completar a volumen con metanol. Filtrar y descartar los primeros 20 ml del filtrado.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y la *Solución estándar* en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorción, 245 nm, con un espectrofotómetro, empleando metanol como blanco. Calcular la cantidad de $C_{21}H_{23}ClFNO_2$ en cada Comprimido de Haloperidol, en base a la cantidad declarada.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm \times 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol y solución reguladora de fosfato monobásico de potasio 0,05 M (60:40). Ajustar a pH 4,0 con hidróxido de sodio 1 N o ácido clorhídrico. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Haloperidol SR-FA en *Fase móvil* y diluir con el mismo solvente hasta obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Haloperidol. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 10 mg de haloperidol, transferir a un matraz aforado de 100 ml y agregar 60 ml de *Fase móvil*. Sonicar durante 10 minutos, agitar durante 60 minutos y completar a volumen con el mismo solvente. Filtrar y descartar los primeros 20 ml del filtrado.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 15 μ l) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{21}H_{23}ClFNO_2$ en los Comprimidos de Haloperidol, de acuerdo a la cantidad declarada.

HALOPERIDOL

SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Haloperidol es una solución estéril de *Haloperidol* en *Agua para Inyectables*, preparada con *Ácido Láctico*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{21}H_{23}ClFNO_2$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Haloperidol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos monodosis o multidosis, de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

Absorción ultravioleta <470>

La *Preparación muestra* preparada en *Valoración* debe presentar un máximo de absorción a 245 ± 2 nm.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 3,0 y 3,8.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 71,4 Unidades de Endotoxina por mg de haloperidol.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Diluyente - Ácido clorhídrico diluido (1 en 20)

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Haloperidol, equivalente a 10 mg de haloperidol, a una ampolla de decantación y agregar 20 ml de *Diluyente*. Extraer la solución con cuatro porciones de 25 ml de éter y lavar los extractos combinados con cuatro porciones de 5 ml de *Diluyente*. Descartar el éter y agregar los lavados ácidos a la fase acuosa. Filtrar la fase acuosa a través de una torunda de algodón recolectando el filtrado en un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

Preparación estándar - Preparar una solución de Haloperidol SR-FA de aproximadamente 20 μ g

por ml, procediendo del mismo modo que en *Preparación muestra*.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, 245 nm, con un espectrofotómetro, empleando una solución 10 % de *Diluyente* en metanol como blanco. Calcular la cantidad de $C_{21}H_{23}ClFNO_2$ en la Solución Inyectable de Haloperidol, de acuerdo a la cantidad declarada.

HALOPERIDOL

SOLUCIÓN ORAL

Definición - La Solución Oral de Haloperidol es una solución de Haloperidol en *Agua purificada*, preparada con la ayuda de *Ácido Láctico*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{21}H_{23}ClFNO_2$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Haloperidol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Absorción ultravioleta <470>

La *Preparación muestra* preparada en *Valoración* debe presentar un máximo de absorción a 245 ± 2 nm.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 2,75 y 3,75.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Diluyente - Ácido clorhídrico diluido 1 en 20.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de Solución Oral de Haloperidol, equivalente a 10 mg de haloperidol, a una ampolla de decantación y agregar 20 ml de *Diluyente*. Extraer la solución con cuatro porciones de 20 ml de éter y lavar los extractos combinados con cuatro porciones de 5 ml de *Diluyente*. Descartar el éter y agregar los lavados ácidos a la fase acuosa. Filtrar, transferir a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Haloperidol SR-FA y transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver en *Diluyente* y completar a volumen con el mismo solvente. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, 245 nm, con un espectrofotómetro, empleando una solución de 10 % de *Diluyente* en metanol como blanco. Calcular la cantidad de $C_{21}H_{23}ClFNO_2$ en la Solución Oral de Haloperidol, de acuerdo a la cantidad declarada.

HIDROCLOROTIAZIDA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Hidroclorotiazida deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_7H_8ClN_3O_4S_2$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Hidroclorotiazida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Pesar una cantidad equivalente a 50 mg de hidroclorotiazida a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*, transferir a un matraz aforado de 50 ml, agregar aproximadamente 20 ml de solución de hidróxido de sodio 1 en 125, agitar durante 15 minutos y completar a volumen con el mismo solvente. Mezclar y filtrar, descartando los primeros ml del filtrado. Transferir 5 ml del filtrado a una ampolla de decantación de 125 ml y agregar 5 ml de ácido clorhídrico diluido 1 en 10. Realizar una extracción con 50 ml de éter, filtrar el extracto etéreo y evaporar hasta sequedad. Agregar 5 ml de alcohol y nuevamente evaporar hasta sequedad: el espectro de absorción infrarroja de una dispersión en bromuro de potasio del residuo obtenido debe presentar máximos sólo a las mismas longitudes de onda que el de una solución similar de Hidroclorotiazida SR-FA disuelta previamente en alcohol y recuperada evaporando la solución hasta sequedad.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,1 N; 900 ml.

Tiempo: 60 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar, diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario y determinar la cantidad de $C_7H_8ClN_3O_4S_2$ disuelta a partir de la absorbancia en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 272 nm, comparando con una *Solución estándar* con una concentración conocida de Hidroclorotiazida SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos del 60 % (Q) de la cantidad declarada de $C_7H_8ClN_3O_4S_2$ se debe disolver en 60 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Proceder según se indica en *Preparación muestra* en *Valoración*.

Solución estándar - [NOTA: se puede emplear un volumen de acetonitrilo que no exceda el 10 % del volumen total de la solución para disolver la *Sustancia de referencia*]. Disolver una cantidad exactamente pesada de 4-Amino-6-cloro-1,3-benzenodisulfonamida en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 1,5 µg por ml.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar* y medir las repuestas de los picos principales. Calcular el porcentaje de 4-Amino-6-cloro-1,3-benzenodisulfonamida en los Comprimidos de Hidroclorotiazida. No debe contener más de 1,0 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm x 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Fosfato monobásico de sodio 0,1 M y acetonitrilo (9:1), ajustar a pH $3,0 \pm 0,1$ con ácido fosfórico. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

[NOTA: se puede emplear un volumen de acetonitrilo que no exceda el 10 % del volumen total de la solución para disolver la *Sustancia de referencia*].

Solución de aptitud del sistema - Disolver una cantidad exactamente pesada de *Clorotiazida* y de Hidroclorotiazida SR-FA en *Fase móvil* para

obtener una solución de aproximadamente 0,15 mg por ml.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Hidroclorotiazida SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,15 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Hidroclorotiazida. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 30 mg de hidroclorotiazida y transferir a un matraz aforado de 200 ml. Agregar 20 ml de *Fase móvil*, sonicar durante 5 minutos y agregar 20 ml de acetonitrilo. Sonicar durante 5 minutos, agregar 50 ml de *Fase móvil* y agitar durante 10 minutos. Completar a volumen con *Fase móvil*, mezclar y filtrar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,8 para clorotiazida y 1,0 para hidroclorotiazida; la resolución *R* entre los picos de clorotiazida e hidroclorotiazida no debe ser menor de 2,0. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,5 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* y medir las repuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_7H_8ClN_3O_4S_2$ los Comprimidos de Hidroclorotiazida, de acuerdo a la cantidad declarada.

HIDROCORTISONA

CREMA DÉRMICA

Definición - La Crema Dérmica de Hidrocortisona debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{21}H_{30}O_5$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Hidrocortisona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. Cromatografía) recubierta con gel de sílice con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol y agua (180:15:1).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Hidrocortisona SR-FA en alcohol para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml.

Solución muestra - Transferir una cantidad de la Crema Dérmica de Hidrocortisona, equivalente a 5 mg de hidrocortisona a un erlenmeyer, agregar 5 ml de alcohol y calentar en baño de vapor durante 5 minutos con agitación. Dejar en reposo hasta que alcance temperatura ambiente y filtrar.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución estándar* y 10 μ l de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Examinar los cromatogramas bajo luz ultravioleta, a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración tópica.

Determinación del contenido neto del envase <220>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm \times 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro.

Fase móvil - Agua y acetonitrilo (75:25). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Hidrocortisona SR-FA en metanol para obtener una solución de aproximadamente 500 μ g por ml. Diluir cuantitativamente 1 volumen de esta solución con 9 volúmenes de metanol diluido (1 en 2) para obtener una solución de aproximadamente 50 μ g por ml. [NOTA: si se emplea metanol en la última dilución de la *Preparación muestra*, emplear de forma similar metanol en lugar de metanol diluido en la última dilución de la *Preparación estándar*].

Preparación muestra - Transferir una cantidad exactamente pesada de la Crema Dérmica de Hidrocortisona, equivalente a 10 mg de hidrocortisona, a un recipiente para agitación de 150 ml, agregar 40 ml de metanol y calentar en baño de vapor con agitación hasta la fusión y dispersión de la crema. Dejar en reposo hasta alcanzar la temperatura ambiente y filtrar a través de lana de vidrio a un matraz aforado de 100 ml. Repetir la extracción con dos porciones más de 20 ml de metanol, combinar los extractos en el matraz, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Diluir cuantitativamente un volumen de esta solución y con un volumen de agua y filtrar a través de una membrana filtrante de 5 μ m de espesor. Si se produce precipitación al diluir con agua y la solución se encuentra turbia luego del filtrado, realizar la última dilución con metanol en lugar de agua y filtrar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el tiempo de retención para el pico de hidrocortisona debe ser aproximadamente 10 minutos; la desviación estándar relativa para cinco inyecciones repetidas no debe ser mayor de 3,0 %

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (entre 10 y 25 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las

respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{21}H_{30}O_5$ en la de Crema Dérmica de Hidrocortisona, de acuerdo la cantidad declarada.

HIDROCORTISONA

GEL TÓPICO

Definición - El Gel Tópico de Hidrocortisona debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{21}H_{30}O_5$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia -
Hidrocortisona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Debe responder a los ensayos de *Identificación A y B* en *Crema Dérmica de Hidrocortisona*.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración tópica.

Determinación del contenido neto del envase <220>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración* en *Crema Dérmica de Hidrocortisona*.

Fase móvil - Agua, metanol y acetonitrilo (6:2:2). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en *100. Cromatografía*).

Diluyente - Alcohol y diclorometano (75:25).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Hidrocortisona SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml. Diluir cuantitativamente esta solución con alcohol para obtener una solución de aproximadamente 10 µg por ml.

Preparación muestra - Transferir una cantidad exactamente pesada del Gel Tópico de Hidrocortisona, equivalente a 10 mg de hidrocortisona, a un recipiente apropiado y diluir con *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml. Diluir cuantitativamente esta solución con alcohol para obtener una solución de aproximadamente 10 µg por ml.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (entre 5 y 15 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación*

muestra, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales a tiempos de retención equivalentes. Calcular la cantidad de $C_{21}H_{30}O_5$ en el Gel Tópico de Hidrocortisona, de acuerdo a la cantidad declarada.

HIDROCORTISONA

UNGÜENTO TÓPICO

Definición - El Ungüento Tópico de Hidrocortisona debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{21}H_{30}O_5$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Hidrocortisona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol y agua (180:15:1).

Solución estándar - Preparar una solución de Hidrocortisona SR-FA en metanol de la misma concentración que la *Solución muestra*.

Solución muestra - Transferir una cantidad del Ungüento Tópico de Hidrocortisona, equivalente a 5 mg de hidrocortisona, a un erlenmeyer, agregar 10 ml de metanol y calentar en baño de vapor durante 5 minutos con agitación. Enfriar hasta que solidifique el ungüento base y filtrar.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Examinar los cromatogramas bajo luz ultravioleta, a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración tópica.

Determinación del contenido neto del envase <220>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Crema Dérmica de Hidrocortisona*.

Preparación muestra - Transferir una cantidad exactamente pesada del Ungüento Tópico de Hidrocortisona, equivalente a 10 mg de hidrocortisona, a un recipiente para agitación de 150 ml, agregar 40 ml de metanol y calentar en baño de vapor con agitación hasta la fusión y dispersión del ungüento. Dejar en reposo hasta que alcance la temperatura ambiente y filtrar a través de lana de vidrio a un matraz aforado de 100 ml. Repetir la extracción con dos porciones más de 20 ml de alcohol, combinar los extractos en el matraz, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Diluir cuantitativamente un volumen de esta solución y con un volumen de agua y filtrar. Si se produce precipitación al diluir con agua y la solución se encuentra turbia luego del filtrado, realizar la última dilución con alcohol en lugar de agua y filtrar.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración en Crema Dérmica de Hidrocortisona*. Calcular la cantidad de $C_{21}H_{30}O_5$ en el Ungüento Tópico de Hidrocortisona, de acuerdo a la cantidad declarada.

HIDROCORTISONA, ACETATO DE CREMA DÉRMICA

Definición - La Crema Dérmica de Acetato de Hidrocortisona debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{23}H_{32}O_6$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Acetato de Hidrocortisona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor. Calentar la placa durante 10 minutos a 105 °C y enfriar.

Fase móvil - Acetato de etilo, tolueno y acetona (140:40:13).

Solución estándar - Disolver una porción de Acetato de Hidrocortisona SR-FA en metanol para obtener una solución de aproximadamente 250 µg por ml.

Solución muestra - Transferir aproximadamente 1 g de la Crema Dérmica de Acetato de Hidrocortisona a un recipiente apropiado, agregar 40 ml de una solución de acetonitrilo en metanol al 35 % y agitar hasta disolución. Transferir 20,0 ml de esta solución a otro recipiente, agregar 10,0 ml de isooctano y mezclar. Permitir que las fases se separen, descartar la fase superior y emplear la fase inferior.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de la *Solución muestra* y 10 µl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas, en una cámara cromatográfica equilibrada en una atmósfera de vapores de amoníaco, hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Solución estándar*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Preparación estándar*.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración tópica.

Determinación del contenido neto del envase <220>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Acetato de Hidrocortisona*.

Preparación muestra - Transferir una cantidad exactamente pesada de la Crema Dérmica de Acetato de Hidrocortisona, equivalente a 25 mg de acetato de hidrocortisona, a un recipiente apropiado, agregar 100 ml de tetrahidrofurano y agitar hasta la disolución de la crema. Transferir 10,0 ml de esta solución a otro recipiente, agregar 15,0 ml de *Fase móvil* y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{23}H_{32}O_6$ en la Crema Dérmica de Acetato de Hidrocortisona, de acuerdo a la cantidad declarada.

HIDROCORTISONA, ACETATO DE SUSPENSIÓN OFTÁLMICA

Definición - La Suspensión Oftálmica de Acetato de Hidrocortisona es una suspensión estéril de *Acetato de Hidrocortisona* en medio acuoso, conteniendo un agente antimicrobiano apropiado. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de esteroides totales, calculada como $C_{23}H_{32}O_6$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Acetato de Hidrocortisona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol y agua (180:15:1).

Solución estándar - Preparar una solución de Acetato de Hidrocortisona SR-FA en *Fase móvil* de una concentración similar a la *Solución muestra*.

Solución muestra - Evaporar hasta sequedad 50 ml de la *Preparación muestra* obtenida en *Valoración* y disolver el residuo en 1 ml de cloroformo.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Determinación del pH <250>

Entre 6,0 y 8,0.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Preparación estándar - Proceder según se indica en *Solución estándar* en 750. *Valoración de*

esteroides, empleando Acetato de Hidrocortisona SR-FA.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Suspensión Oftálmica de Acetato de Hidrocortisona, equivalente a 50 mg de acetato de hidrocortisona, a una ampolla de decantación y diluir a 15 ml con agua. Extraer con cuatro porciones de 25 ml de cloroformo, filtrar, transferir a un matraz aforado de 250 ml, completar a volumen con cloroformo y mezclar. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con cloroformo y mezclar. Transferir 10 ml de esta solución a un erlenmeyer de 50 ml con tapón, evaporar hasta sequedad, dejar enfriar y disolver el residuo en 20,0 ml de alcohol.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* en 750. *Valoración de esteroides*. Calcular la cantidad de $C_{23}H_{32}O_6$ en la Suspensión Oftálmica de Acetato de Hidrocortisona, de acuerdo a la cantidad declarada.

ROTULADO

En el rótulo debe figurar la siguiente leyenda: "Descartar una vez finalizado el tratamiento".

HIDROCORTISONA, ACETATO DE UNGÜENTO OFTÁLMICO

Definición - El Ungüento Oftálmico de Acetato de Hidrocortisona debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de esteroides totales, calculada como $C_{23}H_{32}O_6$. Debe ser estéril y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Acetato de Hidrocortisona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol y agua (180:15:1).

Solución muestra - Transferir una cantidad del Ungüento Oftálmico de Acetato de Hidrocortisona, equivalente 5 mg de acetato de hidrocortisona, a un erlenmeyer, agregar 5 ml de metanol y calentar en baño de vapor durante 5 minutos con agitación. Dejar enfriar hasta que se solidifique el ungüento base y filtrar.

Solución estándar - Preparar una solución de Acetato de Hidrocortisona SR-FA en las mismas condiciones que la *Solución muestra*.

Revelador - Preparar una solución metanólica de ácido sulfúrico al 70 %.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*, calentar a 90 °C durante 20 o 30 minutos, dejar enfriar y examinar los cromatogramas bajo luz ultravioleta, a 366 nm: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico

principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación del contenido neto del envase
<220>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas metálicas en ungüentos oftálmicos
<660>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Acetato de Hidrocortisona*.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Acetato de Hidrocortisona SR-FA con cloroformo saturado con agua para obtener una solución de aproximadamente 0,10 mg por ml.

Preparación muestra - Transferir una cantidad exactamente pesada del Ungüento Oftálmico de Acetato de Hidrocortisona, equivalente a 2,5 mg de acetato de hidrocortisona, a un recipiente con tapa, agregar 25 ml de cloroformo saturado con agua y diez perlas de vidrio. Tapar el recipiente y agitar vigorosamente durante aproximadamente 15 minutos. Centrifugar y emplear la fase clorofórmica.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo volúmenes iguales de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{23}H_{32}O_6$ en el Ungüento Oftálmico de Acetato de Hidrocortisona, de acuerdo a la cantidad declarada.

HIDROCORTISONA, ACETATO DE UNGÜENTO TÓPICO

Definición - El Ungüento Tópico de Acetato de Hidrocortisona debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{23}H_{32}O_6$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Acetato de Hidrocortisona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Debe responder a los ensayos de *Identificación A y B* en *Ungüento Oftálmico de Acetato de Hidrocortisona*.

Determinación del contenido neto del envase
<220>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración tópica.

VALORACIÓN

Proceder según se indica en *Valoración en Ungüento Oftálmico de Acetato de Hidrocortisona*.

HIDROCORTISONA, VALERATO DE CREMA DÉRMICA

Definición - La Crema Dérmica de Valerato de Hidrocortisona debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{26}H_{38}O_6$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Valerato de Hidrocortisona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol y agua (180:15:1).

Solución estándar - Emplear la *Preparación estándar* obtenida en *Valoración*.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* obtenida en *Valoración*.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución estándar* y 10 μ l de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Examinar la placa bajo luz ultravioleta, a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración tópica.

Determinación del contenido neto del envase <220>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución del estándar interno, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Valerato de Hidrocortisona*.

Preparación muestra - Transferir una cantidad exactamente pesada de la Crema Dérmica de Valerato de Hidrocortisona, equivalente a 1 mg de valerato de hidrocortisona, a un tubo con tapón, agregar 8,0 ml de una mezcla de metanol y agua (3:1) y agitar hasta dispersar la crema. Calentar hasta que funda, agitar nuevamente y dejar en reposo hasta que alcance la temperatura ambiente. Agregar 2,0 ml de la *Solución del estándar interno* y mezclar. Centrifugar durante 5 minutos y filtrar si fuera necesario para obtener un sobrenadante transparente.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{26}H_{38}O_6$ en la Crema Dérmica de Valerato de Hidrocortisona, de acuerdo a la cantidad declarada.

HIDROCORTISONA, VALERATO DE UNGÜENTO TÓPICO

Definición - El Ungüento Tópico de Valerato de Hidrocortisona debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{26}H_{38}O_6$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Valerato de Hidrocortisona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Debe responder a los ensayos de *Identificación A y B* en *Crema Dérmica de Valerato de Hidrocortisona*.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración tópica.

Determinación del contenido neto del envase <220>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Proceder según se indica en *Valoración* en *Crema Dérmica de Valerato de Hidrocortisona*.

HIDROXIUREA

CÁPSULAS

Definición - Las Cápsulas de Hidroxiurea deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}_2$, y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Hidroxiurea SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto, en ambiente seco.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460> *En fase sólida.* Transferir una porción del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración* equivalente a 30 mg de hidroxiurea a un tubo de centrifuga y agregar 10 ml de metanol. Mezclar y centrifugar durante 3 minutos. Transferir 1,0 ml del sobrenadante a un mortero conteniendo 500 mg de bromuro de potasio, triturar para obtener una mezcla homogénea, secar al vacío a 60 °C durante 3 horas: el espectro de absorción infrarroja debe presentar solo máximos a las mismas longitudes de onda que una preparación similar de Hidroxiurea SR-FA.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: agua, 500 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y determinar la cantidad disuelta de $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}_2$ según se indica en *Valoración*.

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}_2$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Solución A, Solución B, Fase móvil, Solución de resolución, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Hidroxiurea*.

Preparación muestra - Extraer el contenido de no menos de 20 cápsulas de hidroxiurea, reducir a polvo fino y mezclar. Pesarse exactamente una cantidad de polvo equivalente a aproximadamente 200 mg de hidroxiurea y transferir a un matraz aforado de 500 ml. Agregar aproximadamente 300 ml de *Fase móvil*, sonicar durante 10 minutos, agitar mecánicamente durante 30 minutos, volver a sonicar durante 10 minutos y completar a volumen con el mismo solvente.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración en Hidroxiurea*. Calcular la cantidad de $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}_2$ en las Cápsulas de Hidroxiurea, en base a la cantidad declarada.

HIOSCINA, BUTILBROMURO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Butilbromuro de Hioscina deben contener no menos de 92,5 por ciento y no más de 107,5 por ciento de la cantidad declarada de $C_{21}H_{30}BrNO_4$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Butilbromuro de Hioscina SR-FA. Bromuro de Hioscina SR-FA

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Agitar una cantidad equivalente a 50 mg de butilbromuro de hioscina a partir del polvo fino obtenido en *Valoración* con 20 ml de cloroformo, filtrar y evaporar hasta sequedad. Suspender el residuo con 5 ml de acetonitrilo. Evaporar hasta sequedad y secar el residuo a 50 °C durante 1 hora a presión reducida. El espectro de absorción infrarrojo del residuo obtenido se debe corresponder con el de una preparación similar de Butilbromuro de Hioscina SR-FA.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Límite de Hioscina

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Diluyente, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Pesar exactamente una cantidad equivalente a 100 mg de Butilbromuro de Hioscina a partir del polvo fino obtenido en *Valoración*, transferir a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con *Diluyente*. Sonicar durante 15 minutos, centrifugar y filtrar.

Solución estándar - Emplear la *Preparación estándar B* obtenida en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta del pico correspondiente a hioscina no debe ser mayor que la del pico principal en el cro-

matograma obtenido a partir de la *Solución estándar* (0,1 %).

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Diluyente - Ácido clorhídrico 0,01 N.

Fase móvil - Diclorometano, alcohol absoluto, agua y ácido fórmico (9:9:1,5:0,5).

Revelador 1 - Mezclar volúmenes iguales de una solución de ioduro de potasio al 40 % y una solución preparada disolviendo 0,85 g de subnitrito de bismuto en una mezcla de 10 ml de ácido acético glacial y 40 ml de agua. Diluir 1 volumen de la mezcla anterior con 2 volúmenes de ácido acético glacial y 10 volúmenes de agua inmediatamente antes de su uso.

Revelador 2 - Solución de nitrito de sodio al 5 %.

Solución madre de la muestra - Pesar una cantidad equivalente a 20 mg de butilbromuro de hioscina a partir del polvo fino obtenido en *Valoración*. Transferir a un recipiente apropiado, agregar 5 ml de *Diluyente*, agitar y centrifugar.

Solución muestra A - Diluir 3,0 ml de la *Solución madre de la muestra* a 100 ml con *Diluyente*.

Solución muestra B - Diluir 1,0 ml de la *Solución madre de la muestra* a 50 ml con *Diluyente*.

Solución muestra C - Diluir 1,0 ml de la *Solución madre de la muestra* a 400 ml con *Diluyente*.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 2 μ l de la *Solución madre de la muestra* y 2 μ l de las *Soluciones muestra A, B y C*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Secar a 60 °C durante 15 minutos y pulverizar sobre la placa con *Revelador 1*. Retirar la placa de la cámara, dejar secar al aire, pulverizar sobre la placa con *Revelador 2* y examinar inmediatamente: el valor de R_f de la mancha principal obtenida a partir de la *Solución madre de la muestra* es aproximadamente 0,45. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución madre de la muestra*, cualquier mancha secundaria con un valor de R_f menor que el de la mancha principal no debe ser más intensa que la mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra A* (3 %) y no más de dos de estas manchas deben ser más intensas que la mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra C* (0,25 %). Cualquier mancha secundaria con un valor de R_f mayor que el de la mancha principal no debe ser

más intensa que la mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra B* (2 %) y no más de una de estas manchas debe ser más intensa que la mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra C* (0,25 %).

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 210 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agregar 2,0 g de laurilsulfato de sodio a una mezcla de 370 ml de ácido clorhídrico 0,001 N y 680 ml de metanol. Filtrar y desgaseificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Ácido clorhídrico 0,001 N

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Butilbromuro de Hioscina. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 40 mg de butilbromuro de hioscina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar aproximadamente 60 ml de *Diluyente*, sonicar y completar a volumen con el mismo solvente. Centrifugar y filtrar.

Preparación estándar A - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Butilbromuro de Hioscina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con *Diluyente*.

Preparación estándar B - Pesar exactamente alrededor de 1 mg de Bromuro de Hioscina SR-FA, transferir a una matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Diluyente*.

Solución de aptitud del sistema - Transferir 10 µl de la *Solución muestra* a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con *Preparación estándar B*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de hioscina y butilhioscina no debe ser menor de 5.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar A*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la

cantidad de $C_{21}H_{30}BrNO_4$, de acuerdo a la cantidad declarada.

HOMATROPINA, METILBROMURO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Metilbromuro de Homatropina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{17}H_{24}BrNO_3$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Metilbromuro de Homatropina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Pesar una cantidad equivalente a 10 mg de metilbromuro de homatropina a partir del polvo fino obtenido en *Valoración*. Transferir a un recipiente apropiado, agregar 15 ml de una mezcla de volúmenes iguales de metanol y agua, agitar durante 10 minutos y filtrar. Evaporar el filtrado en un baño de vapor hasta sequedad y secar a 105 °C durante 1 hora. El punto de fusión del residuo así obtenido debe estar comprendido entre 190 y 198 °C (ver 260. *Determinación del punto de fusión*).

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{17}H_{24}BrNO_3$ disuelta a partir de las absorbancias medidas en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 258 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Metilbromuro de Homatropina SR-FA.

Tolerancia - No menos de 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{24}H_{32}O_4$ se debe disolver en 60 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Metilbromuro de Homatropina SR-FA. Transferir a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un segundo matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con agua y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 100 µg por ml.

Solución muestra - Reducir a polvo fino un comprimido de Metilbromuro de Homatropina y transferir a un matraz aforado de una capacidad tal que al completar a volumen se obtenga una solución de aproximadamente 100 µg de metilbromuro de homatropina por ml. Agregar agua hasta completar aproximadamente la mitad del volumen del matraz y agitar durante 10 minutos. Completar a volumen con agua, mezclar y filtrar. Emplear el filtrado según se indica en *Procedimiento*.

Procedimiento - Transferir 2,0 ml de la *Solución muestra* y 2,0 ml de la *Solución estándar* a sendos erlenmeyers de 50 ml, agregar 0,1 ml de una solución de hidróxido de sodio (1 en 10) a cada uno y calentar en un baño de agua a 80 °C durante 15 minutos. Dejar enfriar a temperatura ambiente, agregar 2 ml de sulfato cérico amónico 0,2 M en ácido sulfúrico 1 N y mezclar. Agregar a sendos erlenmeyers 20,0 ml de hexano y agitar durante 15 minutos. Emplear las fases orgánicas para determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y la *Solución estándar* en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, 242 nm, empleando hexano como blanco. Calcular la cantidad en mg de $C_{17}H_{24}BrNO_3$ en cada Comprimido de Metilbromuro de Homatropina.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Metilbromuro de Homatropina SR-FA. Transferir a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Metilbromuro de Homatropina. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 12,5 mg de metilbromuro de homatropina, transferir a un recipiente apropiado, agregar 10 ml de agua y agitar durante 30 minutos. Filtrar a presión reducida. Transferir el contenido del tubo a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Transferir 10,0 ml de la *Solución muestra* y 10,0 ml de la *Solución estándar* a sendos tubos de ensayo, agregar 1 ml de ácido sulfúrico 5 N y 2 ml de reineckato de amonio a cada uno, agitar y dejar reposar durante una hora. Filtrar, empleando porciones del filtrado para transferir totalmente el precipitado al filtro y lavar con tres porciones de 2 ml de agua enfriada previamente. Disolver completamente el precipitado transfiriendo sobre el mismo porciones de 1 ml de acetona apli-

cando succión. Recolectar la solución en un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con acetona y mezclar. Determinar las absorbancias de las soluciones obtenidas en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, 525 nm, empleando acetona como blanco. Calcular la cantidad de $C_{17}H_{24}BrNO_3$, de acuerdo a la cantidad declarada.

IBUPROFENO COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Ibuprofeno deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{13}H_{18}O_2$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Ibuprofeno SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>

Reducir a polvo fino un Comprimido de Ibuprofeno, agregar aproximadamente 5 ml de cloroformo y agitar. Filtrar la mezcla y evaporar el filtrado con la ayuda de una corriente de nitrógeno hasta sequedad: el espectro de absorción infrarroja de una dispersión en aceite mineral del residuo obtenido se debe corresponder con el de Ibuprofeno SR-FA.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención relativo al estándar interno obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: Solución reguladora de fosfato de pH 7,2; 900 ml.

Tiempo: 60 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario y determinar la cantidad de $C_{13}H_{18}O_2$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 221 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Ibuprofeno SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{13}H_{18}O_2$ se debe disolver en 60 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 5,0 %. Los Comprimidos de Ibuprofeno con cubierta de gelatina están exentos de este requisito.

Límite de 4-isobutilacetofenona

Emplear los cromatogramas obtenidos a partir de la *Preparación muestra* y la *Solución estándar de 4-isobutilacetofenona* según se indica en *Valoración* y calcular el porcentaje de 4-isobutilacetofenona ($C_{12}H_{16}O$) en los Comprimidos de Ibuprofeno. No debe contener más de 0,1 %.

VALORACIÓN

Fase móvil, Solución del estándar interno y Preparación estándar - Proceder según se indica en *Valoración en Ibuprofeno*.

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Solución estándar de 4-isobutilacetofenona - Disolver una cantidad exactamente pesada de 4-isobutilacetofenona en acetonitrilo para obtener una solución de aproximadamente 0,6 mg por ml. Agregar 2,0 ml de esta solución madre a 100,0 ml de *Solución del estándar interno* y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 12 μ g de 4-isobutilacetofenona por ml.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Ibuprofeno. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 1,2 g de ibuprofeno, transferir a un recipiente apropiado, agregar 100,0 ml de *Solución del estándar interno* y agitar durante 10 minutos. [NOTA: cuando los Comprimidos de Ibuprofeno están recubiertos, colocar un número de comprimidos, equivalente a no menos de 1,2 g de ibuprofeno en un recipiente, agregar un volumen exactamente medido de *Solución del estándar interno* para obtener una solución de aproximadamente 12 mg de ibuprofeno por ml, agregar alrededor de 15 perlas de vidrio y agitar bien hasta que los comprimidos se desintegren]. Centrifugar una porción de la suspensión obtenida y emplear la solución sobrenadante transparente.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,75 para ibuprofeno y 1,0 para valerofenona; la resolución *R* entre los

picos de ibuprofeno y valerofenona no debe ser menor de 2,5; los factores de asimetría para los picos individuales no deben ser mayores de 2,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %. Cromatografiar la *Solución estándar de 4-Isobutilacetofenona* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 1,0 para valerofenona y 1,2 para 4-isobutilacetofenona; la resolución *R* entre los picos de valerofenona y 4-isobutilacetofenona no debe ser menor de 2,5; los factores de asimetría para los picos individuales no deben ser mayores de 2,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 5 µl) de la *Preparación estándar*, la *Preparación muestra* y la *Solución estándar de 4-isobutilacetofenona*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{13}H_{18}O_2$ en los Comprimidos de Ibuprofeno, de acuerdo a la cantidad declarada.

IBUPROFENO

CREMA DÉRMICA

Definición - La Crema Dérmica de Ibuprofeno debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{13}H_{18}O_2$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Ibuprofeno SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - *n*-Hexano, acetato de etilo y ácido acético anhidro (75:25:5).

Revelador - Preparar una solución de permanganato de potasio en ácido sulfúrico 1 M al 1 %.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Ibuprofeno SR-FA en diclorometano para obtener una solución de aproximadamente 5 mg por ml.

Solución muestra - Transferir una cantidad exactamente pesada de la Crema Dérmica de Ibuprofeno, equivalente a 50 mg de ibuprofeno, a un recipiente apropiado, agregar 10 ml de diclorometano, agitar durante 5 minutos y filtrar.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 μ l de la *Solución estándar* y 5 μ l de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y secar a 120 °C durante 30 minutos. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar a 120 °C durante 20 minutos. Examinar los cromatogramas bajo luz ultravioleta, a 365 nm: el valor de R_f de la mancha principal obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector

ultravioleta ajustado a 214 nm y una columna de 15 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto. Equilibrar la columna con *Fase móvil* durante 45 minutos antes de comenzar la cromatografía.

Fase móvil - Preparar una mezcla de agua, acetonitrilo y ácido ortofosfórico (600:340:0,5). Dejar equilibrar esta solución y diluir a 1 litro con agua. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Ibuprofeno SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, agregar 5 ml de una solución de ácido 2-(4-butil fenil) propiónico en metanol de aproximadamente 60 μ g por ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

Solución madre de la muestra - Transferir una cantidad exactamente pesada de la Crema Dérmica de Ibuprofeno, equivalente a 100 mg de ibuprofeno, a un recipiente apropiado, agregar 25 ml de metanol y agitar durante 10 minutos. Transferir la solución a un matraz aforado de 50 ml, lavar el primer recipiente con 10 ml de metanol y combinar el lavado con la solución. Completar a volumen con metanol, mezclar y filtrar.

Solución muestra - Transferir 1 ml de la *Solución madre de la muestra* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la relación entre la altura del pico de ácido 2-(4-butil fenil) propiónico y el valle entre este pico y el pico de ibuprofeno debe ser mayor de 1,5.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales de la *Solución estándar*, la *Solución madre de la muestra* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas durante al menos 1,5 veces el tiempo de retención del pico principal y medir las respuestas de los picos principales. El tiempo de retención del pico correspondiente a ibuprofeno debe ser aproximadamente 20 minutos; la respuesta de ningún pico correspondiente al ácido 2-(4-butil fenil) propiónico en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución madre de la muestra* debe ser mayor que el mismo pico en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar* (0,3 %); la respuesta de ningún otro pico secundario debe ser mayor a 0,3 veces la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* (0,3 %), y la suma de las respuestas de todos los picos, a excepción de los picos de ibuprofeno y del ácido

2-(4-butil fenil) propiónico no debe ser mayor a 0,7 veces la respuesta del pico principal obtenido a partir de la *Solución muestra* (0,7 %). Ignorar cualquier pico con una respuesta menor a 0,1 veces el área del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* (0,1 %).

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos de administración tópica.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 264 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol, agua y ácido ortofosfórico (750:247:3). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Ibuprofeno SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml.

Preparación muestra - Transferir una porción exactamente medida de la Crema Dérmica de Ibuprofeno, equivalente a 50 mg de ibuprofeno, a un recipiente apropiado, agregar 25 ml de *Fase móvil* y agitar durante 10 minutos. Transferir a un matraz aforado de 50 ml, lavar el recipiente original con dos porciones de 10 ml de *Fase móvil*, combinar la solución con los lavados, completar a volumen con *Fase móvil* y filtrar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₁₃H₁₈O₂ en la Crema Dérmica de Ibuprofeno, de acuerdo a la cantidad declarada.

IBUPROFENO

SUSPENSIÓN ORAL

Definición - La Suspensión Oral de Ibuprofeno debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{13}H_{18}O_2$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Ibuprofeno SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice de 0,25 mm de espesor, previamente activada calentando a 105 °C durante 30 minutos.

Fase móvil - *n*-Hexano, acetato de butilo y ácido acético glacial (17:3:1).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Ibuprofeno SR-FA en cloroformo para obtener una solución de aproximadamente 20 mg por ml.

Solución muestra - Transferir un volumen de Suspensión Oral de Ibuprofeno, equivalente a 200 mg de ibuprofeno, a una ampolla de decantación que contenga 10 ml de cloroformo y agitar durante 1 minuto. Permitir que las fases se separen y filtrar la fase clorofórmica a través de un filtro conteniendo 2 g de sulfato de sodio anhidro. Emplear el filtrado. [NOTA: retener una porción del filtrado para el ensayo de *Identificación B*].

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de la *Solución estándar* y 10 µl de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar los cromatogramas bajo luz ultravioleta a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

B - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida*.

Evaporar hasta sequedad aproximadamente 1 ml de la *Solución muestra* y la *Solución estándar* obtenidas en ensayo de *Identificación A*.

C - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Pre-*

paración estándar se debe corresponder con el de la *Preparación muestra*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: Solución reguladora de fosfato de pH 7,2 (ver *Soluciones reguladoras en Reactivos y soluciones*); 900 ml.

Tiempo: 60 minutos.

Determinar la cantidad de $C_{13}H_{18}O_2$ disuelta mediante la siguiente técnica cromatográfica.

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución del estándar interno - Preparar una solución de benzofenona en acetonitrilo de aproximadamente 0,3 mg por ml.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Ibuprofeno SR-FA en *Medio* para obtener una solución de aproximadamente 0,2 mg por ml. Mezclar 10,0 ml de esta solución y 10,0 ml de la *Solución del estándar interno*.

Solución muestra - Filtrar una porción de la solución en ensayo, mezclar 10,0 ml del filtrado y 10,0 ml de la *Solución del estándar interno*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el porcentaje de la cantidad declarada de $C_{13}H_{18}O_2$ disuelta, relacionando las respuestas de los picos de ibuprofeno y las respuestas de los picos del estándar interno.

Tolerancia - No menos de 80 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{13}H_{18}O_2$ se debe disolver en 60 minutos.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 3,6 y 4,6

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

Límite de 4-isobutilacetofenona

Fase móvil y Diluyente - Proceder según se indica en *Valoración*.

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 15 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El

caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Solución madre del estándar - Disolver cuantitativamente una cantidad exactamente pesada de 4-isobutilacetofenona en acetonitrilo para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg por ml.

Solución estándar - Transferir 3,0 ml de la *Solución madre del estándar* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Transferir 2,0 ml de esta solución a un segundo matraz aforado de 50 ml, agregar 20 ml de *Diluyente*, completar a volumen con acetonitrilo y mezclar.

Solución de aptitud del sistema - Transferir 1,5 ml de la *Solución madre del estándar* y 9,0 ml de la *Preparación madre del estándar* preparada en *Valoración* a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con acetonitrilo y mezclar.

Solución muestra - Transferir 20,0 ml de la *Preparación madre de la muestra* preparada en *Valoración* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con acetonitrilo y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 1,3 para 4-isobutilacetofenona y 1,0 para ibuprofeno; el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la resolución *R* entre los picos de ibuprofeno y 4-isobutilacetofenona no debe ser menor de 1,5. Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 35 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el porcentaje de 4-isobutilacetofenona en la Suspensión Oral de Ibuprofeno. No debe contener más de 0,25 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 220 nm y una columna de 15 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas de porosas sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Diluir 0,7 ml de ácido fosfórico con agua para obtener 1 litro de ácido fosfórico 0,01 M. Preparar una mezcla de esta solución y

acetonitrilo (63:37). Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Acetonitrilo y agua (1:1).

Solución del estándar interno - Preparar una solución de benzofenona en acetonitrilo de aproximadamente 3,2 mg por ml.

Preparación madre del estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Ibuprofeno SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 1,2 mg por ml.

Preparación estándar - Transferir 20,0 ml de la *Preparación madre del estándar* y 5,0 ml de *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con acetonitrilo y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 0,48 mg de Ibuprofeno SR-FA por ml.

Preparación madre de la muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Suspensión Oral de Ibuprofeno, equivalente a 60 mg de ibuprofeno, a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. [NOTA: retener una porción de esta solución para emplear en el ensayo de *Límite de 4-isobutilacetofenona*].

Preparación muestra - Transferir 20,0 ml de la *Preparación madre de la muestra* y 5,0 ml de la *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con acetonitrilo, mezclar y filtrar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,9 para benzofenona y 1,0 para ibuprofeno; la resolución *R* entre los picos de benzofenona e ibuprofeno no debe ser menor de 1,5; el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 5 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{13}H_{18}O_2$ en la Suspensión Oral de Ibuprofeno, de acuerdo a la cantidad declarada.

IDARUBICINA, CLORHIDRATO DE PARA INYECCIÓN

Definición - Clorhidrato de Idarubicina para Inyección es una mezcla estéril de *Clorhidrato de Idarubicina* y *Lactosa*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{26}H_{27}NO_9 \cdot HCl$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Idarubicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Precaución - Manipular el Clorhidrato de Idarubicina con sumo cuidado, evitando la inhalación de sus partículas y el contacto con la piel.

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Preparación estándar*.

Aspecto de la solución reconstituida

Reconstituir el Clorhidrato de Idarubicina para Inyección según se indica en el rótulo. La solución reconstituida debe cumplir con los requisitos en 280. *Disolución completa* y estar libre de partículas extrañas cuando se realiza una inspección visual.

Determinación del pH <250>

Entre 5,0 y 7,0; determinado sobre una solución reconstituida según se indica en el rótulo, excepto que debe emplearse agua como diluyente.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 4,0 %, excepto que la muestra debe transferirse empleando una jeringa seca para inyectar un volumen exactamente medido de metanol u otro disolvente, a un recipiente previamente pesado y agitado para disolver la muestra. Con la misma jeringa, retirar la solución anterior y transferirla al frasco de titulación.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 8,9 Unidades de Endotoxina por mg de clorhidrato de idarubicina.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, según se indica el *Método de filtración por membrana*.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Diluyente, Solución de resolución, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Clorhidrato de Idarubicina*.

Preparación muestra - Disolver el contenido de un envase de Clorhidrato de Idarubicina para Inyección en un volumen exactamente medido de *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg de clorhidrato de idarubicina por ml.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración en Clorhidrato de Idarubicina*. Calcular la cantidad de $C_{26}H_{27}NO_9 \cdot HCl$ en el Clorhidrato de Idarubicina para Inyección, de acuerdo a la cantidad declarada.

iodo povidona

SOLUCIÓN DE LAVADO

Definición - La Solución de Lavado de Iodo Povidona es una solución de *Iodo Povidona* con uno o más agentes surfactantes. Debe contener no menos de 85,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de la cantidad declarada de Iodo y una pequeña cantidad de alcohol. Debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Transferir 1 ml de almidón (SR) y 9 ml de agua a un erlenmeyer y mezclar. Transferir 1 ml de una dilución que contenga aproximadamente 0,05 % de Iodo, obtenida a partir de la Solución de Lavado de Iodo Povidona y mezclar: se debe desarrollar un color azul intenso.

B - Agregar 1 ml de aceite vegetal y 4 ml de agua a un tubo de ensayo que contenga 2 ml de Solución de Lavado de Iodo Povidona y agitar vigorosamente durante 10 segundos. Dejar en reposo durante 3 minutos: se debe formar una emulsión estable.

C - Detección de Iodo libre - Transferir 10 ml de la Solución de Lavado de Iodo Povidona a un erlenmeyer, evitando el contacto con el cuello del mismo. Cubrir la abertura con un papel de filtro e inmediatamente mojar el papel con una gota de almidón (SR): no se debe desarrollar color azul antes de 60 segundos.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 6,5.

Determinación de alcohol <130>

Entre 90,0 y 110,0 %; del valor declarado en el rótulo.

VALORACIÓN

Transferir un volumen exactamente medido de la Solución de Lavado de Iodo Povidona, equivalente a 50 mg de iodo, a un erlenmeyer y diluir con agua hasta un volumen no inferior a 30 ml. Titular con tiosulfato de sodio 0,02 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente empleando un sistema de electrodos platino-calomel. Realizar una determinación con un blanco y las correcciones necesarias (ver 780. *Volimetría*). Cada ml de tiosulfato de sodio 0,02 N equivale a 2,538 mg de Iodo.

IOHEXOL

SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Iohexol es una solución estéril de *Iohexol* en *Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de Iohexol (C₁₉H₂₆I₃N₃O₉) como iodo orgánicamente unido. La Solución Inyectable de Iohexol destinada para uso intravascular o intratecal no debe contener agentes antimicrobianos. Debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Iohexol SR-FA. Impureza A de Iohexol SR-FA: 5-(acetilamino)-*N,N'*-bis(2,3-dihidroxiopropil)-2,4,6-triiodo-1,3-benzenodocarboxamida. Impureza B de Iohexol SR-FA: 5-amino-*N,N'*-bis(2,3-dihidroxiopropil)-2,4,6-triiodo-1,3-benzenodocarboxamida. Impureza C de Iohexol SR-FA: *N,N'*-bis(2,3-dihidroxiopropil)-5-nitro-1,3-benzenodocarboxamida.

CONSERVACIÓN

En envases inactivo de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

A - Evaporar hasta sequedad 1 ml de la Solución Inyectable de Iohexol y calentar el residuo obtenido en un crisol: se deben desprender vapores de color violeta.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Alcohol n-butílico, agua y ácido acético glacial (50:25:11).

Solución estándar - Disolver una cantidad apropiada de Iohexol SR-FA en metanol para obtener una solución de aproximadamente 10 mg por ml.

Solución muestra - Diluir un volumen de Solución Inyectable de Iohexol con metanol para obtener una solución de aproximadamente 10 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa, 10 µl de la *Solución muestra* y 10 µl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar bajo luz ultravioleta a

254 nm: se debe detectar la presencia de los isómeros *endo* y *exo* en la *Solución muestra* con la aparición de dos manchas; cada una de ellas se deben corresponder en tamaño e intensidad a la mancha principal correspondiente y al mismo valor de R_f de la *Solución estándar*. La mancha con el valor de R_f menor corresponde al isómero *endo*.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 0,2 Unidades de Endotoxina por 50 mg de iodo.

Determinación del pH <250>

Entre 6,8 y 7,7.

Ioduro libre

Transferir 5,0 ml de la Solución Inyectable de Iohexol a un recipiente apropiado, agregar aproximadamente 20 ml de agua y titular con nitrato de plata 0,001 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente (ver 780. *Volumetría*), empleando un electrodo de plata combinado con un electrodo de referencia apropiado. Cada ml de nitrato de plata 0,001 N equivale a 0,1269 mg de I (no más de 0,02 %, en base al contenido de Iohexol).

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

La Solución Inyectable de Iohexol destinada para vía intratecal debe cumplir con los requisitos para inyectables de pequeño volumen.

Metales pesados <590>

Método I. No más de 0,002 %.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Solución A, Solución B Fase móvil, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema- Proceder según se indica en *Sustancias relacionadas* en *Iohexol*.

Solución muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Iohexol, equivalente a 75 mg de iohexol, a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 10 µl de la *Solución muestra*, registrar el cromatograma y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de sustancias *O*-alquiladas en la Solución Inyectable de Iohexol, en relación a la suma de las respuestas de todos los picos: no debe contener más de 0,1 % de cualquier impureza individual, no más de 0,6 % de sustancias *O*-alquiladas y la suma de todas las impurezas no debe ser mayor de 0,3 %.

VALORACIÓN DE IODO

Transferir un volumen exactamente medido de Solución Inyectable de Iohexol, equivalente a 300 mg de iodo, a un erlenmeyer de vidrio de 250 ml con tapón. Proceder según se indica en *Valoración en Iohexol*, comenzando donde dice: "Agregar 25 ml de hidróxido de sodio 1,25 N...".

ROTULADO

Indicar en el rótulo, que se debe descartar la porción no empleada; que no debe emplearse si se observara un cambio en la coloración o la formación de un precipitado. Indicar en el rótulo la vía de administración.

IOPANOICO, ÁCIDO

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Ácido Iopanoico deben contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{11}H_{12}I_3NO_2$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Pesar una cantidad equivalente a 1 g de ácido iopanoico a partir del polvo fino obtenido en *Valoración*, mezclar con dos porciones de 10 ml de éter de petróleo, decantar y descartar el líquido. Dejar que el residuo se seque espontáneamente, mezclar con 15 ml de acetona y filtrar. Repetir la operación con otra porción de 15 ml de acetona, evaporar los filtrados combinados en un baño de vapor a un volumen de no más de 1 ml, agregar con agitación constante 20 ml de agua, filtrar, lavar el precipitado con dos porciones de 5 ml de agua y secar a 105 °C durante 2 horas: el ácido iopanoico obtenido debe fundir entre 150 y 158 °C con descomposición y debe responder al ensayo de *Identificación en Ácido Iopanoico*.

Ensayo de disgregación <310>

Tiempo: 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Haluros

Pesar una cantidad equivalente a 500 mg de ácido iopanoico a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra en Valoración*: debe responder al ensayo para *Haluros en Ácido Iopanoico*.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Ácido Iopanoico. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 1 g de ácido iopanoico y triturar con 10 ml de éter de petróleo. Dejar que la mezcla sedimente, decantar el éter a través de un filtro pequeño, repetir la trituration con 10 ml de éter de petróleo, filtrar a través del mismo filtro y descartar los filtrados. Calentar el residuo con 10 ml de alcohol neutralizado a 70 °C, filtrar a

través del mismo filtro y lavar el residuo no disuelto con cuatro porciones de 10 ml de alcohol neutralizado a 70 °C, pasando los lavados a través del mismo filtro. Enfriar el filtrado y los lavados combinados a temperatura ambiente, agregar 3 a 5 gotas de azul de timol (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 57,09 mg de $C_{11}H_{12}I_3NO_2$.

ISONIAZIDA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Isoniazida deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_6H_7N_3O$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Isoniazida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Pesar una cantidad equivalente a 50 mg de isoniazida a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*, transferir a un matraz aforado de 500 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Filtrar una porción de la mezcla. Proceder según se indica para el ensayo de *Identificación B* en *Isoniazida*, comenzando donde dice "Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml...".

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,01 N; 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario y determinar la cantidad de $C_6H_7N_3O$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta, a la longitud de onda de máxima absorción, 263 nm, comparando con una *Solución estándar* de Isoniazida SR-FA diluida en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_6H_7N_3O$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para la uniformidad de contenido

Diluyente - Ácido clorhídrico 0,1 N en agua (3 en 100).

Solución muestra - Reducir a polvo fino un Comprimido de Isoniazida, transferir a un matraz aforado de 500 ml con la ayuda de 200 ml de agua.

Agitar durante 30 minutos, completar a volumen con agua y mezclar. Filtrar y descartar los primeros 20 ml del filtrado. Diluir una porción del filtrado cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 10 μ g de Isoniazida por ml.

Solución estándar - Pesar exactamente una cantidad de Isoniazida SR-FA, disolver con agua y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 10 μ g de isoniazida por ml.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de ambas soluciones en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorción, 263 nm, con un espectrofotómetro, empleando agua como blanco. Calcular la cantidad de $C_6H_7N_3O$ en cada Comprimido de Isoniazida.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm \times 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice porosas de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Solución reguladora - Preparar una solución de fosfato monobásico de potasio 0,1 M, ajustar a pH 6,9 con hidróxido de sodio 10 N, agregar suficiente trietanolamina para obtener una solución de trietanolamina 0,2 mM y mezclar.

Fase móvil - *Solución reguladora* y metanol (95:5). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Isoniazida SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,32 mg de isoniazida por ml.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Isoniazida. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 32 mg de isoniazida, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 40 ml de *Fase móvil* y sonicar durante 10 minutos. Dejar reposar hasta que alcance la temperatura ambiente, completar a volumen con *Fase móvil* y centrifugar durante 5 minutos.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Pro-*

cedimiento: el factor de capacidad k' no debe ser menor de 2,35; la eficiencia de la columna no debe ser menor de 1.800 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 1,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_6H_7N_3O$ en los Comprimidos de Isoniazida, de acuerdo a la cantidad declarada.

KETAMINA, CLORHIDRATO DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Clorhidrato de Ketamina es una solución estéril de *Clorhidrato de Ketamina en Agua para Inyectables*. Debe contener una cantidad $C_{13}H_{16}ClNO \cdot HCl$ equivalente a no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de ketamina ($C_{13}H_{16}ClNO$) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Ketamina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos monodosis o multidosis, de vidrio Tipo I, protegidos del calor.

ENSAYOS

Identificación

Absorción ultravioleta <470>. El espectro de absorción ultravioleta de una dilución de Solución Inyectable de Clorhidrato de Ketamina en hidróxido de sodio metanólico 0,01 N que contenga Clorhidrato de Ketamina, equivalente a 800 µg de ketamina por ml, medido entre 250 y 350 nm, debe presentar máximos y mínimos a las mismas longitudes de onda que una preparación similar de Clorhidrato de Ketamina SR-FA, medida concomitantemente.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 3,5 y 5,5.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 0,4 Unidades de Endotoxina por mg de clorhidrato de ketamina.

Ensayo de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Diluyente - Ácido sulfúrico 0,1 N (saturado con cloroformo).

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Clorhidrato de Ketamina, equivalente a 500 mg de clorhidrato de ketamina, a un matraz aforado de

200 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 20,0 ml de esta solución a una ampolla de decantación, agregar 3 ml de hidróxido de sodio 0,1 N y extraer con tres porciones de 15 ml de cloroformo. Recoger los extractos clorofórmicos en otra ampolla de decantación y extraer con tres porciones de 30 ml de ácido sulfúrico 0,1 N, recogiendo los extractos ácidos en un matraz aforado de 200 ml. Completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Preparación estándar - Preparar una solución de Clorhidrato de Ketamina SR-FA en *Diluyente* de aproximadamente 250 µg por ml.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorción, 269 nm, con un espectrofotómetro, empleando *Diluyente* como blanco. Calcular la cantidad de ketamina ($C_{13}H_{16}ClNO$) en cada ml de la Solución Inyectable de Clorhidrato de Ketamina, de acuerdo a la cantidad declarada.

KETOCONAZOL

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Ketoconazol deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Ketoconazol SR-FA.
Terconazol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,1 N; 900 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta, a la longitud de onda de máxima absorción, 270 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Ketoconazol SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 225 nm y una columna de 30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 3,0 ml por minuto.

Fase móvil - Solución de diisopropilamina en metanol 1 en 500 y solución de acetato de amonio 1 en

200 (70:30).

Diluyente - Mezclar volúmenes iguales de metanol y cloruro de metileno.

Solución del estándar interno - Preparar una solución de Terconazol SR-FA en *Diluyente* de aproximadamente 1 mg por ml.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Ketoconazol SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, agregar 5,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Ketoconazol.

Pesar exactamente una cantidad equivalente a 200 mg de ketoconazol, transferir a un recipiente con tapa apropiado, agregar 50 ml de *Diluyente* mezclar durante 30 minutos y centrifugar. Transferir 5,0 ml del sobrenadante a un matraz aforado de 50 ml, agregar 5,0 ml de la *Solución del estándar interno*, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar los cromatogramas según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,6 para ketoconazol y 1,0 para terconazol; la resolución *R* entre ketoconazol y terconazol no debe ser menor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$ en los Comprimidos de Ketoconazol, de acuerdo a la cantidad declarada.

LEUCOVORINA CÁLCICA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Leucovorina Cálcica deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de leucovorina ($C_{20}H_{23}N_7O_7$) y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Ácido 10-Formilfólico SR-FA. Leucovorina Cálcica SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460> *En fase sólida.*

Pesar una cantidad equivalente a 200 mg de leucovorina cálcica a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*. Transferir a un erlenmeyer, agregar 10 ml de agua, agitar, sonicar durante aproximadamente 10 minutos y filtrar. Transferir a un tubo de centrifuga con tapón, agregar aproximadamente 125 mg de oxalato de amonio, agitar y centrifugar hasta obtener un sobrenadante transparente. Transferir el sobrenadante a otro tubo de centrifuga con tapón, agregar 1 ml de metanol, 3 gotas de ácido clorhídrico y agitar. Si la solución presenta turbidez, agregar metanol hasta obtener una solución transparente y filtrar, si fuera necesario, para eliminar el material no disuelto. Enfriar a 0 °C hasta que se forme un precipitado y centrifugar entre 1 y 2 minutos. [NOTA: repetir los pasos de enfriar y centrifugar, si fuera necesario, para obtener una mayor cantidad de precipitado]. Decantar el sobrenadante, agregar 2 ml de metanol al tubo de centrifuga, agitar para disolver el precipitado y transferir a un vaso de precipitados. Evaporar hasta sequedad y secar el residuo a 50 °C durante 30 minutos: el espectro de absorción infrarroja de una dispersión en bromuro de potasio del residuo obtenido debe presentar máximos solo a las mismas longitudes de onda que el de una solución preparada del mismo modo a partir de Leucovorina Cálcica SR-FA.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{20}H_{21}CaN_7O_7$ disuelta a partir de las absorbancias medidas en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 284 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Leucovorina Cálcica SRFA.

Tolerancia - No menos de 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{20}H_{21}CaN_7O_7$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Leucovorina Cálcica SR-FA en agua y diluir para obtener una solución de aproximadamente 10 µg de leucovorina cálcica por ml.

Solución muestra - Transferir un Comprimido de Leucovorina Cálcica a un matraz aforado apropiado disolver y diluir en agua hasta obtener una solución de aproximadamente 10 µg de leucovorina cálcica por ml.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y la *Solución estándar* en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, 284 nm, empleando agua como blanco. Calcular la cantidad de $C_{20}H_{21}CaN_7O_7$ en cada Comprimido de Leucovorina Cálcica, en base a la cantidad declarada.

Pureza cromatográfica

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Diluyente, Preparación estándar y Preparación muestra - Proceder según se indica en *Valoración*.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* en *Valoración*. Calcular el porcentaje de cada impureza, en relación a la suma de las respuestas de todos los picos. No debe presentar más de 2,5 % de cualquier impureza individual ni más de 4,0 % del total de las impurezas.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 15 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Diluyente - Agua y metanol (50:20).

Fase móvil - Preparar una solución de fosfato de tetrabutilamonio en *Diluyente* 0,05 M. Ajustar a pH 7,5 con solución de hidróxido de sodio al 50 %. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Leucovorina Cálcica SR-FA y Ácido 10-Formilfólico SR-FA en agua para obtener una solución de aproximadamente 500 µg Leucovorina Cálcica SR-FA y 10 µg Ácido 10-Formilfólico SR-FA por ml.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Leucovorina Cálcica. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 50 mg de leucovorina, transferir a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 50 ml de agua, sonicar durante 30 minutos, completar a volumen con agua, mezclar y filtrar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre la leucovorina y el ácido 10-formilfólico no debe ser menor de 1,5; los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 1,0 para la leucovorina y 2,3 para el ácido 10-formilfólico; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de leucovorina (C₂₀H₂₃N₇O₇) en los Comprimidos de Leucovorina Cálcica, de acuerdo a la cantidad declarada.

LEUCOVORINA CÁLCICA

SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Leucovorina Cálcica es una solución estéril de *Leucovorina Cálcica en Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{20}H_{23}N_7O_7$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Leucovorina Cálcica SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos monodosis de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

A - Transferir un volumen de la Solución Inyectable de Leucovorina Cálcica, equivalente a 6 mg de leucovorina cálcica a un tubo de vidrio de centrífuga de 50 ml con tapón. Agregar 40 ml de acetona, mezclar, centrifugar durante algunos minutos, decantar y descartar la fase líquida. Repetir el proceso de lavado con otros 40 ml de acetona. Secar el precipitado así obtenido con una corriente de nitrógeno seco: el residuo debe responder al ensayo de *Identificación* en *Leucovorina Cálcica*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación del pH <250>

Entre 6,5 y 8,5.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 1,95 Unidades de Endotoxina por mg de leucovorina cálcica.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

[NOTA: realizar este ensayo sin interrupciones, empleando agua recientemente desionizada cada vez que se indique agua y material de vidrio

inactivo para todas las soluciones que contengan Leucovorina Cálcica].

Sistema cromatográfico, Solución de hidróxido de tetrabutamonio, Solución de fosfato monobásico de sodio 2 N, Fase móvil, Diluyente, Preparación estándar, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en la *Valoración en Leucovorina Cálcica*.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Leucovorina Cálcica, equivalente a 9 mg de leucovorina, a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con el *Diluyente* y mezclar. Transferir 25 ml de esta solución a una ampolla de decantación de volumen adecuado, agregar 25 ml de cloruro de metileno, agitar la mezcla, dejar que las fases se separen y descartar la fase orgánica. Repetir la extracción con dos porciones más de 25 ml de cloruro de metileno, descartando los extractos de cloruro de metileno. Filtrar la capa acuosa, descartando los primeros 5 ml del filtrado y recoger el filtrado en un erlenmeyer con tapón de vidrio.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración en Leucovorina Cálcica*. Calcular la cantidad de $C_{20}H_{23}N_7O_7$ en la Solución Inyectable de Leucovorina Cálcica, de acuerdo a la cantidad declarada.

LEVOTIROXINA SÓDICA COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Levotiroxina Sódica deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{15}H_{10}I_4NNaO_4$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Levotiroxina SR-FA. Liotironina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

[NOTA: emplear sólo envases de vidrio.]

ENSAYO 1

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,01 N conteniendo lauril sulfato de sodio al 0,2 %; 500 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y determinar la cantidad de $C_{15}H_{10}I_4NNaO_4$ disuelta mediante la técnica siguiente:

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 225 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol y ácido fosfórico al 0,1 % (60:40). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Preparar una solución de Levotiroxina SR-FA en metanol de aproximadamente 0,1 mg por ml. Diluir esta solución con *Medio* para obtener una solución con una concentración similar a la *Solución muestra*.

Solución muestra - [NOTA: antes de usar, revisar el filtro, para evitar la pérdida de la droga]. Emplear una porción del filtrado como *Solución muestra*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 1,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 4,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 800 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{15}H_{10}I_4NNaO_4$ disuelta.

Tolerancia - No menos de 70 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{15}H_{10}I_4NNaO_4$ se debe disolver en 45 minutos.

ENSAYO 2

Aparato, Medio, Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución estándar, Solución muestra, Aptitud del sistema y Procedimiento - Proceder según se indica en *Ensayo 1*.

Tiempo: 15 minutos.

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{15}H_{10}I_4NNaO_4$ se debe disolver en 15 minutos.

ENSAYO 3

Aparato, Medio, Tiempo, Solución estándar y Solución muestra - Proceder según se indica en *Ensayo 1*.

Determinar la cantidad de $C_{15}H_{10}I_4NNaO_4$ disuelta mediante la técnica siguiente:

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 225 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por grupos nitrilo químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto. Mantener la columna a 30 C

Fase móvil - Agua y acetonitrilo (65:35), conteniendo 0,5 ml de ácido fosfórico por litro. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 1,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 4,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 100 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{15}H_{10}I_4NNaO_4$ disuelta.

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{15}H_{10}I_4NNaO_4$ se debe disolver en 45 minutos.

ENSAYO 4

[NOTA: no emplear mezcladores de paleta con recubrimiento sintético].

Aparato 2: 75 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,01 N; 500 ml para comprimidos conteniendo entre 25 y 175 μ g de levotiroxina sódica; 900 ml para comprimidos conteniendo 200 o 300 μ g de levotiroxina sódica.

Tiempo: 45 minutos.

Determinar la cantidad de $C_{15}H_{10}I_4NNaO_4$ disuelta mediante la técnica siguiente:

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 225 nm y una columna de 12,5 cm \times 4,0 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, acetonitrilo y ácido fosfórico (700:500:2). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 100 mg de Levotiroxina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml. Agregar aproximadamente 80 ml de alcohol, 1 ml de ácido clorhídrico 1 N, sonicar durante 2 minutos, completar a volumen con alcohol y mezclar. Diluir esta solución con una mezcla de alcohol y agua (1:1) para obtener una solución de aproximadamente 0,01 mg de levotiroxina por ml. Diluir esta solución con *Medio* para obtener una solución con una concentración similar a la *Solución muestra*.

Solución muestra - Emplear una porción del filtrado como *Solución muestra*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 1,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 4,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 500 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{15}H_{10}I_4NNaO_4$ disuelta.

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{15}H_{10}I_4NNaO_4$ se debe disolver en 45 minutos.

.Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Límite de liotironina sódica

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración* en *Levotiroxina Sódica*.

Solución estándar - Proceder según se indica en *Preparación estándar* en *Valoración*.

Solución muestra - Proceder según se indica en *Preparación muestra* en *Valoración*.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración* en *Levotiroxina Sódica*. Calcular el porcentaje de liotironina sódica ($C_{15}H_{11}I_3NNaO_4$) en los Comprimidos de Levotiroxina Sódica, relacionando las respuestas de los picos de liotironina obtenidos a partir de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. No debe contener más de 2,0 % de liotironina sódica.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración* en *Levotiroxina Sódica*.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Levotiroxina Sódica. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 100 μ g de levotiroxina sódica, transferir a un tubo de centrifuga, agregar 2 perlas de vidrio y 10 ml de *Fase móvil* al tubo y mezclar durante 3 minutos. Centrifugar hasta obtener un sobrenadante transparente, filtrar si fuera necesario.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración* en *Levotiroxina Sódica*. Calcular la cantidad de $C_{15}H_{10}I_4NNaO_4$ en los Comprimidos de Levotiroxina Sódica, de acuerdo a la cantidad declarada.

LIDOCAINA

AEROSOL TÓPICO

Definición - El Aerosol Tópico de Lidocaina es una solución de *Lidocaina*, en un vehículo apropiado, con propelentes en un envase presurizado equipado con una válvula dosificadora. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{14}H_{22}N_2O$, debe contener no menos de 85,0 por ciento y no más de 115,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{14}H_{22}N_2O$ por descarga y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Lidocaina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases para aerosol.

ENSAYOS

Identificación

A - *Absorción infrarroja* <460>. Transferir 5 ml del Aerosol Tópico de Lidocaina a una ampolla de decantación, agregar aproximadamente 10 ml de agua, 3 ml de ácido clorhídrico diluido 1 en 2, lavar con dos porciones de 15 ml de cloroformo y descartar los lavados clorofórmicos. Alcalinizar la solución obtenida con 5 ó 6 ml de hidróxido de amonio, extraer con tres porciones de 20 ml de cloroformo y filtrar los extractos clorofórmicos a través de una torunda de algodón previamente humedecido con cloroformo. Evaporar los extractos combinados con ayuda de calor hasta sequedad y secar el residuo al vacío sobre sílica durante 24 horas: una dispersión en bromuro de potasio del residuo obtenido debe presentar máximos sólo a las mismas longitudes de onda que la preparación de Lidocaina SR-FA.

B - Transferir alrededor de 2 ml del Aerosol Tópico de Lidocaina a un tubo de ensayo, agregar de 10 a 15 gotas de cloruro cobaltoso (SR) y agitar durante aproximadamente 2 minutos: se debe desarrollar color verde brillante y un precipitado fino.

C - Transferir alrededor de 2 ml del Aerosol Tópico de Lidocaina a un tubo de ensayo, agregar 5 ml de agua, 1 ml de ácido nítrico 2 N y 3 ml de nitrato mercúrico (SR): se debe desarrollar color amarillo pálido.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración tópica.

Determinación del contenido neto del envase <220>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayos farmacotécnicos para aerosoles <390>

Debe cumplir con los requisitos de *Número total de descargas por envase* y *Peso de la dosis en Aerosoles dosificadores*.

VALORACIÓN

Pesar exactamente un envase de Aerosol Tópico de Lidocaina y su dosificador, transferir un número no menor a 10 dosis a un erlenmeyer de 125 ml, con la precaución de evitar la pérdida de material y de proteger la muestra de la humedad atmosférica. Pesar exactamente el envase y dosificador nuevamente para obtener el peso de la muestra en ensayo. Agregar 20 ml de cloroformo al erlenmeyer, mezclar, agregar 10 ml de dioxano y dos gotas de cristal violeta (SR). Titular con ácido perclórico 0,1 N en dioxano (SV) hasta punto final azul. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 23,43 mg de $C_{14}H_{22}N_2O$.

LIDOCAÍNA, CLORHIDRATO DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Clorhidrato de Lidocaína es una solución estéril de *Clorhidrato de Lidocaína en Agua para Inyectables* o una solución estéril de *Lidocaína*, empleando como coadyuvante *Ácido Clorhídrico en Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{14}H_{22}N_2O \cdot HCl$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Lidocaína SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis o multidosis, de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

A - Transferir a una ampolla de decantación un volumen de Solución Inyectable de Clorhidrato de Lidocaína, equivalente a 300 mg de clorhidrato de lidocaína, extraer con cuatro porciones de 15 ml de cloroformo, descartando los extractos clorofórmicos. Agregar 2 ml de hidróxido de sodio 2 N a la solución acuosa que permanece en la ampolla de decantación y extraer con cuatro porciones de 15 ml de cloroformo. Combinar los extractos clorofórmicos y evaporar hasta sequedad. Disolver los cristales obtenidos en éter de petróleo, evaporar mediante aire caliente y secar el residuo al vacío sobre gel de sílice durante 24 horas: el residuo obtenido debe responder al ensayo de *Identificación A en Lidocaína*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 5,0 y 7,0.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 1,1 Unidades de Endotoxina por mg de clorhidrato de lidocaína.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos para inyectables de pequeño volumen.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar y Solución de resolución - Proceder según se indica en *Valoración en Lidocaína*.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de Solución Inyectable de Clorhidrato de Lidocaína, equivalente a 100 mg de clorhidrato de lidocaína, a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,5 %. Cromatografiar aproximadamente la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de lidocaína y metilparabeno no debe ser menor de 3,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{14}H_{22}N_2O \cdot HCl$ en la Solución Inyectable de Clorhidrato de Lidocaína, de acuerdo a la cantidad declarada.

LIDOCAÍNA, CLORHIDRATO DE SOLUCIÓN TÓPICA

Definición - La Solución Tópica de Clorhidrato de Lidocaína debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{14}H_{22}N_2O \cdot HCl$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Lidocaína SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre hermético.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración tópica.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 5,0 y 7,0.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Mezclar 50 ml de ácido acético glacial y 930 ml de agua. Ajustar a pH 3,4 con hidróxido de sodio 1 N. Mezclar 4 volúmenes de esta solución con 1 volumen de acetonitrilo. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de resolución - Preparar una solución de metilparabeno en *Fase móvil* de aproximadamente 220 μg por ml. Mezclar 2 ml de esta solución y 20 ml de la *Preparación estándar*.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 85 mg de Lidocaína SR-FA, disolver en 0,5 ml ácido clorhídrico 1 N, calentando si fuera

necesario, transferir a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 1,7 mg de lidocaína por ml.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Tópica de Clorhidrato de Lidocaína, equivalente a 100 mg de clorhidrato de lidocaína, a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,5 %. Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de lidocaína y metilparabeno no debe ser menor de 3,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{14}H_{22}N_2O \cdot HCl$ en la Solución Tópica de Clorhidrato de Lidocaína, de acuerdo a la cantidad declarada.

LITIO, CARBONATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Carbonato de Litio deben contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de Li_2CO_3 y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Carbonato de Litio SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Una porción del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración* debe responder a los ensayos de *Identificación* en *Carbonato de Litio*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, diluir a 1 litro con agua el contenido de cada vaso. Transferir 20 ml de una alícuota filtrada a un matraz aforado de 1 litro y agregar 500 ml de agua, 1 gota de ácido clorhídrico y 20 ml de una solución de tensioactivo apropiadamente diluida. Completar a volumen con agua, mezclar y determinar la cantidad de Li_2CO_3 disuelta mediante fotometría de llama, registrando las lecturas de la *Solución muestra* y la *Solución estándar* según se indica en *Valoración*.

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de Li_2CO_3 se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 30 mg de Carbonato de Litio SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar aproximadamente 20 ml de agua y 0,5 ml de ácido clorhídrico, agitar hasta disolver, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 20 ml de esta solución a un matraz aforado de 1 litro, agregar aproximadamente 800 ml de agua y 20 ml de solu-

ción de un agente tensioactivo, diluida apropiadamente, completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Carbonato de Litio. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 600 mg de carbonato de litio y transferir a un matraz aforado de 1 litro. Agregar 40 ml de agua y 5 ml de ácido clorhídrico, agitar hasta desintegrar completamente el sólido, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz aforado de 1 litro, agregar aproximadamente 800 ml de agua y 20 ml de solución de un agente tensioactivo, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Emplear un fotómetro de llama y ajustar el instrumento con la solución del agente tensioactivo. Medir en el fotómetro de emisión, aproximadamente a 671 nm, la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*. Calcular la cantidad de Li_2CO_3 en los Comprimidos de Carbonato de Litio, de acuerdo a la cantidad declarada.

MAGNESIO, HIDRÓXIDO DE SUSPENSIÓN ORAL

Definición - La Suspensión Oral de Hidróxido de Magnesio debe contener no menos de 7,0 g y no más de 8,5 g de $Mg(OH)_2$ cada 100 g de suspensión. Debe contener no más de 0,05 por ciento de aceites volátiles y saborizantes apropiados y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Transferir 1 ml de la Suspensión Oral de Hidróxido de Magnesio a un tubo de ensayo y agregar 2 ml de ácido clorhídrico 3 N: debe responder a los ensayos para *Magnesio* <410>.

Determinación del contenido extraíble del envase<210>

Debe cumplir con los requisitos.

Álcalis solubles

Filtrar 25 ml de la Suspensión Oral de Hidróxido de Magnesio, desechar los primeros mililitros del filtrado y transferir 5 ml a un erlenmeyer. Agregar 40 ml de agua, una gota de rojo de metilo y titular con ácido sulfúrico 0,1 N (SV) hasta color rosa persistente. No debe consumir más de 1 ml de ácido sulfúrico 0,1 N (SV).

Sales solubles

Transferir 5 ml del filtrado obtenido en *Álcalis solubles* a un crisol de porcelana previamente pesado, agregar tres gotas de ácido sulfúrico, evaporar hasta sequedad e incinerar a 550 °C hasta peso constante. El peso del residuo no debe ser mayor de 12 mg.

Carbonatos y sustancias insolubles en ácido

Transferir 1 ml de la Suspensión Oral de Hidróxido de Magnesio a un tubo de ensayo y agregar 2 ml de ácido clorhídrico 3 N: se debe desarrollar una ligera efervescencia y la solución debe ser ligeramente turbia.

Límite de arsénico <540>

No más de 0,6 ppm.

Solución muestra - Pesar 3,3 g de la Suspensión Oral de Hidróxido de Magnesio, transferir a un recipiente apropiado, disolver con 20 ml de ácido sulfúrico 7 N, agregar 35 ml de agua y mezclar.

Solución estándar - Preparar una solución de arsénico patrón de 1 µg por ml. Emplear 2 ml.

Límite de calcio <550>

No más de 0,07 %.

Límite de metales pesados <590>

No más de 5 ppm.

Solución muestra - Transferir 4 ml de la Suspensión Oral de Hidróxido de Magnesio a una cápsula de porcelana, agregar 6 ml de ácido clorhídrico 3 N y evaporar hasta sequedad con frecuente agitación. Disolver el residuo en 20 ml de agua y evaporar en las mismas condiciones. Redisolver en 20 ml de agua, filtrar y diluir a 25 ml con el mismo solvente.

Solución estándar - Preparar una solución patrón de plomo de 10 µg por ml. Emplear 2 ml.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Libre de patógenos, el recuento de organismos aerobios viables totales no debe ser mayor de 100 ufc por ml y el recuento total de hongos filamentosos y levaduras no debe ser mayor de 10 ufc por ml.

VALORACIÓN

Solución A - Pesar exactamente alrededor de 6,7 g de cloruro de amonio. Transferir a un matraz aforado de 1 litro, disolver con 300 ml de agua, agregar 570 ml de hidróxido de amonio, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Pesar una cantidad de la Suspensión Oral de Hidróxido de Magnesio, previamente agitada, equivalente a 250 mg de hidróxido de magnesio. Transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 10 ml de ácido clorhídrico 3 N, agitar hasta disolución, completar a volumen con agua y mezclar. Filtrar, transferir una alícuota de 25 ml a un vaso de precipitados que contenga 75 ml de agua y ajustar a pH 7,0 con hidróxido de sodio 1 N. Agregar 5 ml de la *Solución A*, 0,15 ml de negro de eriocromo T y titular con edetato disódico 0,05 M (SV) hasta punto final azul. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de edetato disódico 0,05 M equivale a 2,916 mg de $Mg(OH)_2$.

MAGNESIO, SULFATO DE

SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Sulfato de Magnesio es una solución estéril de *Sulfato de Magnesio en Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 93,0 por ciento y no más de 107,0 por ciento de la cantidad declarada de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis o multidosis, vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

Debe responder a los ensayos para *Magnesio* <410> y para *Sulfato* <410>.

Determinación de pH <250>

Entre 5,5 y 7,0; determinado sobre una solución al 5 %.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 0,09 Unidades de Endotoxina por mg de sulfato de magnesio.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Sulfato de Magnesio, equivalente a 250 mg de sulfato de magnesio anhidro, a un recipiente apropiado y diluir a 100 ml con agua. Ajustar la solución a pH 7,0 empleando papel indicador de pH (ver *Indicadores, papeles y papeles indicadores* en *Reactivos y Soluciones*) con hidróxido de sodio 1 N, agregar 5 ml de solución reguladora de cloruro de amonio - hidróxido de amonio (SR) y 0,15 ml de negro de eriocromo T. Titular con edetato disódico 0,05 M (SV) hasta punto final azul. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de edetato disódico 0,05 M es equivalente a 12,32 mg de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$

ROTULADO

Indicar en el rótulo la concentración osmolar total en mosmol por litro. Cuando el contenido de la Solución Inyectable de Sulfato de Magnesio sea menor de 100 ml o cuando en el rótulo se indique que la misma no está destinada para su uso directo, pero si para su uso diluida, la concentración se puede expresar en mosmol por ml.

MEBENDAZOL

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Mebendazol deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{16}H_{13}N_3O_3$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Mebendazol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol y ácido fórmico al 96 % (90:5:5).

Diluyente - Cloroformo y ácido fórmico al 96 % (19:1).

Solución muestra - Pesar una cantidad equivalente a 200 mg de mebendazol a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración* y mezclar con 20 ml de *Diluyente*. Calentar la suspensión en un baño de agua durante unos minutos, enfriar y filtrar.

Solución estándar - Preparar una solución de Mebendazol SR-FA en *Diluyente* de aproximadamente 10 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal obtenida a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 75 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,1 N conteniendo lauril sulfato de sodio al 1,0 %; 900 ml.

Tiempo: 120 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y determinar la cantidad de $C_{16}H_{13}N_3O_3$ disuelta mediante la siguiente técnica.

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 3 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1 ml por minuto.

Solución reguladora - Disolver 8,0 g de hidróxido de sodio en 2 litros de agua, agregar 3,0 g de lauril sulfato de sodio y mezclar. Agregar 20 ml de ácido fosfórico y ajustar a pH 2,5 con ácido fosfórico.

Fase móvil - *Solución reguladora* y acetonitrilo (7:3). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Mebendazol SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, agregar 10,0 ml de ácido fórmico y disolver. Completar a volumen con metanol y mezclar. Diluir una porción de esta solución cuantitativamente y en etapas con *Medio* para obtener una solución con una concentración similar a la concentración esperada de la alícuota en ensayo.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de las alícuotas en ensayo y la *Solución estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales.

Tolerancia - No menos de 75 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{16}H_{13}N_3O_3$ se debe disolver en 120 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Mebendazol SR-FA, transferir a un matraz aforado de 10 ml. Agregar 4 ml de ácido fórmico al 96 % y mezclar hasta disolver. Completar a volumen con alcohol isopropílico y mezclar. Transferir 0,5 ml de esta solución a un matraz afo-

rado de 100 ml, completar a volumen con alcohol isopropílico y mezclar.

Solución muestra - Transferir un Comprimido de Mebendazol a un matraz aforado de 100 ml, agregar 20 ml de ácido fórmico al 96 %, mezclar y calentar en un baño de vapor durante 15 minutos. Enfriar, completar a volumen con alcohol isopropílico, mezclar y filtrar a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media. Transferir una porción exactamente medida, equivalente a 1 mg de mebendazol, a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución estándar* y la *Solución muestra* en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorción, 310 nm, con un espectrofotómetro, empleando una solución de ácido fórmico al 96 % en alcohol isopropílico 1 en 500 como blanco. Calcular la cantidad de $C_{16}H_{13}N_3O_3$ en cada Comprimidos de Mebendazol en ensayo, en base a la cantidad declarada.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 247 nm, una precolumna con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro y una columna analítica de 30 cm \times 3,9 mm con fase estacionaria constituida por el mismo material y mantenida a 30 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol y fosfato monobásico de potasio 0,05 M (60:40). Ajustar a pH 5,5 con ácido fosfórico 0,1 M o hidróxido de sodio 1 N. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Mebendazol SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 10 ml de ácido fórmico y calentar en un baño de agua a 50 °C durante 15 minutos. Agitar durante 5 minutos, agregar 90 ml de metanol y dejar enfriar. Completar a volumen con metanol y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con *Fase móvil*, mezclar y filtrar.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Mebendazol. Pesar exactamente una cantidad equivalente

a 500 mg de mebendazol, transferir a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 50 ml de ácido fórmico y calentar en un baño de agua a 50 °C durante 15 minutos. Agitar durante 1 hora, completar a volumen con agua, mezclar y filtrar. Transferir 5,0 ml del filtrado a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con una solución de ácido fórmico en metanol (1:9) y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con *Fase móvil*, mezclar y filtrar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la eficiencia de la columna no debe ser menor de 2.500 platos teóricos; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 15 μl) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{16}H_{13}N_3O_3$ en los Comprimidos de Mebendazol, de acuerdo a la cantidad declarada.

MEBENDAZOL

SUSPENSIÓN ORAL

Definición - La Suspensión Oral de Mebendazol es *Mebendazol* en un vehículo acuoso. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{16}H_{13}N_3O_3$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Mebendazol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases herméticos.

ENSAYOS

Identificación

Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria, Fase móvil, Diluyente, Solución estándar - Proceder según se indica en *Identificación en Comprimidos de Mebendazol*.

Solución muestra - Transferir una cantidad de Suspensión Oral de Mebendazol, equivalente a 200 mg de mebendazol, a un recipiente apropiado y mezclar con 20 ml de *Diluyente*. Calentar la suspensión en un baño de agua durante unos minutos, enfriar y filtrar.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Identificación B en Comprimidos de Mebendazol*: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Determinación del pH <250>

Entre 6,0 y 7,0.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Solución blanco - Transferir 90 ml de cloroformo a un matraz aforado de 100 ml, agregar 2 ml de ácido fórmico al 96 % y mezclar. Completar a volumen con alcohol isopropílico y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con alcohol isopropílico y mezclar.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Mebendazol SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 90 ml de cloroformo, 7 ml de alcohol isopropílico y 2 ml de ácido fórmico al 96 %. Agitar hasta disolución, completar a volumen con alcohol isopropílico y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta

solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con alcohol isopropílico y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 5 µg por ml.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Suspensión Oral de Mebendazol, equivalente a 1 g de mebendazol, a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con ácido fórmico al 96 % y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta mezcla a un matraz aforado de 100 ml, agregar 40 ml de ácido fórmico al 96 % y calentar en un baño de agua a 50 °C durante 15 minutos. Enfriar, completar a volumen con agua, mezclar y filtrar. Transferir 10,0 ml del filtrado a una ampolla de decantación de 250 ml, agregar 50 ml de agua y 50 ml de cloroformo. Agitar durante 2 minutos, permitir que las fases se separen y transferir la fase clorofórmica a una ampolla de decantación de 250 ml. Lavar la fase acuosa con dos porciones de 10 ml de cloroformo, agregar los lavados clorofórmicos a la ampolla y descartar la fase acuosa. Lavar los extractos clorofórmicos combinados con una mezcla de 4 ml de ácido clorhídrico 1 N y 50 ml de una solución 1 en 10 de ácido fórmico al 96 % en agua y transferir la fase clorofórmica a un matraz aforado de 100 ml. Extraer los lavados acuosos con dos porciones de 10 ml de cloroformo, agregar estos extractos clorofórmicos al matraz aforado, agregar 2 ml de ácido fórmico al 96 %, 7 ml de alcohol isopropílico, completar a volumen con cloroformo y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a otro matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con alcohol isopropílico y mezclar.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra* en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, 247 nm, con un espectrofotómetro apropiado empleando la *Solución blanco* para llevar a cero la lectura del instrumento. Calcular la cantidad de $C_{16}H_{13}N_3O_3$ en la Suspensión Oral de Mebendazol, de acuerdo a la cantidad declarada.

MEDROXIPROGESTERONA, ACETATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Acetato de Medroxiprogesterona deben contener no menos de 93,0 por ciento y no más de 107,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{24}H_{34}O_4$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Acetato de Medroxiprogesterona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Pesar una cantidad equivalente a 25 mg de acetato de medroxiprogesterona a partir del polvo fino obtenido en *Preparación muestra* en *Valoración*. Suspender con 15 ml de cloroformo, filtrar, evaporar el cloroformo en un baño de vapor y secar el residuo a 105 °C durante 3 horas: el residuo obtenido debe responder al *Ensayo de identificación A* en *Acetato de Medroxiprogesterona*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: lauril sulfato de sodio al 0,5 %; 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso y determinar la cantidad de $C_{24}H_{34}O_4$ disuelta, mediante la técnica empleada en *Uniformidad de unidades de dosificación*.

Tolerancia - No menos de 50 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{24}H_{34}O_4$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para la uniformidad de contenido.

Diluyente - Alcohol y agua (3:1).

Solución estándar - Disolver una porción exactamente pesada de Acetato de Medroxiprogesterona SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 15 µg por ml.

Solución muestra - Transferir un Comprimido de Acetato de Medroxiprogesterona a un matraz aforado de capacidad apropiada, diluir a volumen con *Diluyente* y agitar durante aproximadamente 15 minutos.

Filtrar y diluir cuantitativamente una porción del filtrado según sea necesario para obtener una solución de aproximadamente 15 µg por ml.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y la *Solución estándar* en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, 242 nm. Calcular la cantidad de $C_{24}H_{34}O_4$ cada Comprimido de Acetato de Medroxiprogesterona, en base a la cantidad declarada.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Acetato de Medroxiprogesterona*.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Acetato de Medroxiprogesterona. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 25 mg de acetato de medroxiprogesterona, transferir a un tubo de centrifuga de vidrio de 50 ml. Agregar 25 ml de acetonitrilo, agitar para humedecer el polvo completamente, sonicar durante no menos de 10 minutos y centrifugar. Emplear el líquido sobrenadante transparente.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración en Acetato de Medroxiprogesterona*. Calcular la cantidad de $C_{24}H_{34}O_4$ en los Comprimidos de Acetato de Medroxiprogesterona, de acuerdo a la cantidad declarada.

MEDROXIPROGESTERONA, ACETATO DE SUSPENSIÓN INYECTABLE

Definición - La Suspensión Inyectable de Acetato de Medroxiprogesterona es una suspensión estéril de *Acetato de Medroxiprogesterona* en un medio acuoso apropiado. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{24}H_{34}O_4$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Acetato de Medroxiprogesterona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis o multidosis, de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

A - Transferir un volumen de Suspensión Inyectable de Acetato de Medroxiprogesterona, equivalente a 50 mg de acetato de medroxiprogesterona, a un tubo de centrífuga. Centrifugar, decantar el líquido sobrenadante y lavar el sólido con dos porciones de 15 ml de agua, descartando los lavados acuosos. Disolver los sólidos en 10 ml de cloroformo, transferir a un vaso de precipitados pequeño, evaporar el cloroformo en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 3 horas: el residuo obtenido debe responder al ensayo de *Identificación A* en *Acetato de Medroxiprogesterona*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 3,0 y 7,0.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm × 2 mm con fase estacionaria constituida por

partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Mezclar 700 ml de cloruro de *n*-butilo, 300 ml de hexano, ambos previamente saturados con agua y 80 ml de acetonitrilo. Filtrar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución del estándar interno - Preparar una solución de *Progesterona* en *Fase móvil* de aproximadamente 0,25 mg por ml.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 8 mg de Acetato de Medroxiprogesterona SR-FA, disolver en 20,0 ml de *Solución del estándar interno*.

Preparación muestra - Transferir a un recipiente apropiado un volumen exactamente medido de Suspensión Inyectable de Acetato de Medroxiprogesterona, equivalente a 50 mg de acetato de medroxiprogesterona. Agregar 25 ml de cloroformo, agitar durante aproximadamente 20 minutos y centrifugar. Transferir 4 ml de la fase clorofórmica a un recipiente apropiado y evaporar hasta sequedad. Disolver el residuo en 20,0 ml de *Solución del estándar interno*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de progesterona y medroxiprogesterona no debe ser menor de 5,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{24}H_{34}O_4$ en la Suspensión Inyectable de Acetato de Medroxiprogesterona, de acuerdo a la cantidad declarada.

MEGESTROL, ACETATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Acetato de Megestrol deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{24}H_{32}O_4$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Acetato de Megestrol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460> *En fase sólida*

Triturar una cantidad apropiada de los Comprimidos de Acetato de Megestrol en un volumen no menor de 10 ml de cloroformo para obtener una solución de aproximadamente 4 mg de acetato de megestrol por ml. Filtrar y transferir 0,6 ml del filtrado a un recipiente de acero inoxidable apropiado para molienda que contenga 500 mg de bromuro de potasio, secar, moler y granular: el espectro de absorción infrarroja de una dispersión en bromuro de potasio de la muestra así obtenida debe presentar máximos solo a las mismas longitudes de onda que el de una solución preparada del mismo modo a partir de Acetato de Megestrol SR-FA.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 75 rpm.

Medio: lauril sulfato de sodio al 1 %; 900 ml.

Tiempo: 60 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{24}H_{32}O_4$ disuelta a partir de las absorbancias medidas en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 292 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Acetato de Megestrol SRFA.

Tolerancia - No menos de 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{24}H_{32}O_4$ se debe disolver en 60 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Acetato de Megestrol SR-FA, agregar metanol en caliente hasta obtener una solución de aproximadamente 10 µg por ml.

Solución muestra - Transferir un Comprimido de Acetato de Megestrol a un matraz aforado apropiado para obtener una solución cuya concentración final entre 0,2 y 1,0 mg de acetato de megestrol por ml. Agregar 1 ml de agua y agitar hasta que el comprimido se desintegre. Agregar metanol hasta tres cuartas partes del volumen del matraz y agitar durante 20 minutos. Completar a volumen con metanol, mezclar, filtrar y descartar los primeros 15 ml del filtrado. Diluir 5,0 ml del filtrado con metanol hasta obtener una solución de aproximadamente 10 µg de acetato de megestrol por ml.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y la *Solución estándar* en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, 288 nm, con un espectrofotómetro, empleando metanol como blanco y realizando el barrido desde 350 nm a 260 nm. Calcular la cantidad de $C_{24}H_{32}O_4$ en el Comprimido de Acetato de Megestrol.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Diluyente, Solución del estándar interno y Preparación estándar - Proceder según se indica en *Valoración* en *Acetato de Megestrol*.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Acetato de Megestrol. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 80 mg de acetato de megestrol, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 10 ml de agua y agitar durante 10 minutos. Agregar 75 ml de agua, agitar durante 30 minutos y completar a volumen con acetonitrilo y mezclar. Transferir 25 ml a un tubo de centrifuga con tapón de vidrio, tapar y centrifugar durante 10 minutos. Transferir 5,0 ml del sobrenadante y 5,0 ml de la *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* en *Valoración* en *Acetato de Megestrol*. Calcular la cantidad de $C_{24}H_{32}O_4$ en los Comprimidos de Acetato de Megestrol, de acuerdo a la cantidad declarada.

MELFALÁN

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Melfalán deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{13}H_{18}Cl_2N_2O_2$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Melfalán SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de vidrio bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Pesar una cantidad equivalente a 2 mg de melfalán a partir del polvo fino obtenido en *Preparación muestra* en *Valoración*. Mezclar con 20 ml de alcohol y filtrar: 1 ml de esta solución debe responder al *Ensayo de Identificación B* en *Melfalán*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,1 N; 900 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{13}H_{18}Cl_2N_2O_2$ disuelta, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Clorhidrato de Melfalán SR-FA en el mismo medio, empleando la técnica siguiente.

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm, una columna de 5 cm x 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas de sílice totalmente porosas, de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, acetonitrilo, acetato de amonio, ácido acético glacial y trietilamina (1.500:500:2:2:0,4). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedi-*

miento: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 3,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 μ l) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales.

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{13}H_{18}Cl_2N_2O_2$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Melfalán SR-FA en alcohol y diluir hasta obtener una solución de aproximadamente 10 μ g por ml.

Solución muestra - Transferir un Comprimido de Melfalán a un matraz aforado de 200 ml, agregar 10 ml de agua y 10 ml de alcohol, sonicar hasta disolver completamente. Completar a volumen con alcohol, mezclar y filtrar.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y la *Solución estándar* en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, 260 nm, empleando alcohol como blanco. Calcular la cantidad de $C_{13}H_{18}Cl_2N_2O_2$ en cada Comprimido de Melfalán.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm x 4,2 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas de sílice totalmente porosas, de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Diluyente - Agua y metanol (1:1).

Fase móvil - Preparar una solución de dietilamina en *Diluyente* 0,025 M. Ajustar a pH 5,5 con ácido clorhídrico 3,5 N. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Melfalán SR-FA en alcohol y diluir en el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 0,9 mg de clorhidrato de melfalán por ml. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz aforado de

100 ml que contenga 75 ml de alcohol y 2,0 ml de ácido acético glacial, completar a volumen con alcohol y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 90 µg de Clorhidrato de Melfalán SR-FA por ml (equivalente aproximadamente a 80 µg de melfalán por ml).

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Melfalán. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 8 mg de melfalán anhidro y transferir a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 75 ml de alcohol y 2,0 ml de ácido acético glacial, sonicar durante 15 minutos, completar a volumen con alcohol y mezclar. Filtrar a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media y descartar los primeros mililitros del filtrado.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente entre 10 y 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{13}H_{18}Cl_2N_2O_2$ en los Comprimidos de Melfalán, de acuerdo a la cantidad declarada.

MENADIONA

SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Menadiona es una solución estéril de *Menadiona* en aceite. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 120,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{11}H_8O_2$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Menadiona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis o multidosis, de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

Absorción ultravioleta <460>. Examinar los espectros de absorción ultravioleta obtenidos en *Valoración*. El espectro de absorción ultravioleta obtenido a partir de la *Preparación muestra* debe presentar máximos y mínimos a las mismas longitudes de onda que la *Preparación estándar*.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 58,3 Unidades de Endotoxina por mg de menadiona.

Ensayo de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

[NOTA: evitar la exposición a la luz de la *Menadiona* y de las soluciones preparadas en *Valoración*].

Diluyente - Alcohol y éter (50:50).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Menadiona SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en *Diluyente*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Almacenar la *Preparación estándar* en un sitio bien cerrado, frío y oscuro. [NOTA: usar dentro de los 7 días de preparada].

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Menadiona, equivalente aproximadamente a 25 mg de menadiona, a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Procedimiento - Transferir 1,0 ml de la *Preparación estándar* y 1,0 ml de la *Preparación*

muestra a sendos matraces aforados de 50 ml, agregar a cada uno 4,0 ml de alcohol y mezclar. Luego agregar a cada matraz 1,0 ml de una solución preparada disolviendo 50 mg de 2,4-dinitrofenilhidrazina en 20 ml de una mezcla de 2 volúmenes de ácido clorhídrico 3 N y 1 volumen de agua. Colocar los matraces en un baño de agua entre 70 y 75°C durante 15 minutos, agitando aproximadamente cada 3 minutos. Inmediatamente después, enfriar los matraces aproximadamente a 25°C, luego agregar 5 ml de una mezcla de volúmenes iguales de alcohol e hidróxido de amonio. Agitar, completar a volumen con alcohol, mezclar, dejar reposar durante 15 minutos y descartar cualquier resto de fase oleosa. Determinar las absorbancias de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra* en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, 635 nm, con un espectrofotómetro, empleando un blanco de reactivo apropiado. Calcular la cantidad de $C_{11}H_8O_2$ en la Solución Inyectable de Menadiona, de acuerdo a la cantidad declarada.

METFORMINA, CLORHIDRATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Clorhidrato de Metformina deben contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_4H_{11}N_5 \cdot HCl$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Metformina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Pesar una cantidad equivalente a 20 mg de clorhidrato de metformina a partir del polvo fino obtenido en *Preparación muestra* en *Valoración*. Transferir a un matraz, agregar 20 ml de alcohol absoluto y mezclar. Filtrar, evaporar el filtrado hasta sequedad y secar el residuo a 105 °C durante aproximadamente 1 hora: el espectro de absorción infrarroja se debe corresponder con el obtenido con una solución preparada del mismo modo empleando Clorhidrato de Metformina SR-FA.

B - Pesar una cantidad equivalente a 50 mg de clorhidrato de metformina a partir del polvo fino obtenido en *Valoración*. Suspender con 10 ml de agua y filtrar. A 5 ml del filtrado agregar 1,5 ml de hidróxido de sodio 5 N, 1 ml de solución de 1-naftol (SR) y agregar gota a gota con agitación 0,5 ml de hipoclorito de sodio (SR): cuando se deja reposar en la oscuridad se debe producir un color rojo anaranjado.

C - Pesar una cantidad equivalente a 50 mg de clorhidrato de metformina a partir del polvo fino obtenido en *Valoración*. Suspender con 10 ml de agua y filtrar: el filtrado debe responder al ensayo para *Cloruro* <410>.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: solución de fosfato monobásico de potasio al 0,68 % ajustada a pH 6,8 con hidróxido de sodio 1 N; 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con agua, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_4H_{11}N_5 \cdot HCl$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 233 nm, comparando con una *Solución*

estándar de concentración conocida de Clorhidrato de Metformina SR-FA.

Tolerancia - No menos de 70 % (Q) de la cantidad declarada de $C_4H_{11}N_5 \cdot HCl$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación
<740>

Debe cumplir con los requisitos.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 218 nm y una columna de 12,5 cm × 4,7 mm con fase estacionaria constituida por grupos de ácido bencenosulfónico químicamente unidos a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Solución de fosfato monobásico de amonio al 1,7 % ajustada a pH 3,0 con ácido fosfórico. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*)

Solución muestra - Pesar una cantidad equivalente a 500 mg de clorhidrato de metformina a partir del polvo fino obtenido en *Valoración*. Transferir a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Solución estándar A - Disolver 20 mg de cianoguanidina en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 200 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Solución estándar B - Transferir 1 ml de la *Solución muestra* a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con *Fase móvil*. Transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 20 ml y completar a volumen con el mismo solvente.

Solución de resolución - Disolver 10 mg de melamina en aproximadamente 90 ml de agua, agregar 5 ml de la *Solución muestra* y diluir a 100 ml con agua. Transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de melamina y clorhidrato de metformina no debe ser menor de 10,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución muestra*, la *Solución estándar A*, la *Solución estándar B* y la *Solución de resolución*, registrar los cromatogramas durante dos veces el tiempo de retención del clorhidrato de

metformina y medir las respuestas de todos los picos. A excepción del pico correspondiente a la cianoguanidina en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, ningún pico debe ser mayor que la respuesta del pico principal obtenida con la *Solución estándar A* (0,02 %); a excepción del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* la respuesta de ningún pico debe ser mayor que la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar B* (0,1 %).

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Clorhidrato de Metformina. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 100 mg de clorhidrato de metformina. Transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 70 ml de agua y agitar durante aproximadamente 15 minutos. Completar a volumen con agua y filtrar, descartando los primeros 20 ml. Transferir 10 ml del filtrado a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua. Transferir 10 ml de esta solución a otro matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con el mismo solvente. Determinar la absorbancia de la solución resultante en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 232 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Clorhidrato de Metformina SR-FA.

METILDOPA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Metildopa deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{10}H_{13}NO_4$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Metildopa SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - A una porción de 10 mg del polvo fino obtenido a partir de la *Preparación muestra* en *Valoración*, agregar 3 gotas de una solución 1 en 250 de ninhidrina en ácido sulfúrico: se debe producir un color púrpura oscuro entre 5 y 10 minutos. Agregar 3 gotas de agua: el color debe cambiar a amarillo pardo pálido.

B - A 10 mg del polvo fino obtenido a partir de la *Preparación muestra* en *Valoración*, agregar 2 ml de ácido sulfúrico 0,1 N y 2 ml de *Solución de tartrato ferroso*, preparada según se indica en *Valoración*, luego agregar 0,25 ml de hidróxido de amonio 6 N y mezclar: se debe producir de inmediato color púrpura oscuro.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,1 N; 900 ml.

Tiempo: 20 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{10}H_{13}NO_4$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 280 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Metildopa SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{10}H_{13}NO_4$ se debe disolver en 20 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Solución de tartrato ferroso - Disolver 1,0 g de sulfato ferroso, 2,0 g de tartrato de sodio y potasio y 100 mg de bisulfito de sodio en agua para obtener 100 ml. [NOTA: preparar esta solución en el día de su uso].

Solución reguladora - Disolver 50 g de acetato de amonio en 1 litro de alcohol al 20 %. Ajustar a pH 8,5 con hidróxido de amonio 6 N.

Preparación estándar - Disolver una cantidad apropiada de Metildopa SR-FA en ácido sulfúrico 0,1 N para obtener una solución de aproximadamente 1 mg de metildopa anhidra por ml.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Metildopa. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 100 mg de metildopa, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 50 ml de ácido sulfúrico 0,1 N, agitar durante 15 minutos, completar a volumen con ácido sulfúrico 0,1 N y mezclar. Filtrar la solución descartando los primeros 20 ml del filtrado.

Procedimiento - Transferir 5 ml de la *Preparación muestra* y 5 ml de la *Preparación estándar* a sendos matraces aforados de 100 ml y a un tercer matraz aforado de 100 ml agregar 5 ml de agua para preparar un blanco. Agregar a cada matraz 5,0 ml de *Solución de tartrato ferroso* y completar a volumen con *Solución reguladora*. Determinar las absorbancias de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra* en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 520 nm, con un espectrofotómetro, empleando la solución contenida en el tercer matraz como blanco. Calcular la cantidad de $C_{10}H_{13}NO_4$ en los Comprimidos de Metildopa, de acuerdo a la cantidad declarada.

METOCLOPRAMIDA, CLORHIDRATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Clorhidrato de Metoclopramida deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de metoclopramida ($C_{14}H_{22}ClN_3O_2$) y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Metoclopramida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Pesar una cantidad equivalente a 50 mg de metoclopramida a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*, transferir a un recipiente apropiado y agregar 5 ml de agua. Agitar y filtrar. Agregar al filtrado 5 ml de una solución de *p*-dimetilaminobenzaldehído en ácido clorhídrico 1 N (1 en 100); se debe desarrollar un color de anaranjado a amarillo.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 50 rpm.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 309 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Clorhidrato de Metoclopramida SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 215 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 2,7 g de acetato de sodio en 500 ml de agua, agregar 500 ml de acetonitrilo y 2 ml de solución de hidróxido de tetrametilamonio en metanol (1 en 5) y mezclar. Ajustar a pH 6,5 con ácido acético glacial. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación madre del estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Metoclopramida SR-FA en ácido fosfórico 0,01 M para obtener una solución de aproximadamente 0,9 mg de clorhidrato de metoclopramida anhidra por ml.

Preparación estándar - Diluir la *Preparación madre del estándar* con ácido fosfórico 0,01 M para obtener una solución de aproximadamente 45 μg de clorhidrato de metoclopramida por ml, equivalente a 40 μg de metoclopramida anhidra por ml.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Clorhidrato de Metoclopramida. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 40 mg de clorhidrato de metoclopramida, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar aproximadamente 70 ml de ácido fosfórico y sonicar durante 5 minutos. Dejar reposar hasta alcanzar temperatura ambiente, completar a volumen con ácido fosfórico 0,01 M y mezclar.

Solución de Aptitud del Sistema - Pesar alrededor de 12,5 mg de bencenosulfonamida, transferir a un matraz aforado de 25 ml, agregar 15 ml de metanol, agitar hasta disolución, completar a volumen con ácido fosfórico 0,01 M y mezclar. Transferir 5 ml de esta solución y 5 ml de la *Preparación madre del estándar* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de Aptitud del Sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,7 para bencenosulfonamida y 1,0 para metoclopramida; la resolución *R* entre los picos de bencenosulfonamida y metoclopramida no debe ser menor de 1,5. Cromatografía

tografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$ en los Comprimidos de Clorhidrato de Metoclopramida, de acuerdo a la cantidad declarada.

METOCLOPRAMIDA, CLORHIDRATO DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Clorhidrato de Metoclopramida es una solución estéril de *Clorhidrato de Metoclopramida en Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de Metoclopramida ($C_{14}H_{22}ClN_3O_2$) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Metoclopramida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos monodosis o multidosis, vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

B - Mezclar un volumen de Solución Inyectable de Clorhidrato de Metoclopramida, equivalente a 50 mg de metoclopramida, con 5 ml de agua y 5 ml de una solución de *p*-dimetilaminobenzaldehído en ácido clorhídrico 1 N (1 en 100): se debe desarrollar un color amarillo anaranjado.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de pH <250>

Entre 2,5 y 6,5.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 2,5 Unidades de Endotoxina por mg de Metoclopramida.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 215 nm y una columna de 25 cm x 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El

caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 2,7 g de acetato de sodio en 500 ml de agua, agregar 500 ml de acetonitrilo, 2 ml de una solución de hidróxido de tetrametilamonio en metanol (1 en 5) y mezclar. Ajustar a pH 6,5 con ácido acético glacial. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de aptitud del sistema - Pesar exactamente alrededor de 12,5 mg de bencenosulfonamida, transferir a un matraz aforado de 25 ml, agregar 15 ml de metanol y agitar hasta disolver. Completar a volumen con ácido fosfórico 0,01 M y mezclar. Transferir 5 ml de esta solución y 5 ml de la *Preparación madre del estándar*, a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con ácido fosfórico 0,01 M y mezclar.

Preparación madre del estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Metoclopramida SR-FA en ácido fosfórico 0,01 M para obtener una solución de aproximadamente 0,9 mg de Clorhidrato de Metoclopramida en base anhidra por ml.

Preparación estándar - Diluir un volumen de la *Preparación madre del estándar* con ácido fosfórico 0,01 M para obtener una solución de aproximadamente 45 μ g de Clorhidrato de Metoclopramida SR-FA, en base anhidra, por ml (equivalente aproximadamente a 40 μ g de metoclopramida anhidra por ml).

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Clorhidrato de Metoclopramida, equivalente aproximadamente a 40 mg de metoclopramida, a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con ácido fosfórico 0,01 M y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con ácido fosfórico 0,01 M y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,7 para bencenosulfonamida y 1,0 para Metoclopramida; la resolución *R* entre los picos de bencenosulfonamida y metoclopramida no debe ser menor de 1,5. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría para el pico correspondiente a metoclopramida no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2%.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente

20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$ en la Solución Inyectable de Clorhidrato de Metoclopramida, de acuerdo a la cantidad declarada.

METOCLOPRAMIDA, CLORHIDRATO DE SOLUCIÓN ORAL

Definición - La Solución Oral de Clorhidrato de Metoclopramida debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de Metoclopramida ($C_{14}H_{22}ClN_3O_2$) y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Metoclopramida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 2,0 y 5,5.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Proceder según se indica en *Valoración en Solución Inyectable de Clorhidrato de Metoclopramida*.

Fase móvil - Disolver 2,7 g de acetato de sodio en 600 ml de agua, agregar 400 ml de acetonitrilo, 4 ml de una solución de hidróxido de tetrametilamonio en metanol 25 % y mezclar. Ajustar a pH 6,5 con ácido acético glacial. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Diluyente - Ácido fosfórico 0,01 M.

Preparación madre del estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Metoclopramida SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 9 mg de clorhidrato de metoclopramida por ml.

Preparación estándar - Transferir 5,0 ml de la *Preparación madre del estándar* a un matraz aforado de 250 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 180 µg de Clorhidrato de Metocloprami-

da SR-FA en base anhidra (equivalente a 160 µg de metoclopramida) por ml.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Oral de Clorhidrato de Metoclopramida, equivalente a 4 mg de metoclopramida, a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Solución de aptitud del sistema - Transferir alrededor de 125 mg de bencenosulfonamida a un matraz aforado de 25 ml, agregar 15 ml de metanol y agitar hasta disolución. Completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Transferir 15 ml de esta solución y 5 ml de la *Preparación madre del estándar* a un matraz aforado de 250 ml, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Solución Inyectable de Clorhidrato de Metoclopramida*. Los tiempos de retención relativa deben ser aproximadamente 0,2 para bencenosulfonamida y 1,0 para metoclopramida.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$ en la Solución Oral de Metoclopramida, de acuerdo a la cantidad declarada.

METOTREXATO

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Metotrexato deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{20}H_{22}N_8O_5$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Metotrexato SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Disolver un Comprimido de Metotrexato en 100 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 100) y filtrar: el espectro de absorción ultravioleta de la solución obtenida debe presentar máximos y mínimos a las mismas longitudes de onda que el de una solución que contenga 2,5 mg de Metotrexato SR-FA en 100 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 100).

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,1 N; 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{20}H_{22}N_8O_5$ disuelta a partir de las absorbancias medidas en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 306 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Metotrexato SRFA.

Tolerancia - No menos de 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{20}H_{22}N_8O_5$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución reguladora de pH 6,0, Preparación estándar, Solu-

ción de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Metotrexato*.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Metotrexato. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 25 mg de metotrexato y transferir a un matraz aforado de 250 ml. Agregar aproximadamente 200 ml de *Fase móvil*, sonicar y agitar. Completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración en Metotrexato*. Calcular la cantidad de $C_{20}H_{22}N_8O_5$ en los Comprimidos de Metotrexato, de acuerdo a la cantidad declarada.

METOTREXATO

PARA INYECCIÓN

Definición - Metotrexato para Inyección es una preparación estéril y liofilizada de metotrexato sódico. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 115,0 por ciento de la cantidad declarada de metotrexato ($C_{20}H_{22}N_8O_5$) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Metotrexato SR-FA.

Precaución - Evitar la inhalación y la exposición a la piel de partículas de Metotrexato.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

A - Disolver una cantidad de Metotrexato para Inyección en agua para obtener una solución de aproximadamente 2,5 mg por ml. Ajustar a pH 4,0 con ácido clorhídrico 0,1 N. Colocar la suspensión en un tubo de centrífuga de 50 ml y centrifugar. Descartar el sobrenadante, agregar 25 ml de acetona, agitar y filtrar. Dejar secar al aire el precipitado: el metotrexato así obtenido debe responder al ensayo de *Identificación A* en *Metotrexato*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Aspecto de la solución reconstituida

Reconstituir el Metotrexato para Inyección según se indica en el rótulo. La solución reconstituida debe cumplir con los requisitos en 280. *Disolución completa* y estar libre de partículas extrañas cuando se realiza una inspección visual.

Determinación del pH <250>

Entre 7,0 y 9,0; determinado sobre una solución reconstituida según se indica en el rótulo, excepto que se debe emplear agua como diluyente.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 0,4 Unidades de Endotoxina por mg de metotrexato sódico.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Solución reguladora de pH 6,0, Fase móvil, Preparación estándar, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Metotrexato*.

Preparación muestra - Disolver el contenido de un envase de Metotrexato para Inyección en un volumen exactamente medido de *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración en Metotrexato*. Calcular la cantidad de $C_{20}H_{22}N_8O_5$ en Metotrexato para Inyección, de acuerdo a la cantidad declarada.

METRONIDAZOL

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Metronidazol deben contener no menos del 90,0 por ciento y no más del 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_6H_9N_3O_3$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Metronidazol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Pesar una cantidad de los Comprimidos de Metronidazol reducidos a polvo fino, equivalente a 300 mg de metronidazol, agregar 20 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 100), agitar durante varios minutos y filtrar: alícuotas apropiadas del filtrado deben responder al ensayo de *Identificación B* en *Metronidazol*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,1 N; 900 ml.

Tiempo: 60 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad disuelta de $C_6H_9N_3O_3$ a partir de las absorbancias en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, a 278 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Metronidazol SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 85 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_6H_9N_3O_3$ se debe disolver en 60 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido

Diluyente - Ácido clorhídrico diluido (1 en 100).

Solución muestra - Transferir un Comprimido de Metronidazol a un matraz aforado de 250 ml, agregar aproximadamente 100 ml de *Diluyente* y agitar durante 30 minutos. Completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Filtrar, descartando los

primeros 15 ml del filtrado. Diluir el filtrado con *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,2 mg de Metronidazol por ml. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen *Diluyente* y mezclar.

Solución estándar - Preparar de modo similar a la *Solución muestra* una solución de Metronidazol SR-FA de aproximadamente 20 µg por ml.

Procedimiento - Determinar la absorbancia de la *Solución muestra* y la *Solución estándar* en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorción, a 278 nm, con un espectrofotómetro, empleando *Diluyente* como blanco. Calcular la cantidad de $C_6H_9N_3O_3$ en cada Comprimidos de Metronidazol en ensayo, en base a la cantidad declarada.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 15 cm x 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua y metanol (80:20). Filtrar y degasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Metronidazol SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,5 mg por ml.

Preparación muestra - Transferir diez Comprimidos de Metronidazol, enteros o molidos, a un matraz aforado de modo que al diluirlos con metanol se obtenga una solución de aproximadamente 10 mg por ml. Agregar metanol y agitar durante 30 minutos o hasta que los Comprimidos de Metronidazol se desintegren. Completar a volumen con metanol y dejar reposar la solución hasta que el material insoluble sedimente. Transferir 5,0 ml del líquido sobrenadante transparente a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil*, mezclar y filtrar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar la respuesta de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser

mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos. Calcular la cantidad de $C_6H_9N_3O_3$ en los Comprimidos de Metronidazol, de acuerdo a la cantidad declarada.

METRONIDAZOL

GEL TÓPICO

Definición - El Gel Tópico de Metronidazol debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_6H_9N_3O_3$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Metronidazol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica:

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol e hidróxido de amonio (6:3:1).

Solución muestra - Transferir una cantidad exactamente pesada del Gel Tópico de Metronidazol, equivalente a 7,5 mg de metronidazol, a un erlenmeyer apropiado, agregar 15 ml de agua, agitar hasta dispersar y sonicar durante 10 minutos. Eluir una porción de esta solución a través de una columna cromatográfica con resina de intercambio iónico de 10 cm de longitud, empleando una torunda de lana de vidrio al inicio y al final de la columna. Recolectar el eluato en un recipiente apropiado.

Solución estándar - Preparar una solución de aproximadamente 0,5 mg de Metronidazol SR-FA por ml.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 5 μ l de la *Solución muestra* y 5 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Examinar los cromatogramas: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación del contenido neto del envase
<220>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH<250>

Entre 4,0 y 6,5.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración tópica.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas de sílice totalmente porosas, de 5 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 1,5 g de fosfato monobásico de potasio y 1,3 g de fosfato dibásico de sodio en 350 ml de agua, agregar 650 ml de metanol y mezclar. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Metronidazol SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 0,075 mg por ml.

Preparación muestra - Transferir una cantidad exactamente pesada del Gel Tópico de Metronidazol, equivalente a 7,5 mg de metronidazol, a un matraz aforado de 100 ml, agregar 50 ml de *Fase móvil* y agitar durante 20 minutos. Completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Centrifugar y emplear el sobrenadante.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría para el pico analizado no debe ser menor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_6H_9N_3O_3$ en el Gel Tópico de Metronidazol.

METRONIDAZOL

ÓVULOS VAGINALES

Definición - Los Óvulos Vaginales de Metronidazol deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_6H_9N_3O_3$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Metronidazol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción ultravioleta <470>.

Diluyente 1 - Solución de ácido clorhídrico (1:100).

Diluyente 2 - Solución de ácido sulfúrico en metanol (1:350).

Solución estándar - Pesar una exactamente alrededor de 10 mg de Metronidazol SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, agregar 1 ml de *Diluyente 1*, disolver y completar a volumen con *Diluyente 2*, para obtener una solución de aproximadamente 20 µg por de metronidazol por ml.

Solución muestra - Pesar una cantidad equivalente a 250 mg de metronidazol a partir de la porción triturada obtenida en *Valoración*, transferir a un matraz aforado de 25 ml, agregar 15 ml de *Diluyente 1*, calentar hasta disolución, enfriar, completar a volumen con el mismo solvente, mezclar y filtrar. Diluir una porción del filtrado con *Diluyente 2* para obtener una solución similar a la *Solución estándar*.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y la *Solución estándar* en celdas de 1 cm, empleando *Diluyente 2* como blanco. La *Solución muestra* debe presentar máximos y mínimos a las mismas longitudes de onda que la *Solución estándar*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Sustancias relacionadas*. El valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, dimetilformamida y solución de ácido fórmico al 90 % v/v (16:4:1).

Diluyente - Cloroformo y metanol (1:1).

Solución de 2-metil-5-nitroimidazol A - Preparar una solución de 2-metil-5-nitroimidazol en *Diluyente* de aproximadamente 200 µg por ml.

Solución de 2-metil-5-nitroimidazol B - Preparar una solución de 2-metil-5-nitroimidazol en *Diluyente* de aproximadamente 80 µg por ml.

Solución estándar - Preparar una solución de Metronidazol SR-FA en *Diluyente* de aproximadamente 40 mg de metronidazol por ml.

Solución muestra - Pesar una cantidad equivalente a 1,0 mg de metronidazol a partir de la porción triturada obtenida en *Valoración*, transferir a un vaso de precipitados de 100 ml, fundir, dejar enfriar, agregar 50 ml de éter de petróleo con un intervalo de destilación entre 40 y 60 °C, calentar en un baño de agua hasta disolución completa, filtrar y lavar el residuo con el mismo solvente, secar y disolver el residuo con *Diluyente*.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 20 µl de la *Solución estándar*, 20 µl de la *Solución muestra* y 20 µl de las *Soluciones A* y *B* de 2-metil-5-nitroimidazol. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Examinar la placa bajo luz ultravioleta, a 254 nm: la mancha correspondiente a 2-metil-5-nitroimidazol y no más de dos manchas, diferentes a la principal, obtenidas a partir de la *Solución muestra* no deben ser mayor en tamaño e intensidad que la mancha obtenida con la *Solución de 2-metil-5-nitroimidazol A*. Ignorar cualquier mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* que sea de menor tamaño e intensidad que la obtenida en el cromatograma a partir de la *Solución 2-metil-5-nitroimidazol B*.

Fusión

Proceder según se indica en 400. *Ensayos farmacotécnicos para supositorios*. El tiempo de fusión de los Óvulos Vaginales de Metronidazol no debe ser mayor de 15 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Pesar y triturar no menos de veinte Óvulos Vaginales de Metronidazol. Pesar una cantidad equivalente a 250 mg de metronidazol, transferir a un erlenmeyer, fundir con calentamiento suave y constante agitación. Agregar 60 ml de ácido acético glacial previamente neutralizado con ácido perclórico 0,1 N, agregar *p*-naftolbenceína (SR) y calentar a 30 °C durante

30 minutos, agitar durante 5 minutos y enfriar. Agregar 0,5 ml de *p*-naftolbenceína (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N en ácido acético (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 17,12 mg de metronidazol.

METRONIDAZOL

SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Metronidazol es una solución estéril, isotónica de *Metronidazol en Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_6H_9N_3O_3$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia -
Metronidazol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos monodosis de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver *100. Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol, agua e hidróxido de amonio (70:28:4:2).

Solución estándar - Preparar una solución de Metronidazol SR-FA de aproximadamente 0,025 mg por ml.

Solución muestra - Emplear un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Metronidazol que contenga aproximadamente 0,025 mg de metronidazol por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de *Solución estándar* y 10 μ l de *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal obtenida a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 7,0.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 0,35 Unidades de Endotoxina por mg de Metronidazol.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 320 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 0,68 g de fosfato monobásico de potasio en 930 ml de agua y agregar 70 ml de metanol. Filtrar y desgasificar. Ajustar a pH $4,0 \pm 0,5$ con ácido fosfórico 1 M. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en *100. Cromatografía*).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Metronidazol SR-FA, transferir a un matraz aforado de 25 ml, disolver en metanol, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Transferir 2,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml, agregar 2 ml de agua, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Metronidazol, equivalente a 25 mg de metronidazol, a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 2,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml, agregar 2 ml de metanol, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver *100. Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_6H_9N_3O_3$ en la Solución Inyectable de Metronidazol, de acuerdo a la cantidad declarada.

METRONIDAZOL, BENZOATO DE SUSPENSIÓN ORAL

Definición - La Suspensión Oral de Benzoato de Metronidazol debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de metronidazol ($C_6H_9N_3O_3$) en un vehículo apropiado y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Benzoato de Metronidazol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los espectros obtenidos en *Valoración*. El espectro ultravioleta obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver *100. Cromatografía*) recubierta con gel de sílice con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Benceno y metanol (70:30).

Diluyente - Acetona y metanol (1:1).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Benzoato de Metronidazol SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 1,25 mg de metronidazol por ml.

Solución muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Suspensión Oral de Benzoato de Metronidazol previamente agitada, equivalente a 125 mg de metronidazol, a un matraz aforado de 100 ml, agregar 50 ml de *Diluyente*, agitar durante 15 minutos, completar a volumen con el mismo solvente, mezclar y filtrar.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 100 μ l de la *Solución estándar* y 100 μ l de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Examinar los cromatogramas bajo luz ultravioleta, a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Uniformidad de unidades de dosificación
<740>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 7,0.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Preparación estándar - Pesar exactamente una cantidad de Benzoato de Metronidazol SR-FA, equivalente a 12,5 mg de metronidazol. Transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver, completar a volumen con metanol y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con metanol y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 12,5 μ g de metronidazol por ml.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Suspensión Oral de Benzoato de Metronidazol previamente agitada, equivalente a 125 mg de metronidazol, a un matraz aforado de 100 ml, agregar 70 ml de metanol, agitar durante 15 minutos, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Transferir un volumen de esta solución a un tubo de centrifuga y centrifugar durante 10 minutos. Transferir 1,0 ml del sobrenadante a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con metanol y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* a la longitud de onda de máxima absorción, 310 nm, empleando metanol como blanco. Calcular la cantidad de metronidazol ($C_6H_9N_3O_3$) en la Suspensión Oral de Benzoato de Metronidazol, de acuerdo a la cantidad declarada.

MICONAZOL, NITRATO DE CREMA DÉRMICA

Definición - La Crema Dérmica de Nitrato de Miconazol debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{18}H_{14}Cl_4N_2O \cdot HNO_3$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Nitrato de Miconazol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Transferir aproximadamente 25 ml de la *Preparación muestra* obtenida en *Valoración* a un recipiente 50 ml y evaporar en baño de vapor hasta sequedad. Secar el residuo a 105°C durante 10 minutos.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación del contenido neto del envase <220>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos de administración tópica.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 225 nm y una columna de 25 cm x 4,6 mm con fase estacionaria constituida por grupos fenilo químicamente unidos a partículas de porositas sílice, de 5 a 10 µm de diámetro. Mantener la columna a 45°C. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución reguladora de pH 2,5 - Transferir 10 ml de trietilamina a un erlenmeyer, diluir a 1 litro con agua, ajustar con ácido fosfórico a pH 2,5 y mezclar.

Fase móvil - *Solución reguladora de pH 2,5*, metanol, acetonitrilo y tetrahidrofurano (8:5:4:3). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Nitrato de Miconazol SR-FA y ácido benzoico en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 0,28 mg de nitrato de miconazol y 0,02 mg de ácido benzoico por ml.

Preparación muestra - Transferir una cantidad exactamente pesada de la Crema Dérmica de Nitrato de Miconazol, equivalente a 14 mg de nitrato de miconazol, a un matraz aforado de 50 ml, disolver con *Fase móvil*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Sonicar hasta que la muestra se disperse completamente y mezclar. Dejar reposar hasta que alcance la temperatura ambiente, mezclar y filtrar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna para el pico de nitrato de miconazol no debe ser menor de 7.500 platos teóricos; la resolución *R* entre los picos de nitrato de miconazol y ácido benzoico no debe ser menor de 13; el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{18}H_{14}Cl_4N_2O \cdot HNO_3$ en la Crema Dérmica de Nitrato de Miconazol, de acuerdo a la cantidad declarada.

ROTULADO

Indicar en el rótulo cuando la Crema Dérmica de Nitrato de Miconazol este destinada para uso vaginal.

MORFINA, CLORHIDRATO DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Clorhidrato de Morfina es una solución estéril de *Clorhidrato de Morfina en Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 93,0 por ciento y no más de 107,0 por ciento de la cantidad declarada de Clorhidrato de Morfina $C_{17}H_{19}NO_3 \cdot HCl \cdot 3H_2O$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Morfina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos monodosis o multidosis, de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Absorción ultravioleta <470>

Solución muestra - Transferir un volumen de Solución Inyectable de Clorhidrato de Morfina, equivalente a 0,04 g de clorhidrato de morfina, a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Transferir 5 ml de la *Solución muestra* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Determinar el espectro de absorción de esta solución: debe presentar un máximo de absorbancia entre 283 y 287 nm. Transferir 5 ml de *Solución muestra* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con hidróxido de sodio (SR) y mezclar. Determinar el espectro de absorción: debe presentar un máximo de absorbancia entre 296 y 300 nm.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 2,5 y 5,0.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 285 nm y una columna de 25 cm x 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de aproximadamente 5 μ m de diámetro. Mantener la columna a 40°C. El caudal debe ajustarse de manera que el tiempo de retención de la Morfina sea de aproximadamente 10 minutos.

Fase móvil - Disolver 1,0 g de laurilsulfato de sodio en 500 ml de ácido fosfórico diluido (1 en 1000) y ajustar a pH 3,0 con hidróxido de sodio (SR). A 240 ml de esta solución agregar 70 ml de tetrahidrofurano y mezclar.

Solución del estándar interno - Preparar una solución de Clorhidrato de Etilerfina 1 en 500.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 0,025 g de Clorhidrato de Morfina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, agregar 10 ml de *Solución de estándar interno* y completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Clorhidrato de Morfina, equivalente aproximadamente a 0,08 g de clorhidrato de morfina, a un recipiente apropiado y diluir a 20 ml con agua. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, agregar exactamente 10 ml de *Solución de estándar interno*, completar a volumen con agua y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de morfina y estándar interno no debe ser menor de 3,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{17}H_{19}NO_3 \cdot HCl \cdot 3H_2O$ en la Solución Inyectable de Sulfato de Morfina, de acuerdo a la cantidad declarada.

NALIDÍXICO, ÁCIDO

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Ácido Nalidíxico deben contener no menos de 93,0 por ciento y no más de 107,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{12}H_{12}N_2O_3$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Ácido Nalidíxico SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 60 rpm.

Solución reguladora de pH 8,6 - Mezclar 2,3 volúmenes de hidróxido de sodio 0,2 N con 2,5 volúmenes de fosfato monobásico de potasio 0,2 M y 2,0 volúmenes de metanol, enfriar y mezclar con agua para obtener 10 volúmenes y ajustar a pH $8,60 \pm 0,05$, si fuera necesario, con hidróxido de sodio 1 N.

Medio: *Solución reguladora de pH 8,6*; 900 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con hidróxido de sodio 0,01 N, si fuera necesario, y determinar la cantidad disuelta de $C_{12}H_{12}N_2O_3$ a partir de las absorbancias en el ultravioleta medidas a la longitud de onda de máxima absorción, a 258 nm, en comparación con una *Solución estándar* de concentración conocida de Ácido Nalidíxico SR-FA en hidróxido de sodio 0,01 N, empleando como blanco una mezcla de *Medio* e hidróxido de sodio 0,01 N en las mismas proporciones que en las alícuotas en ensayo.

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{12}H_{12}N_2O_3$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm \times 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser de aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Preparar una solución de 784 mg de fosfato dibásico de potasio en 325 ml de agua. Agregar una solución de 2,62 g de bromuro de hexadeciltrimetilamonio en 350 ml de metanol. Agregar 325 ml de metanol y mezclar. Filtrar y desgasificar. Esta solución debe tener un pH de 10,0. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del Sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución del estándar interno - Preparar una solución de ácido sulfanílico en *Fase Móvil* de aproximadamente 0,8 mg por ml.

Preparación estándar - Preparar una solución de Ácido Nalidíxico SR-FA en metanol de aproximadamente 0,18 mg por ml. Transferir 5,0 ml de esta solución y 1,0 ml de *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Ácido Nalidíxico. Transferir una porción, exactamente pesada, equivalente aproximadamente a 150 mg de ácido nalidíxico, a un matraz aforado de 500 ml. Agregar 400 ml de metanol y someter a ultrasonido durante 70 minutos. Completar a volumen con metanol, mezclar y filtrar. Transferir 3,0 ml del filtrado transparente y 1,0 ml de la *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,7 para ácido sulfanílico y 1,0 para ácido nalidíxico; la resolución *R* entre el pico de ácido sulfanílico y el de ácido nalidíxico no debe ser menor de 1,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{12}H_{12}N_2O_3$ en los Comprimidos de Ácido Nalidíxico, de acuerdo a la cantidad declarada.

NALOXONA, CLORHIDRATO DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Clorhidrato de Naloxona es una solución estéril isotónica de *Clorhidrato de Naloxona en Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{19}H_{21}NO_4 \cdot HCl$. Puede contener conservantes apropiados y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Naloxona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos monodosis o multidosis de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Límite de 2,2'-bisnaloxona

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Diluyente, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución de cloruro férrico - Transferir 4 ml de cloruro férrico (SR) a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución de identificación - Disolver 10 mg de *Naloxona* en 100 ml de ácido clorhídrico 0,1 N. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y agregar 0,5 ml de la *Solución de cloruro férrico*. Calentar en un baño de vapor durante 10 minutos, enfriar, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución estándar - Transferir 2,0 ml de la *Preparación estándar*, preparada según se indica en *Valoración*, a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Solución muestra - Proceder según se indica en *Preparación muestra* en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 100 μ l) de la *Solución de identificación*, la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos de naloxona y 2,2'-bisnaloxona. Los tiempos de retención deben ser aproximadamente 2,8 para el dímero de naloxona y 1,0 para la naloxona. Calcular el porcentaje de 2,2'-bisnaloxona en la

porción de Solución Inyectable de Clorhidrato de Naloxona en ensayo: no debe contener más de 4,0 %.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 3,0 y 6,5.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 500 Unidades de Endotoxina por mg de Clorhidrato de Naloxona.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 229 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1 ml por minuto.

Fase móvil - Preparar una mezcla que contenga 1,36 g de 1-octanosulfonato de sodio, 1,0 g de cloruro de sodio, 580 ml de agua, 420 ml de metanol y 1,0 ml de ácido fosfórico. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en *Cromatografía*).

Diluyente - Pesar 150 mg de edetato disódico, transferir a un matraz aforado de 2 litros y agregar 0,9 ml de ácido clorhídrico. Completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Naloxona SR-FA en *Diluyente* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 10 μ g por ml.

Preparación muestra 1 (para soluciones inyectables cuyo rótulo indique que no contienen más de 100 μ g de clorhidrato de naloxona por ml) - Transferir un volumen exactamente medido de Solución Inyectable de Clorhidrato de Naloxona, equivalente a 100 μ g de clorhidrato de naloxona, a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Preparación muestra 2 (para soluciones inyectables cuyo rótulo indique que contienen más de 100 μ g de clorhidrato de naloxona por ml) - Transferir un volumen exactamente medido de Solución Inyectable de Clorhidrato de Naloxona, equivalente a 2 mg de clorhidrato de naloxona, a un

matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Solución de aptitud del sistema - Preparar una solución de aproximadamente 10 µg de Naloxona SR-FA y 1,25 µg de paracetamol por ml en *Diluyente*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,5 para el paracetamol y 1,0 para la naloxona; la resolución *R* entre los picos de paracetamol y naloxona no debe ser menor de 8,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas de la *Preparación estándar* no debe ser mayor de 1,5 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 100 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{19}H_{21}NO_4 \cdot HCl$ en la Solución Inyectable de Clorhidrato de Naloxona en ensayo, en base a la cantidad declarada.

NEOSTIGMINA, BROMURO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Bromuro de Neostigmina deben contener no menos de 93,0 por ciento y no más de 107,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{12}H_{19}BrN_2O_2$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Bromuro de Neostigmina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Pesar una cantidad equivalente a 300 mg de bromuro de neostigmina a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración* y transferir a una ampolla de decantación. Extraer con tres porciones de 10 ml de alcohol, filtrando después de cada extracción. Evaporar los filtrados combinados bajo una corriente de nitrógeno hasta sequedad. Disolver el residuo en 10 ml de agua, transferir a una ampolla de decantación de 125 ml con la ayuda de 5 ml de agua, realizar una extracción con 15 ml de éter y proseguir con los siguientes ensayos.

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Evaporar hasta sequedad 3 ml de la fase acuosa bajo una corriente de nitrógeno. Disolver el residuo en 1 ml de alcohol, calentando si fuera necesario. Agregar 5 ml de cloroformo, filtrar, evaporar hasta sequedad el filtrado bajo una corriente de nitrógeno y secar el residuo a 105 °C durante 30 minutos: el espectro de absorción infrarroja de una dispersión en bromuro de potasio del residuo de bromuro de neostigmina así obtenido debe presentar máximos sólo a las mismas longitudes de onda que el de una preparación similar de Bromuro de Neostigmina SR-FA.

B - Una porción de la fase acuosa debe responder a los ensayos para *Bromuro* <410>.

Ensayo de disolución <320>

Procedimiento para muestreo unificado

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: agua; 500 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y reunir en un recipiente apropiado. Transferir en sendas ampollas de decantación de 125 ml, 10,0 ml de la porción reunida y 10,0 ml de una *Solución estándar* con una

concentración conocida de Bromuro de Neostigmina SR-FA y 10,0 ml de agua para preparar un blanco. Proceder según se indica en *Procedimiento* en *Valoración*, comenzando donde dice: "Agregar 15 ml de una solución...".

Tolerancia - No menos de 75 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{12}H_{19}BrN_2O_2$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Preparación estándar - Pesar exactamente una cantidad de Bromuro de Neostigmina SR-FA, disolver en agua y diluir cuantitativamente y en etapas para obtener una solución de aproximadamente 40 µg por ml.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Bromuro de Neostigmina. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 50 mg de bromuro de neostigmina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar aproximadamente 50 ml de agua, agitar durante aproximadamente 30 minutos, completar a volumen con agua, mezclar y filtrar. Transferir 4 ml del filtrado transparente a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Transferir 10 ml de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* en sendas ampollas de decantación de 125 ml y tratar cada solución del siguiente modo. Agregar 15 ml de una solución preparada disolviendo 25 mg de hexanitrodifenilamina en cloruro de metileno para obtener 250 ml. Luego agregar 10 ml de hidróxido de sodio 5 N y agitar durante 30 segundos. Transferir la fase orgánica a un matraz aforado de 100 ml y extraer la fase acuosa con tres porciones de 15 ml de cloruro de metileno, transfiriendo los extractos a cada matraz respectivo. Completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Determinar las absorbancias de ambas soluciones en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorción, 420 nm, con un espectrofotómetro, empleando cloruro de metileno como blanco. Calcular la cantidad de $C_{12}H_{19}BrN_2O_2$ en los Comprimidos de Bromuro de Neostigmina, de acuerdo a la cantidad declarada.

NEOSTIGMINA, METILSULFATO DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Metilsulfato de Neostigmina es una solución estéril de *Metilsulfato de Neostigmina en Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{13}H_{22}N_2O_6S$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Metilsulfato de Neostigmina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos monodosis o multidosis, de vidrio Tipo I

ENSAYOS

Identificación

A - Proceder según se indica en *valoración*. El espectro de absorción ultravioleta obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Transferir un volumen de Solución Inyectable de Sulfato de Neostigmina, equivalente a 1 mg de metilsulfato de neostigmina, a una cápsula de porcelana pequeña. Evaporar hasta 2 ml, si fuera necesario, agregar 0,5 ml de solución de hidróxido de sodio (2 en 5) y proceder según se indica en el ensayo de *Identificación B* en *Metilsulfato de Neostigmina*, comenzando donde dice: "evaporar en un baño de vapor...".

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 5,0 y 6,5.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Preparación estándar - Pesar exactamente una cantidad apropiada de Metilsulfato de Neostigmina SR-FA, disolver en agua, diluir cuantitativamente y en etapas con el mismo solvente hasta obtener una solución de aproximadamente 40 µg por ml.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Metilsulfato de Neostigmina, equivalente a 25 mg

de metilsulfato de neostigmina, a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 25 mg de Metilsulfato de Neostigmina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, en celdas de 1 cm, a 260 nm, con un espectrofotómetro apropiado (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*). Calcular la cantidad de $C_{13}H_{22}N_2O_6S$ la Solución Inyectable de Metilsulfato de Neostigmina, de acuerdo a la cantidad declarada.

NICOTINAMIDA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Nicotinamida deben contener no menos de 92,5 por ciento y no más de 107,5 por ciento de la cantidad declarada de $C_6H_6N_2O$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Nicotinamida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Pesar una cantidad equivalente a 0,1 g de nicotinamida a partir del polvo fino obtenido en *Valoración*. Agitar con 25 ml de alcohol absoluto durante aproximadamente 15 minutos, filtrar y evaporar el filtrado hasta sequedad sobre un baño de agua.

B - Absorción ultravioleta <470>

El espectro de absorción ultravioleta de la solución obtenida en *Valoración*, entre 230 y 350 nm, debe presentar solo un máximo a 262 nm y dos picos más bajos a 258 y 269 nm.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, alcohol y agua (48:45:10).

Solución muestra - Pesar una cantidad equivalente a 0,1 g de nicotinamida a partir del polvo fino obtenido en *Valoración*. Agitar con 15 ml de alcohol durante 15 minutos y filtrar. Evaporar hasta sequedad sobre un baño de agua y disolver completamente el residuo en 1 ml de alcohol absoluto.

Solución estándar- Diluir un volumen de la *Solución muestra* a 400 volúmenes con alcohol absoluto.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 μ l de la *Solución muestra* y 5 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y des-

arrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Dejar secar la placa al aire. Examinar los cromatogramas bajo luz ultravioleta a una longitud de onda de aproximadamente 254 nm. Ninguna mancha secundaria en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser más intensa que la mancha obtenida con la *Solución estándar* (0,25 %)

VALORACIÓN

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Nicotinamida. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 50 mg de nicotinamida. Transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 50 ml de alcohol y agitar durante aproximadamente 15 minutos. Completar a volumen con el mismo solvente, mezclar y filtrar. Transferir 5 ml del filtrado a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con alcohol.

Preparación estándar - Preparar una solución de Nicotinamida SR-FA en alcohol de concentración similar a la de la *Preparación muestra*.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* con un espectrofotómetro, a la longitud de onda de máxima absorción, 262 nm, empleando alcohol como blanco. Calcular el contenido de $C_6H_6N_2O$ en los Comprimidos de Nicotinamida, de acuerdo a la cantidad declarada.

NIFEDIPINA

CÁPSULAS

Definición - Las cápsulas de Nifedipina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{17}H_{18}N_2O_6$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Nifedipina SR-FA. Impureza A de Nifedipina SR-FA: 2,6-dimetil-4-(2-nitrofenil)piridina-3,5-dicarboxilato de dimetilo. Impureza B de Nifedipina SR-FA: 2,6-dimetil-4-(2-nitrosfenil)piridina-3,5-dicarboxilato de dimetilo

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos bien cerrados, entre 15 y 25°C.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,5 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo y ciclohexano (1:1).

Revelador - Transferir 3 g de subnitrito de bismuto y 30 g de yoduro de potasio a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 10 ml de ácido clorhídrico 3 N y disolver. Completar a volumen con agua y mezclar. Previo a su uso, transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, agregar 10 ml de ácido clorhídrico 3 N, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución estándar - Disolver una cantidad apropiada de Nifedipina SR-FA en cloruro de metileno para obtener una solución de aproximadamente 1,2 mg por ml.

Solución muestra - Empleando el *Procedimiento para la uniformidad de contenido* en *Uniformidad de unidades de dosificación*, transferir el contenido de tres Cápsulas de Nifedipina a un tubo de centrifuga, agregando aproximadamente 20 ml de hidróxido de sodio 0,1 N. Agregar 25 ml de cloruro de metileno, tapar e invertir varias veces liberando cuidadosamente la presión. Colocar nuevamente el tapón y agitar suavemente durante una hora. Centrifugar durante 10 minutos a una velocidad entre 2.000 y 2.500 rpm. Remover el sobrenadante acuoso y transferir 5,0 ml de la capa inferior clarificada a un recipiente apropiado.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 500 μ l de la *Solución muestra* y 500 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Marcar el frente de solvente y dejar secar al aire. Examinar las manchas de color azul oscuro bajo luz ultravioleta, a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal en los cromatogramas obtenidos a partir de la *Solución muestra* y la *Solución estándar* se deben corresponder y deben ser aproximadamente 0,3. Pulverizar la placa con *Revelador*: las manchas de cada solución deben desarrollar un color naranja claro en un fondo amarillo.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: fluido gástrico simulado (SR); 900 ml.

Tiempo: 20 minutos.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Nifedipina SR-FA en y diluir con *Medio* para obtener una solución de concentración apropiada.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{17}H_{18}N_2O_6$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta, a la longitud de onda de máxima absorción, 340 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Nifedipina SR-FA en el mismo medio. [NOTA 1: puede emplearse una cantidad de metanol que no exceda el 2 % del volumen final para disolver la *Sustancia de referencia*.]

[NOTA 2: controlar los filtros para verificar si hay pérdida de absorción del Nifedipina.]

Tolerancia - No menos de 80 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{17}H_{18}N_2O_6$ se debe disolver en 20 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Nifedipina SR-FA en metanol y diluir con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 50 μ g por ml.

Solución muestra - Realizar un pequeño orificio en el extremo de una Cápsula de Nifedipina. Transferir el contenido a un matraz aforado de 200 ml,

cortar la Cápsula de Nifedipina a la mitad y colocar en el matraz. Enjuagar la tijera empleada para realizar el orificio y cortar la cápsula, cuantitativamente con 20 ml de metanol recolectando el lavado, completar a volumen con metanol y mezclar.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y la *Solución estándar* en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, 350 nm, empleando metanol como blanco. Calcular la cantidad de $C_{17}H_{18}N_2O_6$ en cada Cápsula de Nifedipina, en base a la cantidad declarada.

Sustancias relacionadas

[NOTA: emplear material de vidrio inactínico. Realizar este ensayo rápidamente luego de preparar las soluciones.]

Sistema cromatográfico - Proceder según se indica en *Valoración*.

Fase móvil, Solución estándar de Nifedipina, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Sustancias relacionadas* en *Nifedipina*.

Solución estándar A - Proceder según se indica en *Solución estándar A* en *Sustancias relacionadas* en *Nifedipina*, excepto que la concentración final debe ser de aproximadamente 6 µg por ml.

Solución estándar B - Proceder según se indica en *Solución estándar B* en *Sustancias relacionadas* en *Nifedipina*, excepto que la concentración final debe ser de aproximadamente 1,5 µg por ml.

Solución estándar - Transferir 5,0 ml de la *Solución estándar A* y 5,0 ml de la *Solución estándar B* a un recipiente apropiado, agregar 5,0 ml de *Fase móvil* y mezclar.

Solución muestra - Proceder según se indica en *Preparación muestra* en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 25 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de cada impureza en las Cápsulas de Nifedipina, relacionando las respuestas de los picos de cada sustancia relacionada obtenidas a partir de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. No debe contener más de 2,0 % de Impureza A de Nifedipina y no más de 0,5 % de Impureza B de Nifedipina.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

[NOTA: emplear material de vidrio inactínico. Realizar este ensayo rápidamente luego de preparar la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*].

Sistema cromatográfico - Proceder según se indica en *Valoración* en *Nifedipina*, excepto que el detector ultravioleta debe ser ajustado a 265 nm.

Fase móvil, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración* en *Nifedipina*

Preparación muestra - Transferir el contenido de cinco Cápsulas de Nifedipina, con la ayuda de una pequeña cantidad de metanol, a un recipiente apropiado. Diluir cuantitativamente con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 25 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{17}H_{18}N_2O_6$ en las Cápsulas de Nifedipina, de acuerdo a la cantidad declarada.

NISTATINA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Nistatina deben contener no menos del 90,0 por ciento y no más del 130,0 por ciento de la cantidad declarada de Unidades de Nistatina y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Nistatina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto y en un sitio fresco.

ENSAYOS

Identificación

Absorción ultravioleta <470>.

Reducir a polvo fino los Comprimidos de Nistatina y transferir una cantidad equivalente a 300.000 Unidades de Nistatina, a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 50 ml de metanol y 5 ml de ácido acético glacial y agitar. Completar a volumen con metanol, mezclar y filtrar. Transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con metanol y mezclar. Determinar la absorción ultravioleta de la solución anterior, en el rango de 250 a 350 nm, empleando una solución preparada de la misma manera sin el agregado del polvo de los Comprimidos de Nistatina como blanco: debe exhibir máximos a 291, 305 y 319 nm. La relación (A_{291}/A_{305}) debe estar comprendida entre 0,61 y 0,73 y la relación (A_{319}/A_{305}) debe estar comprendida entre 0,83 y 0,96.

Ensayo de disgregación <310>

Tiempo: 120 minutos, si posee cubierta simple.

Pérdida por secado <680>

Pesar exactamente alrededor de 100 mg de los Comprimidos de Nistatina reducidos a polvo fino. Secar en un recipiente con tapa capilar al vacío, a una presión que no exceda 5 mm Hg a 60 °C durante 3 horas: con cubierta simple, no debe perder más de 5,0 % de su peso; con cubierta filmica, no debe perder más de 8,0 % de su peso.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Proceder según se indica para *Nistatina* en 770. *Valoraciones microbiológicas de antibióticos*, mezclando no menos de cinco Comprimidos de Nistatina durante 3 a 5 minutos en una mezcladora

con recipiente de vidrio de alta velocidad con un volumen suficiente, exactamente medido, de dimetilformamida para obtener una solución con una concentración apropiada. Diluir una porción exactamente medida de esta solución con dimetilformamida para obtener una solución madre de aproximadamente 400 Unidades de Nistatina por ml. Diluir esta solución madre con *Solución reguladora No. 6* para obtener las soluciones de ensayo.

ROTULADO

Indicar en el rótulo que los Comprimidos de Nistatina están destinados al uso oral para distinguirlos de los *Comprimidos Vaginales de Nistatina*.

NISTATINA

COMPRIMIDOS VAGINALES

Definición - Los Comprimidos Vaginales de Nistatina están compuestos por *Nistatina* y diluyentes y lubricantes apropiados. Deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 140,0 por ciento de la cantidad declarada de Unidades de Nistatina y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Nistatina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto y cuando lo indique en el rótulo, en refrigerador.

ENSAYOS

Absorción ultravioleta <470>.

Reducir a polvo fino los Comprimidos Vaginales de Nistatina y transferir una cantidad equivalente a 300.000 Unidades de Nistatina, a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 50 ml de metanol y 5 ml de ácido acético glacial y agitar. Completar a volumen con metanol, mezclar y filtrar. Transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con metanol y mezclar. Determinar la absorción ultravioleta de la solución anterior, en el rango de 250 a 350 nm, empleando una solución preparada de la misma manera sin el agregado del polvo de los Comprimidos Vaginales de Nistatina como blanco: debe exhibir máximos a 291, 305 y 319 nm. La relación (A_{291}/A_{305}) debe estar comprendida entre 0,61 y 0,73 y la relación (A_{319}/A_{305}) debe estar comprendida entre 0,83 y 0,96.

Ensayo de disgregación <310>

Tiempo: 60 minutos.

Pérdida por secado <680>

Pesar exactamente alrededor de 100 mg de los Comprimidos Vaginales de Nistatina reducidos a polvo. Secar en un recipiente con tapa capilar al vacío, a una presión que no exceda 5 mm Hg a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 5,0 % de su peso.

VALORACIÓN

Proceder según se indica en *Valoración en Comprimidos de Nistatina*.

NISTATINA

CREMA DÉRMICA

Definición - La Crema Dérmica de Nistatina debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 130,0 por ciento de la cantidad declarada de Unidades de Nistatina y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Nistatina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos de administración tópica.

Determinación del contenido neto del envase <220>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Proceder según se indica para Nistatina en 770.
Valoración microbiológica de antibióticos.

Mezclar una porción exactamente pesada de la Crema Dérmica de Nistatina, libre de burbujas, con un volumen exactamente medido de dimetilformamida durante 3 a 5 minutos a alta velocidad para obtener una solución de aproximadamente 400 Unidades de Nistatina por ml. Diluir cuantitativamente esta solución con *Solución reguladora N° 6* para obtener las soluciones de ensayo.

NISTATINA

SUSPENSIÓN ORAL

Definición - La Suspensión Oral de Nistatina debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 130,0 por ciento de la cantidad declarada de Unidades de Nistatina. Puede contener dispersantes apropiados, saborizantes, conservantes y agentes estabilizantes de la suspensión y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Nistatina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Absorción ultravioleta <470>.

Transferir un volumen de Suspensión Oral de Nistatina, equivalente a 300.000 Unidades de Nistatina, a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 50 ml de metanol y 5 ml de ácido acético glacial y agitar. Completar a volumen con metanol, mezclar y filtrar. Transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con metanol y mezclar. Determinar la absorción ultravioleta de la solución anterior, en el rango de 250 a 350 nm, empleando una solución preparada de la misma manera sin el agregado de la Suspensión Oral de Nistatina como blanco: debe exhibir máximos a 291, 305 y 319 nm. La relación (A_{291}/A_{305}) debe estar comprendida entre 0,61 y 0,73 y la relación (A_{319}/A_{305}) debe estar comprendida entre 0,83 y 0,96.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 4,9 y 5,5; determinado sobre la suspensión reconstituida según se indica en el rótulo.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Proceder según se indica para Nistatina en 770. *Valoración microbiológica de antibióticos.*

Mezclar un volumen apropiado exactamente medido de la Suspensión Oral de Nistatina, libre de burbujas, con un volumen suficiente de dimetilformamida durante 3 a 5 minutos a alta velocidad para obtener una concentración apropiada. Diluir una porción exactamente medida

de esta solución con dimetilformamida para obtener una solución madre de aproximadamente 400 Unidades de Nistatina por ml. Diluir cuantitativamente esta solución con *Solución reguladora N° 6* para obtener las soluciones de ensayo.

NISTATINA

UNGÜENTO TÓPICO

Definición - El Ungüento Tópico de Nistatina debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 130,0 por ciento de la cantidad declarada de Unidades de Nistatina y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Nistatina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 0,5 %. Emplear 20 ml de una mezcla de tolueno y metanol (7:3) en lugar de metanol en el recipiente de titulación.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos de administración tópica.

Determinación del contenido neto del envase <220>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Proceder según se indica en *Valoración* en *Crema Dérmica de Nistatina*, empleando Ungüento Tópico de Nistatina en lugar de Crema Dérmica de Nistatina.

NITROFURANTOÍNA

SUSPENSIÓN ORAL

Definición - La Suspensión Oral de Nitrofurantoína es una suspensión de *Nitrofurantoína* en un vehículo apropiado. Debe contener no menos de 92,0 por ciento y no más de 108,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_8H_6N_4O_5$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Nitrofurantoína SR-FA. Impureza A de Nitrofurantoína SR-FA: *N*-(aminocarbonil)-*N*-[[5-nitro-2-furanil]metileno]amino]glicina.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos herméticos.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión*
Transferir 10 ml de la Suspensión Oral de Nitrofurantoína a un recipiente apropiado, agregar 15 ml de acetona y calentar a 50 °C con agitación para coagular los excipientes. Filtrar, evaporar hasta sequedad, agregar 10 ml de ácido acético, calentar hasta ebullición y filtrar en caliente. Enfriar a temperatura ambiente, filtrar la nitrofurantoína precipitada y secar a 105 °C durante 1 hora: el espectro de absorción infrarroja de una dispersión del precipitado en aceite mineral debe presentar máximos de absorbancia a las mismas longitudes de onda que una dispersión estándar de Nitrofurantoína SR-FA en las mismas condiciones

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con obtenido con la *Preparación estándar*.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 6,5

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

Límite de Impureza A de Nitrofurantoína

Fase móvil y Solución reguladora de fosfato pH 7,0 - Proceder según se indica en *Valoración*.

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 375 nm y una columna de

30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,2 ml por minuto.

Solución estándar - Disolver cuantitativamente una cantidad exactamente pesada de Impureza A de Nitrofurantoína SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 125 µg por ml. Transferir 2,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Suspensión Oral de Nitrofurantoína recientemente mezclada, equivalente a 5 mg de nitrofurantoína, a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Centrifugar y filtrar el sobrenadante.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el tiempo de retención del pico principal debe estar comprendido entre 3 y 6 minutos y la altura del mismo aproximadamente el 10 % de la escala completa.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (entre 30 µl y 60 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales: la respuesta del pico correspondiente a impureza A de Nitrofurantoína en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor de 5 % de la de la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar*.

VALORACIÓN

Fase móvil y Solución reguladora de fosfato pH 7,0 - Proceder según se indica en *Valoración* en *Nitrofurantoína*.

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,2 ml por minuto.

Solución del estándar interno - Disolver alrededor de 13 mg de acetanilida en *Fase móvil*, diluir con el mismo solvente hasta un volumen de 200 ml y mezclar.

Preparación estándar - Transferir aproximadamente 25 mg de Nitrofurantoína SR-FA exactamente medidos a un matraz aforado de 100 ml,

agregar 50 ml de dimetilformamida, 20 ml de agua y enfriar a temperatura ambiente. Completar a volumen con dimetilformamida. Transferir 4,0 ml de esta solución a un recipiente de vidrio con tapón, agregar 15,0 ml de *Solución del estándar interno* y mezclar.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Suspensión Oral de Nitrofurantoína recientemente mezclada, equivalente a 25 mg de nitrofurantoína, a un matraz aforado de 100 ml, agregar 20 ml de agua y mezclar. Agregar 50 ml de dimetilformamida y agitar durante 20 minutos. Enfriar a temperatura ambiente, completar a volumen con dimetilformamida, centrifugar y transferir 4,0 ml del sobrenadante a un recipiente de vidrio. Agregar 15,0 ml de la *Solución del estándar interno*, mezclar y filtrar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de acetanilida y nitrofurantoína no debe ser menor de 3,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 15 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_8H_6N_4O_5$ en la Suspensión Oral de Nitrofurantoína, de acuerdo a la cantidad declarada.

NORETISTERONA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Noretisterona deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{20}H_{26}O_2$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Noretisterona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Pesar una cantidad equivalente a 50 mg de noretisterona a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*. Mezclar con 15 ml de éter de petróleo y agitar ocasionalmente durante 15 minutos. Centrifugar la mezcla, dejar decantar y descartar el éter de petróleo. Extraer el residuo con dos porciones de 10 ml de éter de petróleo, centrifugar, dejar decantar y descartar el éter. Agregar 25 ml de cloroformo al residuo, agitar entre 1 y 2 minutos y filtrar. Evaporar el filtrado aproximadamente a 3 ml, agregar unos pocos ml de éter de petróleo para inducir la cristalización y evaporar hasta sequedad: el espectro de absorción infrarroja de una dispersión en bromuro de potasio del residuo así obtenido debe presentar máximos sólo a las mismas longitudes de onda que el de una preparación similar de Noretisterona SR-FA.

Ensayo de desintegración <310>

No más de 15 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Reactivo de Isoniazida - Disolver 1,0 g de Isoniazida en 1 litro de metanol anhidro, agregar 1,3 ml de ácido clorhídrico y mezclar.

Preparación estándar - Preparar una solución de Noretisterona SR-FA en metanol de aproximadamente 14 µg de noretisterona por ml. Agregar 2 ml de *Reactivo de Isoniazida*, mezclar, tapar y dejar reposar durante 30 minutos.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Noretisterona. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 0,7 mg de noretisterona, transferir a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con metanol anhidro. Mezclar y dejar reposar aproximadamente 10 minutos, agitando ocasionalmente. Filtrar y transferir 10 ml del filtrado a un recipiente apropiado. Agregar 2 ml de *Reactivo de Isoniazida*, mezclar, tapar y dejar reposar durante 30 minutos.

Blanco de muestra - Transferir 10 ml del filtrado de la *Preparación muestra* a un recipiente apropiado, agregar 2 ml de metanol y mezclar.

Blanco de reactivo - Transferir 10 ml de metanol a un recipiente apropiado, agregar 2 ml de *Reactivo de Isoniazida*, mezclar, tapar y dejar reposar durante 30 minutos.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorción, 380 nm, con un espectrofotómetro, empleando metanol para llevar a cero la lectura del instrumento. Calcular la cantidad de $C_{20}H_{26}O_2$ en los Comprimidos de Noretisterona, a partir de la absorbancia de la *Preparación muestra* corregida por la absorbancia del *Blanco de muestra* y la del *Blanco del reactivo* y la *Preparación estándar* corregida por la absorbancia del *Blanco de reactivo*.

NORETISTERONA, ACETATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Acetato de Noretisterona deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{22}H_{28}O_3$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Acetato de Noretisterona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Proceder según se indica en *Identificación* en *Comprimidos de Noretisterona*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: ácido clorhídrico diluido 1 en 100 que contenga 0,02 % de lauril sulfato de sodio; 900 ml.

Tiempo: 60 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{22}H_{28}O_3$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 248 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Acetato de Noretisterona SR-FA en el mismo medio. [NOTA: la *Solución estándar* puede ser preparada disolviendo la *Sustancia de referencia* en un volumen de metanol, que no exceda 0,5 % del volumen final de la solución, y diluir cuantitativamente con medio.]

Tolerancia - No menos de 70 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{22}H_{28}O_3$ se debe disolver en 60 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido

Solución estándar - Emplear la *Preparación estándar* preparada en *Valoración*.

Solución muestra - Reducir a polvo fino un Comprimido de Acetato de Noretisterona, transferir a un matraz aforado de 100 ml con la ayuda de aproximadamente 75 ml de alcohol. Calentar el alcohol a ebullición y dejar que la mezcla permanezca a una temperatura por debajo del punto de ebullición durante aproximadamente 15 minutos,

agitar ocasionalmente por rotación. Enfriar a temperatura ambiente, completar a volumen con alcohol, mezclar y centrifugar hasta que la solución se torne transparente. Diluir una porción de la solución sobrenadante cuantitativamente y en etapas con alcohol para obtener una solución de aproximadamente 10 µg de acetato de noretisterona por ml.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y la *Solución estándar* en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorción, 240 nm, con un espectrofotómetro, empleando alcohol como blanco. Calcular la cantidad de $C_{22}H_{28}O_3$ en cada Comprimido de Acetato de Noretisterona, en base a la cantidad declarada.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Preparación estándar - Preparar una solución de Acetato de Noretisterona SR-FA en alcohol de aproximadamente 10 µg por ml.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Acetato de Noretisterona. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 20 mg de acetato de noretisterona, transferir a una ampolla de decantación, agregar 10 ml de agua y extraer con tres porciones de 25 ml de cloroformo, filtrando cada extracto a través de una torunda de algodón lavada con cloroformo. Evaporar los extractos clorofórmicos combinados en un baño de vapor hasta sequedad, reduciendo la temperatura cuando la muestra esté prácticamente seca. Disolver el residuo en alcohol, transferir la solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con alcohol y mezclar.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorción, 240 nm, con un espectrofotómetro, empleando alcohol como blanco. Calcular la cantidad de $C_{22}H_{28}O_3$ en los Comprimidos de Acetato de Noretisterona, de acuerdo a la cantidad declarada.

NORFLOXACINA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Norfloxacinina deben contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{16}H_{18}FN_3O_3$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Norfloxacinina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol, tolueno, dietilamina y agua (40:40:20:14:8).

Diluyente - Preparar una mezcla conteniendo 1 litro de metanol y 9 ml de ácido clorhídrico. Emplear dicha mezcla y cloruro de metileno (1:1).

Solución muestra - Pesar una cantidad equivalente a 400 mg de Norfloxacinina a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*, transferir a un matraz aforado de 200 ml, agregar 2 ml de agua, someter a ultrasonido, diluir con 100 ml de *Diluyente*. Completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Centrifugar 25 ml de esta solución y emplear el sobrenadante.

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Norfloxacinina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 25 ml, agregar 15 ml de *Diluyente* y completar a volumen con el mismo solvente.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 50 μ l de la *Solución muestra* y 50 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore.

Examinar los cromatogramas bajo luz ultravioleta, a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Solución reguladora pH 4,0 - Transferir 900 ml de agua a un matraz aforado de 1 litro, agregar 2,9 ml de ácido acético glacial, 1,0 ml de una solución de hidróxido de sodio al 50 % (p/p), completar a volumen con agua y mezclar. Ajustar a pH 4,0 con ácido acético glacial o hidróxido de sodio según sea necesario.

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: *Solución reguladora pH 4,0*; 750 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, para obtener una solución de aproximadamente 16 μ g de Norfloxacinina por ml. Determinar la cantidad de $C_{16}H_{18}FN_3O_3$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta, a la longitud de onda de máxima absorción, a 313 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Norfloxacinina SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 85 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{16}H_{18}FN_3O_3$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 275 nm y una columna de 30 cm \times 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. Mantener la columna aproximadamente a 40 °C. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto. Preacondicionar la columna con fosfato monobásico de sodio 0,01 M ajustado a pH 4,0 con ácido fosfórico durante 8 horas bajo un caudal de 0,5 ml por minuto.

Fase móvil - Solución de ácido fosfórico 1 en 1.000 y acetonitrilo (85:15). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Pesar exactamente una cantidad de Norfloxacinina SR-FA, transferir a un matraz apropiado y diluir cuantitativamente y en etapas en *Fase móvil*, si fuera necesario, para obtener una solución de aproximadamente 0,2 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino menos de veinte Comprimidos de Norfloxacinina. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 100 mg

de Norfloxacin, transferir a un matraz aforado de 200 ml, agregar 80 ml de *Fase móvil*, sonicar durante 10 minutos, completar a volumen con Solución de ácido fosfórico 1 en 1.000, mezclar y filtrar. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz aforado de 25 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en el *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{16}H_{18}FN_3O_3$ en los Comprimidos de Norfloxacin, de acuerdo a la cantidad declarada.

PARACETAMOL

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Paracetamol deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_8H_9NO_2$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Paracetamol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloruro de metileno y metanol (4:1).

Solución muestra - Pesar una cantidad equivalente a 50 mg de paracetamol a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*, transferir a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con metanol y filtrar.

Solución estándar - Preparar una solución de Paracetamol SR-FA en metanol para obtener una solución con la misma concentración que la *Solución muestra*.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara y marcar el frente del solvente. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal obtenida a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: Solución reguladora de fosfato de pH 5,8.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_8H_9NO_2$ disuelta a partir de las absorbancias medidas en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 243 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Paracetamol SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 80 % (Q) de la cantidad declarada de $C_8H_9NO_2$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 243 nm y una columna de 30 cm \times 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Agua y metanol (3:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Paracetamol SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,01 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Paracetamol. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 100 mg de paracetamol, transferir a un matraz aforado de 200 ml, agregar aproximadamente 100 ml de *Fase móvil* y sonicar durante 10 minutos, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 250 ml, completar a volumen con *Fase móvil*, mezclar y filtrar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 1.000 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente

10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*; registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_8H_9NO_2$ en los Comprimidos de Paracetamol, de acuerdo a la cantidad declarada.

PARACETAMOL

SOLUCIÓN ORAL

Definición - La Solución Oral de Paracetamol debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_8H_9NO_2$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Paracetamol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto, a 25 °C.

ENSAYOS

Identificación

A- Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B- Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria, Fase móvil y Solución estándar - Proceder según se indica en *Ensayo de Identificación C* en *Paracetamol*.

Solución muestra - Diluir una cantidad de la Solución Oral de Paracetamol cuantitativamente en metanol para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Ensayo de Identificación C* en *Paracetamol*: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

Determinación de alcohol <130>

Método II. Entre 90,0 y 115,0 % de la cantidad de C_2H_5OH declarada en el rótulo, determinada por cromatografía gaseosa empleando acetona como estándar interno.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 3,8 y 6,1.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder

según se indica en *Valoración en Comprimidos de Paracetamol*.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Oral de Paracetamol, equivalente a 500 mg de paracetamol, a un matraz aforado de 250 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 250 ml, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Transferir 25,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración en Comprimidos de Paracetamol*. Calcular la cantidad de $C_8H_9NO_2$ en la Solución Oral de Paracetamol, de acuerdo a la cantidad declarada.

PARACETAMOL

SUPOSITORIOS

Definición - Los Supositorios de Paracetamol deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_8H_9NO_2$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Paracetamol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto, en un sitio fresco.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria, Fase móvil, Solución estándar y Procedimiento - Proceder según se indica en el ensayo de *Identificación C* en *Paracetamol*.

Solución muestra - Transferir una cantidad exactamente pesada de Supositorios de Paracetamol, equivalente a 20 mg de paracetamol, a un vaso de precipitados, agregar 20 ml de metanol y calentar en un baño de agua aproximadamente a 50 °C hasta que funda. Dejar enfriar y filtrar.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Ensayos farmacotécnicos para supositorios <400>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 243 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Agua y metanol (3:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Paracetamol SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,01 mg por ml.

Preparación muestra - Colocar 5 Supositorios de Paracetamol en una cápsula con la ayuda de una varilla de vidrio. Calentar en baño de agua a aproximadamente 50 °C hasta que fundan, mezclar

y enfriar. Transferir una porción exactamente pesada, equivalente a 100 mg de paracetamol, a una ampolla de decantación, agregar 30 ml de éter de petróleo, y mezclar hasta disolver. Agregar 30 ml de agua, agitar y dejar que las fases se separen. [NOTA: si se forma una emulsión dejar reposar hasta que las fases se separen]. Transferir la fase acuosa a un matraz aforado de 200 ml, lavar la fase etérea de la ampolla de decantación con tres porciones de 30 ml de agua, agregar los lavados al matraz, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 250 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar la respuesta de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna no debe ser menor de 1.000 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos. Calcular la cantidad de $C_8H_9NO_2$ en los Supositorios de Paracetamol, de acuerdo a la cantidad declarada.

PILOCARPINA, CLORHIDRATO DE SOLUCIÓN OFTÁLMICA

Definición - La Solución Oftálmica de Clorhidrato de Pilocarpina es una solución acuosa, regulada y estéril de *Clorhidrato de Pilocarpina*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{11}H_{16}N_2O_2 \cdot HCl$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Pilocarpina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación del pH <250>

Entre 3,5 y 5,5.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 220 nm y una columna de 25 cm x 4,6 mm con fase estacionaria constituida por partículas porosas de sílice de 5 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Mezclar *n*-hexano con una solución 1 en 50 de hidróxido de amonio en alcohol isopropílico (7:3). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Pesar exactamente una cantidad de Clorhidrato de Pilocarpina SR-FA y diluir cuantitativamente para obtener una solución de aproximadamente 1,6 mg por ml.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Oftálmica de Clorhidrato de Pilocarpina, equivalente a 80 mg de clorhidrato de pilocarpina, a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en

Procedimiento: el tiempo de retención para el clorhidrato de pilocarpina debe ser aproximadamente de 16 minutos, la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{11}H_{16}N_2O_2 \cdot HCl$ en la Solución Oftálmica de Clorhidrato de Pilocarpina, de acuerdo a la cantidad declarada.

ROTULADO

En el rótulo debe figurar la siguiente leyenda: “Descartar una vez finalizado el tratamiento”.

PILOCARPINA, NITRATO DE SOLUCIÓN OFTÁLMICA

Definición - La Solución Oftálmica de Nitrato de Pilocarpina es una solución acuosa, regulada y estéril de *Nitrato de Pilocarpina*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{11}H_{16}N_2O_2.HNO_3$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia – Nitrato de Pilocarpina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación del pH<250>

Entre 4,0 y 5,5.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Aptitud del sistema, Preparación muestra y Preparación estándar - Proceder según se indica en *Valoración en Solución Oftálmica de Clorhidrato de Pilocarpina*.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración en Solución Oftálmica de Clorhidrato de Pilocarpina*. Calcular la cantidad de $C_{11}H_{16}N_2O_2.HNO_3$ en la Solución Oftálmica de Nitrato de Pilocarpina, de acuerdo a la cantidad declarada.

ROTULADO

En el rótulo debe figurar la siguiente leyenda:
“*Descartar una vez finalizado el tratamiento*”.

PIRANTEL, PAMOATO DE SUSPENSIÓN ORAL

Definición - La Suspensión Oral de Pamoato de Pirantel es una suspensión de *Pamoato de Pirantel* en un vehículo apropiado. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de Pirantel ($C_{11}H_{14}N_2S$) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Pamoato de Pirantel SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

[NOTA: emplear material de vidrio inactínico. Realizar la *Identificación* y la *Valoración* en el menor tiempo posible, sin interrupciones].

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,50 mm de espesor.

Diluyente - Transferir 0,8 ml de hidróxido de amonio a un matraz aforado de 250 ml, agregar 100 ml de metanol, completar a volumen con metanol y mezclar.

Fase móvil - Metil isobutil cetona, ácido fórmico y agua (2:1:1).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Pamoato de Pirantel SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 8 mg por ml. Agitar y centrifugar. Emplear la solución clarificada.

Solución muestra - Diluir un volumen apropiado de la Suspensión Oral de Pamoato de Pirantel con *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 8 mg por ml. Agitar y centrifugar. Emplear la solución clarificada.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 100 μ l de la *Solución estándar* y 100 μ l de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar los cromatogramas bajo luz ultravioleta a 366 nm: el valor de R_f de la mancha principal obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos para suspensiones orales en envases multidosis.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 6,0.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos para suspensiones orales en envases monodosis.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

[NOTA: emplear material de vidrio inactínico. Completar la *Valoración* en el menor tiempo posible].

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 288 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por partículas porosas de sílice de 5 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo, ácido acético, agua y dietilamina (92,8:3:3:1,2). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*). [NOTA: al aumentar la cantidad de acetonitrilo en la *Fase móvil* aumentan los tiempos de retención. Al aumentar la cantidad de ácido acético, agua y dietilamina reduce los tiempos de retención. Si es necesario realizar algún ajuste en la *Fase móvil*, mantener la proporción entre ácido acético, agua y dietilamina (1:1:0,4)].

Preparación estándar - Preparar una solución en *Fase móvil* de aproximadamente 80 μ g de Pamoato de Pirantel SR-FA por ml.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Suspensión Oral de Pamoato de Pirantel, equivalente a 200 mg de pamoato de pirantel, a un matraz aforado de 100 ml, dispersar y completar a volumen con agua. Agitar la dispersión y transferir de inmediato 1,0 ml a un matraz aforado de 25 ml. Disolver, completar a volumen con *Fase móvil*, mezclar y filtrar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar

las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos para el ácido pamoico y para el pirantel deben ser de aproximadamente 0,6 y 1,0 respectivamente; la resolución R entre pirantel y ácido pamoico no debe ser menor de 10; el número de platos teóricos para el pico de pirantel no debe ser menor de 8.000; el factor de asimetría para el pico de pirantel no debe ser mayor de 1,3; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas durante al menos de 2,5 veces el tiempo de retención de pirantel y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de Pirantel ($C_{11}H_{14}N_2S$) la Suspensión Oral de Pamoato de Pirantel, de acuerdo a la cantidad declarada.

PIRAZINAMIDA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Pirazinamida deben contener no menos de 93,0 por ciento y no más de 107,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_5H_5N_3O$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Pirazinamida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En suspensión.*

Pesar una cantidad equivalente a 1,0 g de pirazinamida a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*. Agregar aproximadamente 75 ml de alcohol isopropílico, calentar en un baño de vapor y filtrar en caliente. Dejar enfriar, separar los cristales formados y secar a 105 °C durante 1 hora: el espectro de absorción infrarroja de una dispersión en aceite mineral de los cristales secos así obtenidos, debe presentar máximos sólo a las mismas longitudes que una preparación similar de Pirazinamida SR-FA. Si apareciera una diferencia, disolver en acetona porciones de los cristales secos y de la *Sustancia de referencia*, evaporar las soluciones hasta sequedad y repetir el ensayo.

B - Los cristales secos obtenidos en el ensayo de *Identificación A* deben responder al ensayo de *Identificación B* en *Pirazinamida*.

C - A 20 mg de los cristales secos obtenidos en el ensayo de *Identificación A*, agregar 5 ml de hidróxido de sodio 5 N y calentar suavemente a la llama: se debe percibir olor a amoníaco.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_5H_5N_3O$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 268 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Pirazinamida SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_5H_5N_3O$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación
<740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 270 nm y una columna de 15 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución reguladora de fosfato pH 3,0 - Preparar 1 litro de solución reguladora de fosfato pH 8,0 (ver *Soluciones reguladoras* en *Reactivos y Soluciones*) y ajustar a pH 3,0 con ácido fosfórico.

Fase móvil - Mezclar 1 litro de la *Solución reguladora de fosfato pH 3,0* con 10 ml de acetonitrilo. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Transferir una cantidad exactamente pesada de Pirazinamida SR-FA a un matraz aforado de capacidad apropiada, disolver en agua, sonicar, completar a volumen con agua y mezclar para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml. Transferir 20,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Pirazinamida. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 100 mg de pirazinamida, transferir a un matraz aforado de 500 ml, agregar 300 ml de agua y sonicar durante 10 minutos. Completar a volumen con agua y mezclar. Filtrar una porción de esta solución, descartando los primeros mililitros del filtrado. Transferir 20,0 ml de la solución filtrada a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución de aptitud de sistema - Transferir 1,0 ml de ácido clorhídrico a un matraz aforado de 5 ml, completar a volumen con *Preparación estándar* y mezclar. Mantener esta solución en un baño de agua a ebullición durante 5 minutos y enfriar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 1,3; la eficiencia de la columna no debe ser me-

nor de 2.500 platos teóricos. Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente de 0,45 para el ácido pirazinoico y 1,0 para la pirazinamida; la resolución R entre los picos de pirazinamida y ácido pirazinoico no debe ser menor de 6,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_5H_5N_3O$ en los Comprimidos de Pirazinamida, de acuerdo a la cantidad declarada.

PIRIDOXINA, CLORHIDRATO DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Clorhidrato de Piridoxina es una solución estéril de *Clorhidrato de Piridoxina en Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 115,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_8H_{11}NO_3 \cdot HCl$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Piridoxina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos monodosis o multidosis, de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

Evaporar un volumen de la Solución Inyectable de Clorhidrato de Piridoxina, equivalente a 50 mg de clorhidrato de piridoxina, en baño de vapor hasta sequedad. Agregar 5 ml de alcohol absoluto y evaporar nuevamente hasta sequedad. Secar el residuo a $105^\circ C$ durante 3 horas: el residuo obtenido debe responder a los *Ensayos de identificación A y B en Clorhidrato de Piridoxina*.

Determinación del pH <250>

Entre 2,0 y 3,8.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 0,4 Unidades de Endotoxina por mg de clorhidrato de piridoxina.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Solución reguladora de Cloruro de amonio-hidróxido de amonio - Disolver 16 g de cloruro de amonio en 70 ml de agua, agregar 16 ml de hidróxido de amonio y diluir con agua hasta 100 ml. Mezclar y filtrar.

Solución de Clorimida - Disolver 40 mg de 2,6-dicloroquinona-clorimida en 100 ml de alcohol isopropílico. [NOTA: esta solución puede conservarse en refrigerador durante un mes. No emplear si presenta coloración rosada].

Preparación madre del estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Piridoxina SR-FA en ácido clorhídrico 0,1 N para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml. [NOTA: conservar la solución en envase color ámbar en un sitio frío].

Preparación estándar - Transferir 10,0 ml de la *Preparación madre del estándar* a un matraz aforado de 100,0 ml, completar a volumen con agua y mezclar. [NOTA: preparar la solución en el día de su uso].

Preparación muestra - Diluir un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Clorhidrato de Piridoxina, equivalente a 100 mg de clorhidrato de piridoxina, cuantitativamente y en etapas, con agua para obtener una solución de aproximadamente 10 μg de clorhidrato de piridoxina por ml.

Procedimiento -

a) Transferir 5,0 ml de la *Preparación muestra* a un recipiente apropiado, agregar 25,0 ml de alcohol isopropílico y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un tubo de ensayo y agregar sucesivamente 1,0 ml de *Solución reguladora de Cloruro de amonio-hidróxido de amonio*, 1,0 ml de solución de acetato de sodio (1 en 5) y 1,0 ml de agua, mezclando después de cada adición. Enfriar hasta aproximadamente $25^\circ C$, agregar 1,0 ml de *Solución de Clorimida*, agitar durante exactamente 10 segundos. Sesenta segundos después de la adición de la *Solución de Clorimida*, determinar la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción, 650 nm, con un espectrofotómetro apropiado empleando agua como blanco. [NOTA: realizar la lectura inmediatamente para evitar errores debido a la pérdida de color].

b) Repetir el procedimiento (a) pero sustituir 1,0 ml de agua por 1,0 ml de solución de ácido bórico (1 en 20).

c) Repetir el procedimiento (a) empleando la *Preparación estándar*.

d) Repetir el procedimiento (b) empleando la *Preparación estándar*.

Calcular la cantidad de $C_8H_{11}NO_3 \cdot HCl$ en la Solución Inyectable de Clorhidrato de Piridoxina, relacionando las diferencias de absorbancias obtenidas para la *Preparación muestra* ($A_a - A_b$) con las diferencias de absorbancias obtenidas para la *Preparación estándar* ($A_c - A_d$).

PIRIMETAMINA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Pirimetamina deben contener no menos de 93,0 por ciento y no más de 107,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{12}H_{13}ClN_4$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Pirimetamina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción ultravioleta <460>. El espectro de absorción ultravioleta de la *Preparación muestra* obtenida según se indica en *Valoración*, debe presentar máximos a las mismas longitudes de onda que el de una solución similar preparada con Pirimetamina SR-FA.

B - Pesar una cantidad equivalente a 250 mg de pirimetamina a partir del polvo fino obtenido en *Preparación muestra* en *Valoración*. Agregar 25 ml de acetona, calentar a ebullición durante 2 minutos y filtrar a través de un crisol de vidrio sinterizado. Repetir este procedimiento tres veces con porciones de 25 ml de acetona. Evaporar los filtrados combinados cuidadosamente en un baño de vapor con la ayuda de una corriente de aire hasta sequedad: el residuo debe responder al ensayo de *Identificación A* en *Pirimetamina* y debe fundir entre 237 y 242 °C (ver 260. *Determinación del punto de fusión*).

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,1 N; 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{12}H_{13}ClN_4$ disuelta a partir de las absorbancias medidas en el ultravioleta, a la longitud de onda de máxima absorción, 273 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Pirimetamina SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{12}H_{13}ClN_4$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido

Solución muestra - Transferir un Comprimido de Pirimetamina a un matraz aforado de 100 ml, agregar 25 ml de ácido clorhídrico 0,1 N, completar a volumen con ácido clorhídrico 0,1 N, mezclar y filtrar, descartando los primeros mililitros del filtrado. Transferir una porción del filtrado transparente, equivalente a 2,5 mg de pirimetamina, a un matraz aforado de 250 ml, completar a volumen con ácido clorhídrico 0,1 N y mezclar.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Pirimetamina SR-FA en ácido clorhídrico 0,1 N, diluir con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 10 µg por ml.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución estándar* y la *Solución muestra* en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorción, 273 nm, con un espectrofotómetro, empleando ácido clorhídrico 0,1 N como blanco. Calcular la cantidad de $C_{12}H_{13}ClN_4$ en cada Comprimido de Pirimetamina, en base a la cantidad declarada.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Proceder con los Comprimidos de Pirimetamina y la *Sustancia de referencia* según se indica en 710. *Sales de bases orgánicas nitrogenadas*, para *Solución muestra* y *Solución estándar*, respectivamente. Diluir 5,0 ml de la *Solución estándar* y 5,0 ml de la *Solución muestra* a 200,0 ml con ácido sulfúrico 0,5 N y determinar las absorbancias de ambas soluciones en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorción, 273 nm. Calcular la cantidad de $C_{12}H_{13}ClN_4$ en los Comprimidos de Pirimetamina, de acuerdo a la cantidad declarada.

PLATA, NITRATO DE SOLUCIÓN OFTÁLMICA

Definición - La Solución Oftálmica de Nitrato de Plata es una solución acuosa de *Nitrato de Plata*. Debe contener no menos de 0,95 por ciento y no más de 1,05 por ciento de AgNO_3 y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Debe responder a los ensayos para *Plata* <410> y *Nitratos* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 6,0.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Transferir 5,0 ml Solución Oftálmica de Nitrato de Plata exactamente medidos a un erlenmeyer, diluir con 20 ml de agua, agregar 1 ml de ácido nítrico, 1 ml de sulfato férrico amónico (SR) y titular con tiocianato de amonio 0,02 N (SV). Cada ml de tiocianato de amonio 0,02 N equivale a 3,397 mg de AgNO_3 .

ROTULADO

En el rótulo debe figurar la siguiente leyenda:
“*Descartar una vez finalizado el tratamiento*”.

PRAZICUANTEL

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Prazicuantel deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{19}H_{24}N_2O_2$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Prazicuantel SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,1 N con 2,0 mg de lauril sulfato de sodio por ml; 900 ml.

Tiempo: 60 minutos.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Prazicuantel SR-FA en metanol para obtener una solución de aproximadamente diez veces la concentración de la solución en ensayo. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Medio* y mezclar.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio* si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{19}H_{24}N_2O_2$ disuelta a partir de la absorbancia en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 263 nm, comparando con la *Solución estándar*.

Tolerancia - No menos de 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{19}H_{24}N_2O_2$ se debe disolver en 60 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Prazicuantel*.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Prazicuantel SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Fase móvil* hasta obtener una solución de aproximadamente 0,18 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Prazicuantel. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 150 mg de prazicuantel, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 70 ml de *Fase móvil*, sonicar durante 5 minutos, completar a volumen con *Fase móvil*, mezclar y filtrar. Transferir 3,0 ml del filtrado a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración en Prazicuantel*. Calcular la cantidad de $C_{19}H_{24}N_2O_2$ en los Comprimidos de Prazicuantel, de acuerdo a la cantidad declarada.

PREDNISOLONA, FOSFATO SÓDICO DE SOLUCIÓN OFTÁLMICA

Definición - La Solución Oftálmica de Fosfato Sódico de Prednisolona es una solución estéril de Fosfato Sódico de Prednisolona en un medio acuoso apropiado. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 115,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{21}H_{27}Na_2O_8P$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Fosfato Sódico de Prednisolona SR-FA. Prednisolona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto, a una temperatura no mayor de 25°C.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica:

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. Cromatografía) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Butanol, ácido acético glacial y agua (60:20:20).

Solución estándar - Disolver una cantidad de Fosfato Sódico de Prednisolona SR-FA en agua para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml.

Solución muestra - Diluir una porción de la Solución Oftálmica de Fosfato Sódico de Prednisolona con agua para obtener una solución de aproximadamente 1 mg por ml.

Solución mezcla - Mezclar volúmenes iguales de *Solución estándar* y *Solución muestra*.

Solución de resolución - Mezclar volúmenes iguales de *Solución estándar* y una solución de Fosfato Sódico de Betametasona en agua de aproximadamente 1 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 10 µl de cada una de las soluciones preparadas. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Calentar a 110 °C durante 10 minutos y examinar los cromatogramas bajo luz ultravioleta, a 254 nm: los valores de R_f de las manchas principales en los cromatogramas obtenidos a partir de la *Solución muestra*, la *Solución estándar* y la *Solución mezcla* se deben corresponder. El

cromatograma obtenido a partir de la *Solución de resolución* debe presentar dos manchas principales con valores de R_f muy similares.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

C - Transferir un volumen de la Solución Oftálmica de Fosfato Sódico de Prednisolona, equivalente a 0,2 mg de fosfato sódico de prednisolona, a un recipiente apropiado. Agregar lentamente 1 ml de ácido sulfúrico y dejar reposar durante 2 minutos: se debe desarrollar un color rojo.

Determinación del pH <250>

Entre 7,0 y 8,2.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Prednisolona libre

Sistema cromatográfico, Solución reguladora de pH 5,0 y Fase móvil - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Prednisolona SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 4 µg por ml.

Solución muestra - Diluir un volumen exactamente medido de la Solución Oftálmica de Fosfato Sódico de Prednisolona con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 100 µg de Fosfato Sódico de Prednisolona por ml.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos. El área del pico correspondiente a prednisolona en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor que el área del pico principal obtenido a partir de la *Solución estándar* (4,0 %).

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 247 nm y una columna de 20 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Solución reguladora de pH 5,0 - Mezclar 48,5 ml de ácido cítrico 0,1 M y diluir a 100 ml con fosfato dibásico de sodio.

Fase móvil - *Solución reguladora de pH 5,0* y metanol (55:45). Filtrar y desgasificar. Hacer los

ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación madre del estándar - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Fosfato Sódico de Prednisolona SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver con agua, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Preparación estándar - Transferir 10 ml de la *Preparación madre del estándar* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación muestra - Diluir un volumen exactamente medido de la Solución Oftálmica de Fosfato Sódico de Prednisolona con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 10 µg de Fosfato Sódico de Prednisolona por ml.

Solución de resolución - Transferir 10 ml de la *Preparación madre del estándar* a un matraz aforado de 100 ml, agregar 10 ml de una solución de *Fosfato Sódico de Betametasona* en agua de aproximadamente 100 µg por ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de fosfato sódico de betametasona y fosfato sódico de prednisolona no debe ser menor de 3,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{21}H_{27}Na_2O_8P$ en la Solución Oftálmica de Fosfato Sódico de Prednisolona.

PREDNISONA

COMPRIMIDOS

Definición - Los comprimidos de Prednisona deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{21}H_{26}O_5$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Prednisona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Pesar una cantidad equivalente a 10 mg de prednisona a partir del polvo fino obtenido en *Preparación muestra* en *Valoración*, transferir a un vaso de precipitados de 50 ml, agregar 10 ml de agua y mezclar para formar una suspensión. Transferir a una columna de 13 cm \times 3 cm con fase estacionaria constituida por tierra de diatomeas y dejar absorber aproximadamente 10 minutos. Eluir la columna con 60 ml de éter lavado con agua, evaporar el eluato en un baño de vapor hasta sequedad. Enjuagar el residuo con tres porciones de 20 ml de heptano y filtrar. Secar el residuo a 105 °C durante 30 minutos: los cristales deben responder a los *Ensayos de Identificación A y B* en *Prednisona*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: agua; emplear 500 ml de medio para comprimidos cuyo valor declarado sea de 10 mg o menos de prednisona, y 900 ml de medio para más de 10 mg de prednisona.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{21}H_{26}O_5$ disuelta a partir de las absorbancias medidas en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 242 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Prednisona SR-FA en el mismo medio. [NOTA: la *Solución estándar* puede ser preparada disolviendo la *Sustancia de referencia* en un volumen de alcohol que no exceda el 5 % del volumen final de la solución.]

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{21}H_{26}O_5$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Diluyente, Solución del estándar interno, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Prednisona*.

Solución muestra - Reducir a polvo fino un Comprimido de Prednisona, transferir a un matraz aforado, diluir a volumen con metanol hasta obtener una solución de aproximadamente 0,2 mg por ml. Agregar 5 ml de agua, agitar y sonicar durante 1 minuto. Agregar un volumen de metanol igual a la mitad de la capacidad del matraz aforado y sonicar nuevamente durante 1 minuto. Completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución y 5,0 ml de la *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Filtrar y descartar los primeros 20 ml del filtrado.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración en Prednisona*. Calcular la cantidad de $C_{21}H_{26}O_5$ en cada Comprimido de Prednisona, en base a la cantidad declarada.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Diluyente, Solución del estándar interno, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Prednisona*.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Prednisona. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 20 mg de prednisona, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 5 ml de agua, sonicar durante 1 minuto, agregar 50 ml de metanol, sonicar durante 1 minuto, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución y 5,0 ml de *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Filtrar y descartar los primeros 20 ml del filtrado.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración en Prednisona*. Calcular la cantidad de $C_{21}H_{26}O_5$ en los Comprimidos de Prednisona, de acuerdo a la cantidad declarada.

PRIMAQUINA, FOSFATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Fosfato de Primaquina deben contener no menos de 93,0 por ciento y no más de 107,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{15}H_{21}N_3O \cdot 2H_3PO_4$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Fosfato de Primaquina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Pesar una cantidad equivalente a 25 mg de fosfato de primaquina a partir del polvo fino obtenido en *Preparación muestra* en *Valoración*. Mezclar con 10 ml de agua durante 15 minutos y filtrar. Diluir 0,1 ml del filtrado con 1 ml de agua y agregar 1 gota de cloruro de oro (SR): se debe producir inmediatamente color violeta azulado. [NOTA: retener una porción del filtrado obtenido para el ensayo de *Identificación B*.]

B - Agregar al resto del filtrado obtenido en *Identificación A*, 5 ml de trinitrofenol (SR): se debe formar un precipitado amarillo. Lavar el precipitado con agua fría y secar a 105 °C durante 2 horas: el picrato funde entre 208 y 215 °C.

Precaución - Los picratos pueden estallar.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,01 N; 900 ml.

Tiempo: 60 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y determinar la cantidad de $C_{15}H_{21}N_3O \cdot 2H_3PO_4$ disuelta, mediante la siguiente técnica.

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Solución de 1-pentanosulfonato de sodio - Agregar aproximadamente 960 mg de 1-pentanosulfonato de sodio y 1 ml de ácido acético glacial a 400 ml de agua y mezclar.

Fase móvil - Metanol y *Solución de 1-pentanosulfonato de sodio* (60:40). Filtrar y

desgasificar. Hacer ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Preparar una solución de Fosfato de Primaquina SR-FA de concentración similar a la de las alícuotas en ensayo, en el mismo *Medio*

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 3,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de las alícuotas filtradas y de la *Solución estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales.

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{15}H_{21}N_3O \cdot 2H_3PO_4$ se debe disolver en 60 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido

Pesar y reducir a polvo fino un Comprimido de Fosfato de Primaquina, transferir a un vaso de precipitados, agregar 5 ml de ácido clorhídrico y alrededor de 25 g de hielo molido, luego agregar agua para completar a volumen total, aproximadamente 50 ml. Proceder según se indica en 730. *Titulación con nitritos*, comenzando donde dice: "*titular lentamente...*" y empleando como titulante nitrito de sodio 0,01 M (SV), recientemente preparado a partir de nitrito de sodio 0,1 M (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada ml de nitrito de sodio 0,01 M equivale a 4,553 mg de $C_{15}H_{21}N_3O \cdot 2H_3PO_4$.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Pesar y reducir a polvo fino no menos de treinta Comprimidos. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 700 mg de fosfato de primaquina y transferir a un vaso de precipitados. Agregar 50 ml de agua y ácido clorhídrico suficiente para proporcionar un exceso de aproximadamente 5 ml y proceder según se indica en 730. *Titulación con nitritos*, comenzando donde dice: "*enfriar hasta aproximadamente 15 °C...*". Cada ml de nitrito de sodio 0,1 M equivale a 45,53 mg de $C_{15}H_{21}N_3O \cdot 2H_3PO_4$.

PROMETAZINA, CLORHIDRATO DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Clorhidrato de Prometazina es una solución estéril de *Clorhidrato de Prometazina en Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{17}H_{20}N_2S \cdot HCl$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Prometazina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos monodosis o multidosis, de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

[NOTA: en todos los procedimientos siguientes, proteger las muestras, la *Sustancia de referencia* y las soluciones que las contengan, realizando los procedimientos rápidamente, bajo luz de baja intensidad o empleando material de vidrio inactínico].

Identificación

Agregar un volumen de la Solución Inyectable de Clorhidrato de Prometazina, equivalente a 50 mg de clorhidrato de prometazina, a 20 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 1.000) dentro de una ampolla de decantación. Lavar la solución con una porción de 20 ml de cloruro de metileno, descartando el lavado. Agregar 2 ml de hidróxido de sodio 1 N y 20 ml de cloruro de metileno y agitar durante 2 minutos. Evaporar el extracto de cloruro de metileno en un baño de vapor hasta sequedad con la ayuda de una corriente de nitrógeno. Disolver el residuo en 4 ml de disulfuro de carbono, filtrar si fuera necesario y proceder según se indica en 490. *Identificación de bases orgánicas nitrogenadas*.

Determinación del pH <250>

Entre 4,0 y 5,5.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 5,0 Unidades de Endotoxina por mg de Clorhidrato de Prometazina.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por grupos fenilo unidos químicamente a partículas porosas de sílice de 5 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 1,0 g de 1-pentanosulfonato de sodio en 500 ml de agua, agregar 500 ml de acetonitrilo y 5 ml de ácido acético glacial. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Prometazina SR-FA en *Fase móvil* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Clorhidrato de Prometazina, equivalente a 50 mg de clorhidrato de prometazina, a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, diluir a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Solución de aptitud del sistema - Disolver una cantidad apropiada de fenotiazina en la *Preparación estándar* para obtener una solución que contenga aproximadamente 10 μg de fenotiazina por ml.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de prometazina y fenotiazina no debe ser menor de 3,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 30 μl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Los tiempos de retención relativos deben ser 1,0 para la prometazina y aproximadamente 1,6 para la fenotiazina. Calcular la cantidad de $C_{17}H_{20}N_2S \cdot HCl$ en la Solución Inyectable de Clorhidrato de Prometazina. De acuerdo a la cantidad declarada.

PROPRANOLOL, CLORHIDRATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Clorhidrato de Propranolol deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{16}H_{21}NO_2 \cdot HCl$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Propranolol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. Pesar una cantidad equivalente a 100 mg de clorhidrato de propranolol a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*, diluir a 20 ml con agua, filtrar, alcalinizar con hidróxido de sodio 1 N y extraer con tres porciones de 10 ml de éter. Lavar los extractos con agua hasta que esté libre de álcali, secar con sulfato de sodio anhidro, filtrar, evaporar el filtrado hasta sequedad y secar el residuo a 50 °C a 15 mm Hg durante aproximadamente 1 hora: el espectro de absorción infrarroja del residuo obtenido se debe corresponder con el de una preparación similar de Propranolol SR-FA.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: Ácido clorhídrico diluido (1 en 100); 1 litro.

Tiempo: 30 minutos.

Procedimiento - Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{16}H_{21}NO_2 \cdot HCl$ disuelta a partir de las absorbancias medidas en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 290 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Clorhidrato de Propranolol SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 75 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{16}H_{21}NO_2 \cdot HCl$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido

Solución muestra - Transferir un Comprimido de Clorhidrato de Propranolol a un matraz aforado de 100 ml, agregar 5 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 100) y dejar en reposo, agitar ocasionalmente por rotación, hasta que se desintegre. Agregar 70 ml de metanol y sonicar durante 1 minuto. Completar a volumen con metanol, mezclar y centrifugar una porción de esta solución. Diluir cuantitativamente una alícuota del sobrenadante transparente con metanol hasta obtener una solución de aproximadamente 40 µg de clorhidrato de propranolol por ml.

Solución estándar - Preparar una solución de Clorhidrato de Propranolol SR-FA en metanol de aproximadamente 40 µg por ml.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorción, 290 nm, con un espectrofotómetro, empleando metanol como blanco. Calcular la cantidad de $C_{16}H_{21}NO_2 \cdot HCl$ en cada Comprimido de Clorhidrato de Propranolol, en base a la cantidad declarada.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación madre del estándar, Preparación estándar, Solución de resolución y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración* en *Clorhidrato de Propranolol*.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Clorhidrato de Propranolol. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 50 mg de clorhidrato de propranolol, transferir a un matraz aforado de 50 ml, agregar 40 ml de metanol, agitar y sonicar durante 5 minutos. Completar a volumen con metanol, mezclar y filtrar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* en *Valoración* en *Clorhidrato de Propranolol*. Calcular la cantidad de $C_{16}H_{21}NO_2 \cdot HCl$ en los Comprimidos de Clorhidrato de Propranolol, de acuerdo a la cantidad declarada.

PROPRANOLOL, CLORHIDRATO DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Solución Inyectable de Clorhidrato de Propranolol,
de acuerdo a la cantidad declarada.

Definición - La Solución Inyectable de Clorhidrato de Propranolol es una solución estéril de *Clorhidrato de Propranolol en Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{16}H_{21}NO_2 \cdot HCl$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Propranolol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos monodosis, de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación del pH <250>

Entre 2,8 y 4,0.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 55,6 Unidades de Endotoxina por mg de Clorhidrato de Propranolol.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar del estándar, Preparación estándar, Solución de resolución y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Clorhidrato de Propranolol*.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Clorhidrato de Propranolol, equivalente a 5 mg de clorhidrato de propranolol, a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con metanol y mezclar.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración en Clorhidrato de Propranolol*. Calcular la cantidad de $C_{16}H_{21}NO_2 \cdot HCl$ en la

QUINIDINA, SULFATO DE CÁPSULAS

Definición - Las Cápsulas de Sulfato de Quinidina están compuestas por sulfato de quinidina y sulfato de dihidroquinidina. Deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de Sulfato de Quinidina calculada como $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Sulfato de Quinidina SR-FA. Quininona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Pesar una cantidad equivalente a 100 mg de sulfato de quinidina obtenida a partir del contenido de las Cápsulas de Sulfato de Quinidina en la *Preparación muestra* en *Valoración*. Mezclar con 10 ml de ácido sulfúrico diluido 1 en 350, agitar y filtrar: una dilución apropiada del filtrado debe presentar una fluorescencia azul intensa, la cual debe desaparecer con el agregado de unas pocas gotas de ácido clorhídrico.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

C - Pesar una cantidad equivalente a 100 mg de sulfato de quinidina obtenida a partir del contenido de las Cápsulas de Sulfato de Quinidina en la *Preparación muestra* en *Valoración*. Mezclar con ácido clorhídrico diluido 1 en 100, agitar y filtrar: debe responder a los ensayos para *Sulfato* <410>.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,01 N; 900 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta, a la longitud de onda de máxima absorción, 248 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Sulfato de Quinidina SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 85 % (*Q*) de la cantidad declarada de $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido.

Diluyente - Ácido clorhídrico diluido 1 en 100.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Sulfato de Quinidina SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 40 µg por ml.

Solución muestra - Transferir el contenido de una Cápsula de Sulfato de Quinidina a un matraz aforado de 250 ml, agregar aproximadamente 175 ml de *Diluyente*. Agitar aproximadamente 30 minutos, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Filtrar una porción de la mezcla, descartando los primeros 20 ml del filtrado.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución muestra*, diluida cuantitativamente, si fuera necesario, y la *Solución estándar*, en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, 345 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando agua como blanco. Calcular la cantidad de $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$ en cada Cápsula de Sulfato de Quinidina, en base a la cantidad declarada.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria, Fase móvil, Solución estándar, Solución estándar diluida, Solución de sustancias relacionadas, Revelador 1, Revelador 2 y Procedimiento - Proceder según se indica en *Pureza cromatográfica* en *Sulfato de Quinidina*.

Solución muestra - Pesar una cantidad equivalente a 150 mg de sulfato de quinidina obtenida a partir del contenido de las Cápsulas de Sulfato de Quinidina en la *Preparación muestra* en *Valoración*, mezclar con 25 ml de alcohol diluido, agitar durante 10 minutos y filtrar. Emplear el filtrado como *Solución muestra*.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Solución de ácido metanosulfónico, Solución de dietilamina, Fase móvil, Solución de aptitud de sistema, Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Límite de sulfato de dihidroquinidina* en *Sulfato de Quinidina*.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Sulfato de Quinidina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver

en *Fase móvil*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Preparación muestra - Extraer el contenido de no menos de veinte Cápsulas de Sulfato de Quinidina y mezclar. Pesar una cantidad equivalente a 160 mg de sulfato de quinidina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 80 ml de metanol y agitar durante 30 minutos. Completar a volumen con metanol, filtrar y descartar los primeros 10 ml del filtrado. Transferir 3,0 ml del filtrado a un matraz aforado de 25 ml, disolver, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$ en las Cápsulas de Sulfato de Quinidina como la suma de las respuestas de los picos sulfato de quinidina y sulfato de dihidroquinidina obtenidos a partir de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*.

QUINIDINA, SULFATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Sulfato de Quinidina están compuestos por sulfato de quinidina y sulfato de dihidroquinidina. Deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de Sulfato de Quinidina calculada como $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$, y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Sulfato de Quinidina SR-FA. Quininona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Pesar una cantidad equivalente a 100 mg de sulfato de quinidina a partir del polvo fino obtenido en *Preparación muestra* en *Valoración*. Mezclar con 10 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 350) y filtrar: debe presentar una fluorescencia azul intensa, la cual debe desaparecer con el agregado de unas pocas gotas de ácido clorhídrico.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

C - Pesar una cantidad equivalente a 100 mg de sulfato de quinidina a partir del polvo fino obtenido en *Preparación muestra* en *Valoración*. Mezclar con ácido clorhídrico diluido (1 en 100) y filtrar: el filtrado debe responder a los ensayos para *Sulfato* <410>.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,01 N; 900 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 248 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Sulfato de Quinidina SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 85 % (*Q*) de la cantidad declarada de $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido.

Diluyente - Ácido clorhídrico diluido (1 en 100).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Sulfato de Quinidina SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 40 µg por ml.

Solución muestra - Pesar y reducir a polvo fino un Comprimido de Sulfato de Quinidina, transferir a un matraz aforado de 250 ml, agregar aproximadamente 175 ml de *Diluyente* y agitar aproximadamente 30 minutos. Completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Filtrar y descartar los primeros 20 ml del filtrado.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y la *Solución estándar* en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorción, 345 nm, con un espectrofotómetro, empleando agua como blanco. Calcular la cantidad de $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$ en cada Comprimido de Sulfato de Quinidina, en base a la cantidad declarada.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria, Fase móvil, Solución de sustancias relacionadas, Revelador 1, Revelador 2, Solución estándar y Procedimiento - Proceder según se indica en *Pureza cromatográfica* en *Sulfato de Quinidina*.

Solución muestra - Pesar una cantidad equivalente a 150 mg de sulfato de quinidina a partir del polvo fino obtenido en *Preparación muestra* en *Valoración*. Agitar con 25 ml de alcohol diluido durante 10 minutos y filtrar.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Solución de ácido metanosulfónico, Solución de dietilamina, Fase móvil, Solución de aptitud de sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Límite de sulfato de dihidroquinidina* en *Sulfato de Quinidina*.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Sulfato de Quinidina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en *Fase móvil*, completar a volumen con la mismo solvente y mezclar.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Sulfato de Quinidina. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 160 mg de sulfato de quinidina, transferir a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 80 ml de

metanol y agitar durante 30 minutos. Completar a volumen con metanol, filtrar y descartar los primeros 10 ml del filtrado. Transferir 3,0 ml del filtrado a un matraz aforado de 25 ml, disolver, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$ en los Comprimidos de Sulfato de Quinidina como la suma de las respuestas de los picos sulfato de quinidina y sulfato de dihidroquinidina obtenidos a partir de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*.

QUININA, SULFATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Sulfato de Quinina están compuestos por sulfato de quinina y sulfato de dihidroquinina. Deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de Sulfato de Quinina calculada como $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Sulfato de Quinina SR-FA. Quininona SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Pureza cromatográfica*. El valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

B - Pesar una cantidad equivalente a 20 mg de sulfato de quinina a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*. Agitar con 10 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 100) y filtrar: el filtrado debe responder los ensayos para *Sulfato <410>*.

C - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,01 N; 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 248 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Sulfato de Quinina SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación
<740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido.

Diluyente - Ácido clorhídrico diluido (1 en 100).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Sulfato de Quinina SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 40 µg por ml.

Solución muestra - Reducir a polvo fino un Comprimido de Sulfato de Quinina, transferir a un matraz aforado de 250 ml, agregar aproximadamente 175 ml de *Diluyente* y agitar durante aproximadamente 30 minutos. Completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Filtrar y descartar los primeros 20 ml del filtrado.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y la *Solución estándar* en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, 345 nm, con un espectrofotómetro, empleando agua como blanco. Calcular la cantidad de $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$ en cada Comprimido de Sulfato de Quinina, en base a la cantidad declarada.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria, Fase móvil, Solución de sustancias relacionadas, Revelador 1, Revelador 2, Solución estándar y Procedimiento - Proceder según se indica en *Pureza cromatográfica* en *Sulfato de Quinina*.

Solución muestra - Pesar una cantidad equivalente a 150 mg de sulfato de quinina a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*. Agitar con 25 ml de alcohol diluido durante aproximadamente 10 minutos y filtrar.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Solución de ácido metanosulfónico, Solución de dietilamina, Fase móvil, Solución de aptitud de sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Límite de sulfato de dihidroquinona* en *Sulfato de Quinina*.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 20 mg de Sulfato de Quinina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en *Fase móvil*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Sulfato de Quinina. Pesar una cantidad equivalente a 160 mg de sulfato de quinina, transferir a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 80 ml de metanol y agitar

durante 30 minutos. Completar a volumen con metanol, filtrar y descartar los primeros 10 ml del filtrado. Transferir 3,0 ml del filtrado a un matraz aforado de 25 ml, disolver, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$ en los Comprimidos de Sulfato de Quinina como la suma de las respuestas de los picos sulfato de quinina y sulfato de dihidroquinina obtenidos a partir de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*.

RANITIDINA, CLORHIDRATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Clorhidrato de Ranitidina deben contener el equivalente a no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de ranitidina ($C_{13}H_{22}N_4O_3S$) y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Ranitidina SR-FA. Impureza A de Ranitidina SR-FA: hemifumarato de 5-[[2-(2-aminoetil)tio]metil]-*N,N*-dimetil-2-furanmetanamina. Impureza C de Ranitidina SR-FA: *N*-[2-[[5-[(dimetilamino)metil]-2-furanil]metil]sulfonil]etil]-*N*-metil-2-nitro-1,1-etenodiamina.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Pureza cromatográfica*. El valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

C - Pesar y reducir a polvo fino un Comprimido de Clorhidrato de Ranitidina. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 100 mg de clorhidrato de ranitidina, agitar con 2 ml de agua y filtrar: el filtrado debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{13}H_{22}N_4O_3S$ disuelta a partir de las absorbancias medidas en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 314 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Clorhidrato de Ranitidina SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 80 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{13}H_{22}N_4O_3S$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo, alcohol isopropílico, hidróxido de amonio y agua (25:15:5:1).

Solución muestra - Agitar una cantidad de los Comprimidos de Clorhidrato de Ranitidina en un volumen apropiado de metanol para que se desintegren completamente y filtrar. Preparar una solución en metanol de aproximadamente 20 mg por ml (equivalente a 22,4 mg de clorhidrato de ranitidina por ml).

Solución estándar - Pesar exactamente una cantidad Clorhidrato de Ranitidina SR-FA y disolver en metanol para obtener una solución de aproximadamente 0,22 mg por ml.

Solución estándar diluida A - Diluir cuantitativamente una porción de la *Solución estándar* con metanol para obtener una solución de aproximadamente 110 µg por ml.

Solución estándar diluida B - Diluir cuantitativamente una porción de la *Solución estándar* con metanol para obtener una solución de aproximadamente 66 µg por ml.

Solución estándar diluida C - Diluir cuantitativamente una porción de la *Solución estándar* con metanol para obtener una solución de aproximadamente 22 µg por ml.

Solución estándar diluida D - Diluir cuantitativamente una porción de la *Solución estándar* con metanol para obtener una solución de aproximadamente 11 µg por ml.

Solución de resolución - Disolver una cantidad de Impureza A de Ranitidina SR-FA en metanol para obtener una solución de aproximadamente 1,27 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de la *Solución muestra*, 10 µl de la *Solución estándar* y 10 µl de las *Soluciones estándar diluidas A, B, C y D*. Además, aplicar por separado sobre la misma placa 10 µl de la *Solución muestra* y sobre esta aplicación 10 µl de la *Solución*

de resolución. Dejar secar las aplicaciones. Desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Exponer la placa a vapores de yodo en una cámara cerrada hasta que el cromatograma se revele completamente. Examinar la placa y comparar las intensidades de cualquier mancha secundaria observada en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* con las intensidades de las manchas principales en los cromatogramas obtenidos con la *Solución estándar* y las *Soluciones estándar diluidas A, B, C y D*: el ensayo sólo es válido si existe resolución *R* completa entre las manchas primarias en el cromatograma de la *Solución muestra* combinada con la de *Solución de resolución* y si se observa una mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar diluida D*. Ninguna mancha secundaria debe presentar mayor intensidad que la de la *Solución estándar diluida A* (0,5 %) y ninguna otra mancha secundaria debe ser más intensa que la de la *Solución estándar diluida B* (0,3 %). La suma de las intensidades de todas las manchas secundarias obtenidas a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor de 2,0 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 322 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol y acetato de amonio acuoso 0,1 M (85:15). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de aptitud del sistema - Disolver cantidades exactamente pesadas de Clorhidrato de Ranitidina SR-FA e Impureza C de Ranitidina en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,112 mg por ml y 0,01 mg por ml, respectivamente.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Ranitidina SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 0,112 mg por ml (equivalente 0,100 mg de ranitidina base).

Preparación muestra - Transferir diez Comprimidos de Clorhidrato de Ranitidina a un matraz aforado de 250 ml, agregar *Fase móvil* y agitar hasta que los comprimidos se hayan desintegrado

completamente. Completar a volumen con *Fase móvil* y filtrar. Diluir el filtrado con *Fase móvil* para obtener una solución con una concentración similar a la *Preparación estándar*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de ranitidina e impureza C de ranitidina no debe ser menor de 1,5. Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría para el pico de clorhidrato de ranitidina no debe ser mayor de 2; la eficiencia de la columna no debe ser menor de 700 platos teóricos; y la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₁₃H₂₂N₄O₃S en los Comprimidos de Clorhidrato de Ranitidina, de acuerdo a la cantidad declarada.

RANITIDINA, CLORHIDRATO DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Clorhidrato de Ranitidina es una solución estéril de *Clorhidrato de Ranitidina en Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de ranitidina ($C_{13}H_{22}N_4O_3S$) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Ranitidina SR-FA. Impureza A de Ranitidina SR-FA: hemifumarato de 5-[[[2-aminoetil]tio]metil]-*N,N*-dimetil-2-furanmetanamina]. Impureza C de Ranitidina SR-FA: [N-[2-[[[5-[(dimetilamino)metil]-2-furanil]metil] sulfínil]etil]-*N*-metil-2-nitro-1,1-etenodiamina].

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos monodosis o multidosis, de vidrio Tipo I. Almacenar a una temperatura por debajo de 30 °C. Evitar el congelamiento.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Pureza cromatográfica*. El valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria, Fase móvil y Solución de resolución - Proceder según se indica en *Pureza cromatográfica en Comprimidos de Clorhidrato de Ranitidina*.

Solución muestra - Diluir cuantitativamente la Solución Inyectable de Clorhidrato de Ranitidina con agua, si fuera necesario, para obtener una solución de aproximadamente 25 mg de ranitidina por ml.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Ranitidina SR-FA en agua para obtener una solución de aproximadamente 0,56 mg por ml.

Solución estándar diluida A - Diluir cuantitativamente una porción de la *Solución*

estándar con agua para obtener una solución de aproximadamente 280 µg por ml.

Solución estándar diluida B - Diluir cuantitativamente una porción de la *Solución estándar* con agua para obtener una solución de aproximadamente 140 µg por ml.

Solución estándar diluida C - Diluir cuantitativamente una porción de la *Solución estándar* con agua para obtener una solución de aproximadamente 84 µg por ml.

Solución estándar diluida D - Diluir cuantitativamente una porción de la *Solución estándar* con agua para obtener una solución de aproximadamente 28 µg por ml.

Solución estándar diluida E - Diluir cuantitativamente una porción de la *Solución estándar* con agua para obtener una solución de aproximadamente 14 µg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de la *Solución estándar*, 10 µl de las *Soluciones estándar diluidas A, B, C, D y E* y el volumen requerido de *Solución muestra*, equivalente a 250 µg de ranitidina. Además, aplicar por separado una carga adicional del mismo volumen de la *Solución muestra* sobre la misma placa y sobre ésta, aplicar 10 µl de la *Solución de resolución*. Dejar secar las aplicaciones. Desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Exponer la placa a vapores de yodo en una cámara cerrada hasta que el cromatograma se revele completamente. Examinar la placa y comparar las intensidades de cualquier mancha secundaria observada en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* con las intensidades de las manchas principales en los cromatogramas obtenidos con la *Solución estándar* y las *Soluciones estándar diluidas A, B, C, D y E*: el ensayo sólo es válido si existe resolución *R* completa entre las manchas primarias de la *Solución muestra* combinada con la *Solución de resolución* y si se observa una mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar diluida E*. Ninguna mancha secundaria debe presentar mayor intensidad que la de la mancha principal obtenida con la *Solución estándar* (2,0 %) y ninguna otra mancha secundaria debe ser mayor en tamaño o intensidad que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar diluida A* (1,0 %). La suma de las intensidades de todas las manchas secundarias obtenidas a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor de 5,0 %.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 6,7 y 7,3.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 7,00 Unidades de Endotoxina por mg de ranitidina.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución de aptitud del sistema, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en Valoración en Comprimidos de Clorhidrato de Ranitidina.

Preparación muestra - Diluir un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Clorhidrato de Ranitidina con Fase móvil, cuantitativamente y en etapas si fuera necesario, para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg de ranitidina por ml.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la Preparación estándar y la Preparación muestra, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₁₃H₂₂N₄O₃S en la Solución Inyectable de Clorhidrato de Ranitidina, de acuerdo a la cantidad declarada.

RANITIDINA, CLORHIDRATO DE SOLUCIÓN ORAL

Definición - La Solución Oral de Clorhidrato de Ranitidina debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de ranitidina ($C_{13}H_{22}N_4O_3S$) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Ranitidina SR-FA. Impureza A de Ranitidina SR-FA: hemifumarato de [5-[[2-(aminoetil)tio]metil]-N,N-dimetil-2-fumaranmetanamina.

Impureza B de Ranitidina SR-FA: [N,N'-bis[2-[[5-[(dimetilamino)metil]-2-furanil]metil]tio]etil]-2-nitro-1,1-etenediamina.

Impureza C de Ranitidina SR-FA: N-[2-[[[5-[(dimetilamino)metil]-2-furanil]metil]sufinil]etil]-N'-metil-2-nitro-1,1-etendiamina

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto. Conservar a 25 °C, evitar el congelamiento.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Pureza cromatográfica*. El valor de R_f de la mancha principal obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación del pH <250>

Entre 6,7 y 7,5.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles<90>

Debe cumplir con los requisitos del ensayo para la ausencia de *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* y el recuento aerobios viables no debe ser mayor de 100 ufc.

Pureza cromatográfica

Fase estacionaria, Fase móvil y Solución de resolución - Proceder según se indica en *Pureza cromatográfica* en *Comprimidos de Clorhidrato de Ranitidina*.

Diluyente - Metanol y agua (50:50).

Solución muestra - Diluir cuantitativamente la Solución Oral de Clorhidrato de Ranitidina con *Diluyente*, si fuera necesario, para obtener una solu-

ción de aproximadamente 10 mg de ranitidina por ml.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Ranitidina SR-FA *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 448 µg por ml.

Solución estándar diluida A - Diluir cuantitativamente una porción de la *Solución estándar* con *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 224 µg por ml.

Solución estándar diluida B - Diluir cuantitativamente una porción de la *Solución estándar* con *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 112 µg por ml.

Solución estándar diluida C - Diluir cuantitativamente una porción de la *Solución estándar* con *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 56 µg por ml.

Solución estándar diluida D - Diluir cuantitativamente una porción de la *Solución estándar* con *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 22 µg por ml.

Solución estándar diluida E - Diluir cuantitativamente una porción de la *Solución estándar* con *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 11 µg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de la *Solución estándar*, 10 µl de las *Soluciones estándar diluidas A, B, C, D y E* y 20 µl de la *Solución muestra*. Además, aplicar por separado 10 µl de la *Solución muestra* y sobre ésta, aplicar 10 µl de la *Solución de resolución*. Dejar secar las aplicaciones. Desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Exponer la placa a vapores de yodo en una cámara cerrada hasta que el cromatograma se revele completamente. Examinar la placa y comparar las intensidades de cualquier mancha secundaria observada en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* con las intensidades de las manchas principales en los cromatogramas obtenidos con la *Solución estándar* y las *Soluciones estándar diluidas A, B, C, D y E*: el ensayo sólo es válido si existe resolución *R* completa entre las manchas primarias de la *Solución muestra* combinada con la *Solución de resolución* y si se observa una mancha en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar diluida E*. Ninguna mancha secundaria debe presentar mayor intensidad que la de la mancha principal obtenida con la *Solución estándar* (2,0 %) y ninguna otra mancha secundaria debe ser mayor en tamaño o intensidad que la mancha principal obtenida con la *Solución estándar diluida A* (1,0 %). La

suma de las intensidades de todas las manchas secundarias obtenidas a partir de la *Solución muestra* no debe ser mayor de 5,0 %.

VALORACIÓN

Fase móvil, Solución de aptitud del sistema, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Comprimidos de Clorhidrato de Ranitidina*.

Sistema cromatográfico - Proceder según se indica en *Sistema cromatográfico en Valoración en Comprimidos de Clorhidrato de Ranitidina*, excepto que debe emplearse una precolumna rellena con fase estacionaria también constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro.

Preparación muestra - Diluir una cantidad exactamente pesada de la Solución Oral de Clorhidrato de Ranitidina, cuantitativamente y en etapas si fuera necesario, con *Fase móvil* para obtener una solución de 0,1 mg de ranitidina por ml.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$ en la Solución Oral de Clorhidrato de Ranitidina, de acuerdo a la cantidad declarada.

RIFAMPICINA

CÁPSULAS

Definición - Las Cápsulas de Rifampicina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Rifampicina SR-FA. Quinona de Rifampicina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo y metanol (90:10).

Solución estándar - Disolver una cantidad apropiada de Rifampicina SR-FA en cloroformo para obtener una solución de aproximadamente 10 mg por ml.

Solución muestra - Pesar una cantidad equivalente a 50 mg de rifampicina a partir del contenido de las Cápsulas de Rifampicina obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*, mezclar con 5 ml de cloroformo y filtrar.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 3 μ l de la *Solución muestra* y 3 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar la placa, localizando las manchas rojas: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se deben corresponder con el de la *Solución estándar*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,1 N; 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con

Medio, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ disuelta a partir de las absorbancias medidas en el ultravioleta, a la longitud de onda de máxima absorción, 475 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Rifampicina SR-FA, en el mismo medio, mantenida a 37 °C.

Tolerancia - No menos de 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para la uniformidad de contenido.

Sistema cromatográfico, Solución reguladora de fosfato de pH 3,1, Fase móvil, Diluyente 1, Diluyente 2 y Solución de Resolución - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Proceder según se indica en *Preparación estándar* en *Valoración*.

Solución muestra - Transferir el contenido de una Cápsula de Rifampicina a un matraz aforado para obtener una solución de aproximadamente 1,5 mg de rifampicina por ml. Lavar la cubierta de la Cápsula de Rifampicina con una pequeña cantidad de *Diluyente 1* y agregar el lavado obtenido al matraz. Agregar *Diluyente 1* hasta cuatro quintos del volumen del matraz. Proceder según se indica en *Preparación muestra* en *Valoración*, comenzando donde dice: "sonicar durante aproximadamente 5 minutos..."

Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración*. Calcular la cantidad de $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ en cada Cápsula de Rifampicina, en base a la cantidad declarada.

Pérdida por secado <680>

Secar aproximadamente 100 mg del contenido de las Cápsulas de Rifampicina al vacío a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 3,0 % de su peso.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 10 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas de sílice totalmente porosas, de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Solución reguladora de fosfato de pH 3,1 - Transferir 136,1 g de fosfato monobásico de potasio a un matraz aforado de 1 litro. Disolver en 500 ml de agua y agregar 6,3 ml de ácido fosfórico. Completar a volumen con agua y mezclar (pH 3,1±0,1).

Fase móvil - Agua, acetonitrilo, *Solución reguladora de fosfato de pH 3,1*, ácido cítrico 1,0 M y perclorato de sodio (51:35:10:2:2). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente 1 - Acetonitrilo y metanol (1:1).

Diluyente 2 - Agua, acetonitrilo, fosfato dibásico de sodio 1,0 M, fosfato monobásico de potasio y ácido cítrico 1,0 M (640:250:77:23:10).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Rifampicina SR-FA en *Diluyente 1* para obtener una solución de aproximadamente 1,5 mg por ml, sonicar, si fuera necesario, para asegurar la disolución. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con acetonitrilo y mezclar. [NOTA: emplear esta solución dentro de las 5 horas de su preparación.]

Preparación estándar diluida - Transferir 5,0 ml de *Preparación estándar* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Diluyente 2* y mezclar. La solución obtenida contiene aproximadamente 0,03 mg de Rifampicina SR-FA por ml. [NOTA: Inyectar la *Preparación estándar diluida* en el cromatógrafo entre 30 y 60 segundos luego de su preparación.]

Preparación muestra - Extraer el contenido de no menos de veinte Cápsulas de Rifampicina y mezclar. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 300 mg de rifampicina, transferir a un matraz aforado de 200 ml y agregar aproximadamente 180 ml de *Diluyente 1*. Sonicar durante aproximadamente 5 minutos, dejar equilibrar a temperatura ambiente, completar a volumen con *Diluyente 1* y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con acetonitrilo y mezclar. [NOTA: emplear esta solución dentro de las 5 horas de su preparación.] Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Diluyente 2* y mezclar. [NOTA: inyectar la *Preparación muestra* en el cromatógrafo entre 30 y 60 segundos luego de su preparación.]

Solución de resolución - Disolver una cantidad exactamente pesada de Quinona de Rifampicina SR-FA en *Diluyente 1* para obtener una solución de aproximadamente 0,1 mg por ml. Transferir 1,5 ml de esta solución y 5,0 ml de *Preparación estándar* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,6 para quinona de rifampicina y 1,0 para rifampicina; la resolución *R* entre los picos de quinona de rifampicina y rifampicina no debe ser menor de 4,0. Cromatografiar la *Preparación estándar diluida* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 1,0%.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₄₃H₅₈N₄O₁₂ en las Cápsulas de Rifampicina, de acuerdo a la cantidad declarada.

RIFAMPICINA

PARA INYECCIÓN

Definición - La Rifampicina para Inyección debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 115,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias	de	referencia	-
Rifampicina SR-FA.		Quinona	de
Rifampicina SR-FA.			

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto, de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo y metanol (90:10).

Solución muestra - Disolver el contenido de un envase de Rifampicina para Inyección en cloroformo para obtener una solución de aproximadamente 10 mg por ml.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Rifampicina SR-FA en cloroformo para obtener una solución de aproximadamente 10 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 3 μ l de la *Solución muestra* y 3 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore: el valor de *R_f* de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el de la *Solución estándar*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico de principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 1,0 %.

Determinación del pH <250>

Entre 7,8 y 8,8; determinado sobre una solución de aproximadamente 60 mg por ml.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Disolver Rifampicina para Inyección en *Agua para Inyectables* para obtener una solución de aproximadamente 10 mg por ml. Diluir esta solución cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con *Agua para Inyectables* para obtener una solución de aproximadamente 0,12 mg de rifampicina por ml: debe contener menos de 0,5 Unidades de Endotoxina por mg de Rifampicina.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, según se indica en *Método de filtración por membrana*.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos para inyectables de pequeño volumen.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Solución reguladora de fosfato, Fase móvil, Diluyente, Preparación estándar, Solución de resolución y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Rifampicina*.

Preparación muestra 1 (cuando se presenta en envases monodosis) - Reconstituir un envase de Rifampicina para Inyección en un volumen exactamente medido de agua, correspondiente al volumen de diluyente especificado en el rótulo [NOTA: emplear esta solución dentro de las 2 horas de preparación]. Retirar todo el contenido extraíble y transferir a un matraz aforado de capacidad apropiada para que al diluir a volumen con acetonitrilo, se obtenga una solución de aproximadamente 6 mg por ml. [NOTA: emplear esta solución madre dentro de las 5 horas de preparación]. Diluir un volumen exactamente medido de esta solución madre cuantitativamente y en etapas con *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 0,02 mg de rifampicina por ml. [NOTA: preparar esta solución inmediatamente antes de su inyección].

Preparación muestra 2 (cuando en el rótulo se indique la cantidad de Rifampicina en un volumen dado de solución reconstituida) - Reconstituir un envase de Rifampicina para Inyección en un volumen exactamente medido de agua, equivalente al volumen de diluyente especificado en el rótulo. [NOTA: emplear esta solución dentro de las 2 horas de preparación]. Diluir un volumen exactamente medido de la solución reconstituida cuantitativamente y en etapas con acetonitrilo para obtener una solución de aproximadamente 0,2 mg de rifampicina por ml. [NOTA: emplear esta

solución madre dentro de las 5 horas de preparación]. Transferir 10,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. [NOTA: preparar esta solución inmediatamente antes de su inyección].

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración en Rifampicina*. Calcular la cantidad de $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ en la Rifampicina para Inyección, de acuerdo a la cantidad declarada.

RINGER LACTATO

SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición – La Solución Inyectable Ringer Lactato es una solución estéril de Cloruro de Sodio, Cloruro de Potasio, Cloruro de Calcio Dihidrato y Lactato de Sodio en *Agua para Inyectables*, en envases monodosis no mayores a 1 litro, esterilizada en su envase final. Debe contener 0,6 % de Cloruro de sodio, 0,03 % de Cloruro de Potasio, 0,02 % de Cloruro de Calcio Dihidrato y 0,31 % de Lactato de sodio. No debe contener conservantes ni otras sustancias agregadas.

Debe contener cada 100 ml no menos de 285,0 mg y no más de 315,0 mg de sodio (Na^+ como NaCl y $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3\text{Na}$), no menos de 14,2 mg y no más de 17,3 mg de potasio (K^+ equivalentes a no menos de 27,0 mg y no más de 33,0 mg de KCl), no menos de 4,90 mg y no más de 6,00 mg de calcio (Ca^{+2} equivalentes a no menos de 18,0 mg y no más de 22,0 mg de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), no menos de 368,0 mg y no más de 408,0 mg de cloruro (como NaCl , KCl , y $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) y no menos de 231,0 mg y no más de 261,0 mg de lactato ($\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3^-$ equivalentes a no menos de 290,0 mg y no más de 330,0 mg de $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3\text{Na}$). Debe cumplir con las siguientes especificaciones.

[NOTA: Los contenidos de iones calcio, potasio, sodio, cloruro y lactato de la Solución Inyectable de Ringer Lactato son aproximadamente 2,7; 4; 130; 109,3 y 27,4 miliequivalentes por litro, respectivamente.]

Sustancia de Referencia - Lactato de Sodio SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis de vidrio Tipo I o Tipo II o de plástico.

ENSAYOS

Identificación

Responde a los ensayos para *Sodio, Potasio, Calcio, Cloruro y Lactato* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 6,0 y 7,5.

Límite de metales pesados <590>

Método I. Evaporar 67 ml de Solución Inyectable Ringer Lactato a un volumen de aproximadamente 20 ml, agregar 2 ml de ácido acético 1 N y diluir a 25 ml con agua. El límite es 0,3 ppm.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 0,5 Unidades de Endotoxina por ml.

Ensayo de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Para calcio

Transferir 50,0 ml exactamente medidos de Solución Inyectable Ringer Lactato a un erlenmeyer, agregar 5 ml de hidróxido de sodio (SR), 0,05 g de azul de hidroxinaftol y titular con edetato disódico 0,01 M (SV). Cada ml de edetato disódico 0,01 M equivale a 1,4701 mg de Cloruro de Calcio Dihidrato.

Para potasio

Preparación madre del estándar - Pesar exactamente alrededor de 191 mg de cloruro de potasio, previamente secado a 105 °C durante 2 horas. Transferir a un matraz aforado de 1 litro, disolver con 50 ml de agua, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Cada ml de esta solución contiene 100 µg de potasio.

Preparaciones estándar - Pesar exactamente alrededor de 1,093 g de cloruro de sodio, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a volumen con agua. Transferir 5 porciones de 10,0 ml de esta solución a sendos matraces aforados de 100 ml conteniendo 10 ml de un agente humectante no iónico (1:500). Completar a volumen con agua uno de los matraces para obtener un blanco. A los matraces restantes, agregar 5,0; 10,0; 15,0 y 20,0 ml, de *Preparación madre del estándar*, respectivamente, completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación muestra - Transferir 10,0 ml de Solución Inyectable Ringer Lactato a un matraz aforado de 100 ml, agregar 10,0 ml de un agente humectante no iónico (1:500), completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento – Emplear un fotómetro de llama a la longitud de onda de máxima transmitancia, 766 nm. Ajustar el equipo a transmitancia cero con el blanco y a transmitancia 100% con la *Preparación estándar* más concentrada. Determinar las transmitancias del resto de las *Preparaciones estándar*, realizar un gráfico de transmitancia en función de la concentración de potasio y calcular la recta que mejor se ajuste. Determinar el porcentaje de transmitancia de la *Preparación muestra* y calcular el contenido de potasio en mg por 100 ml en la Solución Inyectable Ringer Lactato.

Para Sodio

Preparación madre del estándar - Pesar exactamente alrededor de 254 mg de cloruro de sodio, previamente secado a 105 °C durante 2 horas. Transferir a un matraz aforado de 1 litro, disolver en 50 ml de agua, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Cada ml de esta solución contiene 100 µg de sodio.

Preparaciones estándar - Transferir cinco porciones de 10,0 ml de una solución de un agente humectante no iónico (1 en 500) a sendos matraces aforados de 100 ml. Completar a volumen con agua uno de los matraces para obtener un blanco y mezclar. A los matraces restantes agregar 5,0; 10,0; 15,0 y 20,0 ml de *Preparación madre del estándar*, respectivamente, completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación muestra - Transferir 5,0 ml de Solución Inyectable Ringer Lactato a un matraz aforado de 1 litro, agregar 100 ml de una solución de un agente humectante no iónico (1 en 500), completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento – Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración Para Potasio*, ajustando el fotómetro de llama a la longitud de onda de máxima transmitancia, 589 nm. Calcular el contenido de sodio en mg por 100 ml en la Solución Inyectable Ringer Lactato.

Para cloruro

Transferir 10,0 ml de Solución Inyectable Ringer Lactato a un erlenmeyer, agregar agua hasta 50 ml. Titular con nitrato de plata 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de nitrato de plata 0,1 N equivale a 3,545 mg de cloruro.

Para Lactato

Sistema cromatográfico (ver <100> Cromatografía) - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 210 nm y una columna de 10 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1 ml por minuto.

Fase móvil - Transferir 1 ml de ácido fórmico y 1 ml de diclohexilamina a un matraz aforado de 1 litro y completar a volumen con agua. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes

necesarios (ver *Aptitud del sistema* en <100>. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Lactato de sodio SR-FA en agua para obtener una solución de aproximadamente 3 mg por ml.

Preparación muestra - Emplear la Solución Inyectable Ringer Lactato.

Solución de aptitud del sistema - Disolver cantidades adecuadas de acetato de sodio anhidro y Lactato de sodio SR-FA en agua para obtener una solución de aproximadamente 3 mg de cada una por ml.

Aptitud del sistema (ver 100. Cromatografía)- Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de acetato y lactato no debe ser menor de 2. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar la respuesta de los picos según se indica en *procedimiento*: el factor de asimetría para el pico del analito no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y de la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad *L* de lactato (C₃H₅O₃⁻) en mg cada 100 ml en la Solución Inyectable Ringer Lactato por la siguiente fórmula:

$$L = C \times (89,1 / 112,1) \times (r_M/r_E) \times 100$$

donde *C* es la concentración en mg por ml de Lactato de sodio SR-FA en la *Preparación estándar*, 89,07 y 112,06 son los pesos moleculares de lactato (C₃H₅O₃⁻) y lactato de sodio anhidro (C₃H₅O₃Na), respectivamente, y *r_M* y *r_E* son las respuestas de los picos de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, respectivamente.

ROTULADO

Indicar en el rótulo la concentración osmolar total en mOsmoles por litro. Cuando el volumen de Solución Inyectable Ringer Lactato sea menor a 100 ml el rótulo puede indicar la concentración osmolar total en mOsmoles por ml.

RINGER

SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición – La Solución Inyectable Ringer es una solución estéril de Cloruro de sodio, Cloruro de Potasio y Cloruro de Calcio Dihidrato en *Agua para Inyectables* en envases monodosis no mayores a 1 litro, esterilizada en su envase final. Debe contener 0,860 % p/v de Cloruro de Sodio, 0,030 % p/v de Cloruro de Potasio y 0,033 % p/v de Cloruro de Calcio Dihidrato. No debe contener conservantes ni otras sustancias agregadas.

Debe contener cada 100 ml no menos de 323,0 mg y no más de 354,0 mg de Sodio; no menos de 14,9 mg y no más de 16,5 mg de Potasio; no menos de 8,2 mg y no más de 9,8 mg de Calcio; y no menos de 523,0 mg y no más de 580,0 mg de Cloruro. Debe cumplir con las siguientes especificaciones.

[NOTA: los contenidos de iones de calcio, cloruro, potasio y sodio de Solución Inyectable Ringer son aproximadamente 4,5; 156,0; 4,0 y 147,5 miliequivalentes por litro, respectivamente].

CONSERVACIÓN

En envases monodosis de plástico (ver 420. *Envases primarios de plástico*) o de vidrio Tipo I o II.

ENSAYOS

Identificación

Debe responder a los ensayos para *Sodio, Potasio, Calcio y Cloruro* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 5,0 y 7,5.

Límite de metales pesados <590>

Evaporar 67 ml de Solución Inyectable Ringer a un volumen de aproximadamente 20 ml, agregar 2 ml de ácido acético 1 N y diluir a 25 ml con agua. Proceder según se indica en *Método I*. El límite es 0,3 ppm.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 0,5 Unidades de Endotoxina por ml.

Ensayo de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Para calcio

Transferir 50,0 ml exactamente medidos de Solución Inyectable Ringer a un erlenmeyer, agregar 5 ml de hidróxido de sodio 2 M y 0,05 g de indicador azul de hidroxinaftol (SR).

Titular con EDTA disódico 0,01 M (SV) hasta viraje del indicador de rojo púrpura al azul neto. Cada ml de la solución valorada de EDTA disódico 0,01 M es equivalente a 1,4701 mg de Cloruro de Calcio dihidrato.

Para potasio

Preparación madre del estándar – Transferir 190,7 mg de cloruro de potasio, previamente secado a 105 °C durante 2 horas, a un matraz aforado de 1 litro. Disolver en 50 ml de agua, diluir a volumen con el mismo solvente y mezclar. Cada ml de esta solución contiene 100 µg de potasio.

Preparaciones estándar – Transferir 1,093 g de cloruro de sodio a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a volumen con agua. Transferir 10,0 ml de esta solución a cada uno de cinco matraces aforados de 100 ml conteniendo 10,0 ml de una solución de Octoxinol 9 (1:500). Completar a volumen con agua, el contenido de uno de los matraces para tener un blanco. A los matraces restantes agregar, respectivamente, 5,0; 10,0; 15,0; y 20,0 ml de *Preparación madre del estándar*, diluir a volumen con agua y mezclar.

Preparación muestra – Transferir 10,0 ml de Solución Inyectable Ringer a un matraz aforado de 100 ml, agregar 10,0 ml de una solución de Octoxinol 9 (1:500), diluir a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento – Emplear un fotómetro de llama a la longitud de onda de máxima transmitancia para potasio, 766 nm. Ajustar el equipo a transmitancia cero con el blanco y a transmitancia 100 % con la *Preparación estándar* más concentrada. Determinar las transmitancias del resto de las *Preparaciones estándar*, realizar un gráfico de transmitancia en función de la concentración de potasio y trazar la recta que mejor se ajuste. Determinar el porcentaje de transmitancia de la *Preparación muestra* y calcular el contenido de potasio en mg por 100 ml en la Solución Inyectable Ringer.

Para sodio

Preparación madre del estándar – Transferir 254,2 mg de cloruro de sodio, previamente secado a 105 °C durante 2 horas, a un matraz aforado de 1 litro. Disolver en 50 ml de agua, diluir a volumen con el mismo solvente y mezclar. Cada ml de esta solución contiene 100 µg de sodio.

Preparaciones estándar – Transferir 10,0 ml de una solución de Octoxinol 9 (1:500) a cada uno de cinco matraces aforados de 100 ml. Completar a

volumen con agua, el contenido de uno de los matraces para tener un blanco. A los matraces restantes agregarles, respectivamente, 5,0; 10,0; 15,0; y 20,0 ml de *Preparación madre del estándar*, completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación muestra – Transferir 5,0 ml de Solución Inyectable Ringer a un matraz aforado de 1 litro, agregar 100,0 ml de una solución de Octoxinol 9 (1:500), completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento – Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración para potasio*, ajustando el fotómetro de llama a la longitud de onda de máxima transmitancia para sodio, 589 nm. Calcular el contenido de sodio en mg por 100 ml de Solución Inyectable Ringer.

Para cloruro

Transferir 10,0 ml de Solución Inyectable Ringer a un erlenmeyer, agregar agua hasta 50 ml. Titular con nitrato de plata 0,1 N (SV) determinando potenciométricamente el punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de nitrato de plata 0,1 N equivale a 3,545 mg de Cl.

ROTULADO

Indicar en el rótulo la concentración osmolar total en mOsmoles por litro. Cuando el volumen de Solución Inyectable Ringer sea menor a 100 ml, el rótulo puede indicar la concentración osmolar total en mOsmoles por ml.

SALBUTAMOL

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Salbutamol deben contener una cantidad de Sulfato de Salbutamol $[C_{13}H_{21}NO_3]_2 \cdot H_2SO_4$ equivalente a no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de Salbutamol ($C_{13}H_{21}NO_3$) y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Sulfato de Salbutamol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Pesar una cantidad equivalente a 4 mg de salbutamol a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*. Agitar con 10 ml de agua y filtrar: el filtrado debe responder a los ensayos para *Sulfato* <410>.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: agua; 500 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y determinar la cantidad de $C_{13}H_{21}NO_3$ disuelto mediante la técnica siguiente.

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Emplear las alícuotas filtradas.

Solución estándar - Diluir la *Preparación estándar* obtenida en *Valoración*, si fuera necesario, con una mezcla de agua y metanol (6:4) para obtener una solución con una concentración de Sulfato de Salbutamol SR-FA similar a la *Solución muestra*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 100 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{13}H_{21}NO_3$ disuelta comparando la respuesta del pico principal obtenido a partir de la *Solución*

muestra con la respuesta del pico principal obtenida a partir de la *Solución estándar*

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{13}H_{21}NO_3$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo, 2-propanol, agua y amoníaco (50:30:16:5).

Solución estándar - Disolver una porción de Sulfato de Salbutamol SR-FA en agua para obtener una solución de aproximadamente 100 μ g por ml.

Solución madre de la muestra - Pesar exactamente una cantidad equivalente 10 mg de salbutamol partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*, a un recipiente apropiado. Transferir a un recipiente apropiado, agregar 30 ml de alcohol diluido (1 en 2), agitar durante 30 minutos y filtrar. Lavar el filtro con porciones pequeñas de alcohol, combinando los lavados con el filtrado. Evaporar hasta sequedad bajo presión reducida. Disolver el residuo en 0,5 ml de agua.

Solución muestra - Diluir un volumen de la *Solución madre de la muestra* a 200 volúmenes con agua.

Revelador 1 - Solución al 0,1 % de clorhidrato de metilbenzotiazolona-hidrazona en metanol 90 %.

Revelador 2 - Solución al 2 % de hexacianoferrato de potasio en una mezcla de agua y amoníaco 18 M (3:1).

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 5 μ l de la *Solución madre de la muestra*, la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 1* y secar durante 10 minutos. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 2* y nuevamente con *Revelador 1*. Ninguna mancha secundaria en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución madre de la muestra* debe ser más intensa que la obtenida a partir de la *Solución muestra* (0,5 %).

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 276 nm y una columna de 15 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 0,9 ml por minuto.

Solución de hexanosulfonato de sodio - Disolver 565 mg de 1-hexanosulfonato de sodio en 600 ml de agua. Agregar 6 ml de ácido acético glacial y mezclar.

Fase móvil - *Solución de hexanosulfonato de sodio* y metanol (57:43). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del Sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 24 mg de Sulfato de Salbutamol SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 60 ml de ácido acético glacial al 1,0 %, sonicar durante 10 minutos, completar a volumen con metanol y mezclar.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Salbutamol. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 10 mg de salbutamol, transferir a un matraz aforado de 50 ml. Agregar 30 ml de ácido acético glacial al 1,0 %, agitar durante 45 minutos y sonicar durante 10 minutos. Completar a volumen con metanol, mezclar y filtrar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna determinada a partir del pico de salbutamol no debe ser menor a 800 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₁₃H₂₁NO₃ en los Comprimidos de Salbutamol, de acuerdo a la cantidad declarada.

SALBUTAMOL

SOLUCIÓN PARA NEBULIZAR

Definición - La Solución para Nebulizar de Salbutamol es una solución de *Sulfato de Salbutamol en Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de Salbutamol ($C_{13}H_{21}NO_3$) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Sulfato de Salbutamol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Diluir una porción de la Solución para Nebulizar de Salbutamol, cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, con agua para obtener una solución de aproximadamente 250 μ g de salbutamol por ml. La solución así obtenida debe responder a los ensayos para *Sulfato <410>*.

Determinación del pH <250>

Entre 3,0 y 5,0.

Sustancias relacionadas

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver *100. Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo, 2-propanol, agua y amoníaco (50:30:16:5).

Solución estándar - Disolver una porción de Sulfato de Salbutamol SR-FA en agua para obtener una solución de aproximadamente 100 μ g por ml.

Solución madre de la muestra - Transferir un volumen de la Solución para Nebulizar de Salbutamol, equivalente a 10 mg de salbutamol, a un recipiente apropiado. Evaporar a 0,5 ml a presión reducida.

Solución muestra - Diluir un volumen de la *Solución madre de la muestra* a 200 volúmenes con agua.

Revelador 1 - Solución al 0,1 % de clorhidrato de metilbenzotiazolona-hidrazona en metanol 90 %.

Revelador 2 - Solución al 2 % de hexacianoferrato de potasio en una mezcla de agua y amoníaco 18 M (3:1).

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 5 μ l de la *Solución madre de la muestra*, la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 1* y secar durante 10 minutos. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 2* y nuevamente con *Revelador 1*. Ninguna mancha secundaria en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución madre de la muestra* debe ser más intensa que la obtenido a partir de la *Solución muestra* (0,5 %).

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 276 nm y una columna de 15 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 0,9 ml por minuto.

Solución de hexanosulfonato de sodio - Disolver 565 mg de 1-hexanosulfonato de sodio en 600 ml de agua. Agregar 6 ml de ácido acético glacial y mezclar.

Fase móvil - Solución de hexanosulfonato de sodio y metanol (57:43). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del Sistema en 100. Cromatografía*).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 24 mg de Sulfato de Salbutamol SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 60 ml de ácido acético glacial al 1,0 %, sonicar durante 10 minutos, completar a volumen con metanol y mezclar.

Preparación muestra - Medir exactamente un volumen de solución equivalente a alrededor de 10,0 mg de Salbutamol y transferir a un matraz aforado de 50 ml. Agregar 30 ml de ácido acético glacial 1%, agitar 10 minutos, completar a volumen con metanol y filtrar.

Aptitud del sistema (ver *100. Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la eficiencia de la columna determinada a partir del pico de salbutamol no debe ser menor a 800 platos teóricos; el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la

Preparación estándar y la Preparación muestra.
Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{13}H_{21}NO_3$ en la Solución para Nebulizar de Salbutamol, de acuerdo a la cantidad declarada.

SALES PARA REHIDRATACIÓN ORAL POLVO

Definición – Las Sales para Rehidratación Oral son una mezcla seca de Cloruro de Sodio, Cloruro de Potasio, Carbonato Sódico Hidrogenado y Glucosa (anhidra) fraccionadas en envases monodosis o que contengan la cantidad de dosis necesarias para un día de tratamiento. Puede contener Citrato de Sodio (anhidro o dihidrato) en lugar de Carbonato Sódico Hidrogenado. Puede contener Glucosa monohidrato en lugar de Glucosa anhidra, siempre que el Carbonato Sódico Hidrogenado o el Citrato de Sodio se encuentren en un sobre separado. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de sodio (Na^+), potasio (K^+), cloruro (Cl^-) y carbonato ácido (HCO_3^-) o citrato ($\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$), calculado sobre el contenido declarado de Cloruro de Sodio, Cloruro de Potasio y Carbonato Sódico Hidrogenado o Citrato de Sodio (anhidro o dihidrato). Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento del contenido declarado de Glucosa ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$). Puede contener edulcorantes, colorantes y saborizantes permitidos en el Código Alimentario Argentino y sustancias que otorguen fluidez. Debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En sobres cerrados que impidan la entrada de la humedad, evitando la exposición a temperaturas mayores de 30° C.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe responder a los ensayos para *Sodio* <410>.

B - Debe responder a los ensayos para *Potasio* <410>.

C - Debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

D - Cuando contiene Carbonato Sódico Hidrogenado, debe responder a los ensayos para *Bicarbonato* <410>.

E - Cuando contiene Citrato de Sodio, debe responder a los ensayos para *Citrato* <410>. Utilizar de 3 a 5 gotas de la solución reconstituida según se indica en el rótulo y 20,0 ml de la mezcla de piridina y anhídrido acético.

F - Agregar a 5 ml de tartrato cúprico alcalino (SR) algunas gotas de solución reconstituida según se indica en el rótulo, calentar: se debe formar un precipitado rojo copioso de óxido cuproso (presencia de glucosa).

Determinación del pH <250>

Entre 7,0 y 8,8; empleando la solución reconstituida según se indica en el rótulo.

Pérdida por secado <680>

Secar al vacío a 50° C hasta peso constante: no debe perder más de 1,0 % de su peso.

Determinación del contenido neto del envase <220>

Proceder según se indica, excepto que deben cumplirse los siguientes requerimientos “El contenido neto promedio de los diez envases no debe ser menor que el declarado y el contenido neto de cualquier envase individual no debe ser menor de 95,0 % y no mayor de 105,0 % de la cantidad declarada. Si el contenido de no más de un envase es menor de 95,0 % pero no menor de 90,0 % de la cantidad declarada o es mayor de 105,0 % pero no mayor de 110,0 % de la cantidad declarada, determinar el contenido neto de veinte envases adicionales. El contenido neto promedio de los treinta envases no debe ser menor que el declarado y el contenido neto de no más de un envase individual puede ser menor de 95,0 % pero no debe ser menor de 90,0 % de la cantidad declarada o puede ser mayor de 105,0 % pero no debe ser mayor de 110,0 % de la cantidad declarada.

VALORACIÓN

[NOTA: al realizar la *Valoración para sodio y potasio*, la *Valoración para carbonato ácido* y la *Valoración para citrato*, calcular las cantidades totales equivalentes de sodio, potasio, cloruro y carbonato ácido [o citrato] a partir de las cantidades declaradas de cloruro de sodio, cloruro de potasio y carbonato ácido de sodio o citrato de sodio, mediante la siguiente tabla:

Compuesto	Na^+	K^+	Cl^-	HCO_3^-	$\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$
	mg equivalente por g de compuesto				
Cloruro de sodio	393,4		606,6		
Cloruro de potasio		524,4	475,6		

Carbonato ácido de sodio	273,6	726,4
Citrato de sodio anhidro	267,2	732,8
Citrato de sodio dihidrato	234,5	643,0

Preparación madre de la muestra - Mezclar el contenido de la misma cantidad de sobres de Sales para Rehidratación Oral empleados en *Determinación del contenido neto del envase* y transferir el equivalente contenido de un sobre a un matraz aforado de 100 ml. Diluir a volumen con agua y mezclar.

PARA GLUCOSA

Preparación muestra - Transferir 50,0 ml de *Preparación madre de la muestra* a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 0,2 ml de hidróxido de amonio 6 N y diluir a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Determinar la rotación angular en un tubo polarimétrico (ver 170. *Determinación de la rotación óptica*). Calcular la cantidad en g de $C_6H_{12}O_6$ por sobre de Sales para Rehidratación Oral en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$(200/52,9) a/L$$

en la cual 52,9 es el punto medio del rango de rotación específica para glucosa anhidra en grados; L es 100 mm dividido por la longitud del tubo polarimétrico en mm; y a es la rotación observada en grados.

PARA SODIO Y POTASIO

Preparación estándar de sodio - Pesar exactamente alrededor de 14,61 g de cloruro de sodio, previamente secado a 105 °C durante 2 horas, transferir a un matraz aforado de 250 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación estándar de potasio - Pesar exactamente alrededor de 18,64 g de cloruro de potasio, previamente secado a 105 °C durante 2 horas, transferir a un matraz aforado de 250 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Diluyente - Transferir 1,04 g de nitrato de litio a un matraz aforado de 1 litro, agregar un surfactante no iónico, completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación muestra A - Transferir 5,0 ml de la *Preparación estándar de sodio* y 5,0 ml de la *Preparación estándar de potasio* a un matraz aforado de 500 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar. Cada ml de esta solución contiene 0,01150 mg de sodio y 0,01955 mg de potasio.

Preparación muestra A - Diluir un volumen exactamente medido de la *Preparación madre de la muestra* con agua, en etapas si fuera necesario, para obtener una solución de aproximadamente 0,23 mg

de sodio por ml. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Preparación muestra B - Diluir un volumen exactamente medido de la *Preparación madre de la muestra* con agua, en etapas si fuera necesario, para obtener una solución de aproximadamente 0,39 mg de potasio por ml. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Procedimiento - Emplear un fotómetro de llama a la longitud de onda de máxima emisión de sodio, 589 nm. Ajustar el equipo a cero con *Diluyente*. Determinar la lectura de emisión a la llama de la *Preparación estándar* y de la *Preparación muestra A*. Calcular el contenido de Na^+ en mg en los sobres de Sales para Rehidratación Oral en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$0,23(T_{Na}/C_{Na})(L_M/L_E)$$

en la cual T_{Na} es la cantidad en mg de sodio en la porción de Sales para Rehidratación Oral en ensayo, calculada a partir de la cantidad declarada de cloruro de sodio y carbonato de sodio hidrogenado (o citrato de sodio); C_{Na} es la concentración en mg por ml de sodio en la *Preparación muestra A*, calculada a partir del volumen de *Preparación madre de la muestra* empleado y el factor de dilución; y L_M y L_E son las lecturas de emisión a la llama de la *Preparación muestra A* y la *Preparación estándar*, respectivamente.

De igual modo determinar la lectura de emisión a la llama de la *Preparación estándar* y de la *Preparación muestra B* a la longitud de onda de máxima emisión del potasio, 766 nm. Calcular el contenido en mg de K^+ en los sobres de Sales para Rehidratación Oral en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$0,23(T_K/C_K)(L_M/L_E)$$

en la cual T_K es la cantidad en mg de potasio en la porción de Sales para Rehidratación Oral en ensayo, calculada a partir de la cantidad declarada de cloruro de potasio; C_K es la concentración en mg por ml de potasio en la *Preparación muestra B*, calculada a partir del volumen de *Preparación madre de la muestra* empleado y el factor de dilución; y L_M y L_E son las lecturas de emisión a la llama de la *Preparación muestra B* y la *Preparación estándar*, respectivamente.

PARA CLORURO

Transferir un volumen exactamente medido de *Preparación madre de la muestra*, equivalente aproximadamente a 55 mg de cloruro, a un erlenmeyer y titular con nitrato de plata 0,1 N (SV) empleando cromato de potasio (SR) como indicador. Titular hasta que precipite el cloruro de plata y el color de la mezcla sea rosa pálido. Cada ml de nitrato de plata 0,1 N equivale a 3,545 mg de Cl⁻.

PARA CARBONATO ÁCIDO (si se encuentra presente)

Transferir un volumen exactamente medido de *Preparación madre de la muestra*, equivalente aproximadamente a 100 mg de carbonato ácido, a un erlenmeyer, agregar 25 ml de agua y 3 gotas de naranja de metilo (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,1 N (SV). Cada ml de ácido clorhídrico 0,1 N equivale a 6,102 mg de HCO₃⁻.

PARA CITRATO (si se encuentra presente)

Pesar exactamente alrededor de 2,8 g de Sales para Rehidratación Oral y dispersar en 80 ml de ácido acético glacial. Calentar aproximadamente a 50 °C, enfriar y completar a 100 ml con el mismo solvente. Transferir 20 ml del sobrenadante a un erlenmeyer de capacidad apropiada, agregar solución de *p*-naftolbenceína en ácido acético glacial de 2 g por litro como indicador y titular con solución de ácido perclórico 0,1 M (SV). Cada ml de solución ácido perclórico 0,1 M equivale a 6,303 mg de C₆H₅O₇. Cada mg de citrato de sodio equivale a 0,6430 mg de C₆H₅O₇.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si contiene Carbonato Sódico Hidrogenado. Indicar la forma de reconstitución. Deben figurar las siguientes leyendas: “*Abrir y preparar en el momento de su uso*”; “*Mantener la solución reconstituída en heladera y consumir dentro de las 24 horas de su preparación*”.

SALICÍLICO, ÁCIDO

GEL TÓPICO

Definición - El Gel Tópico de Ácido Salicílico es *Ácido Salicílico* en un vehículo viscoso hidrofílico apropiado. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_7H_6O_3$, debe contener alcohol y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Filtrar 5 ml de la solución obtenida por titulación en *Valoración* y agregar 1 ml de cloruro férrico (SR) al filtrado: se debe desarrollar un color violeta. Agregar 1 ml de ácido acético 6 N: el color violeta no debe cambiar. Agregar 1 ml de ácido clorhídrico 6 N: el color violeta debe desaparecer y debe aparecer una pequeña cantidad de precipitado blanco.

Determinación de alcohol <130>

Entre 90,0 % y 110 % de la cantidad declarada de etanol.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración tópica.

VALORACIÓN

A 25 ml de alcohol diluido agregar una gota de fenoltaleína (SR) y suficiente hidróxido de sodio 0,1 N para desarrollar un color débilmente rosa. Agregar 5,0 g del Gel Tópico de Ácido Salicílico exactamente pesados y agitar. Titular la dispersión con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) hasta la aparición de un color rosa. [NOTA: emplear esta solución para el *Ensayo de Identificación*]. Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N es equivalente a 13,81 mg de $C_7H_6O_3$.

SODIO, CLORURO DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Cloruro de Sodio es una solución estéril de *Cloruro de Sodio en Agua para Inyectables*, esterilizada en su envase final y envasada en envases monodosis no mayores a 1 litro. No debe contener conservantes ni otras sustancias agregadas. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de NaCl y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis de plástico o de vidrio tipo I o II.

ENSAYOS

Identificación

Debe responder a los ensayos para *Sodio* <410> y *Cloruro* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 7,0.

Límite de hierro <580>

Diluir 5,0 ml de Solución Inyectable de Cloruro de Sodio con agua hasta 45 ml y agregar 2 ml de ácido clorhídrico. El límite es 2 ppm.

Límite de metales pesados <590>

Transferir un volumen de Solución Inyectable de Cloruro de Sodio, equivalente a 1,0 g de cloruro de sodio, en un vaso de precipitados, si fuera necesario evaporar hasta un volumen de aproximadamente 20 ml. Agregar 2 ml de ácido acético 1 N y diluir a 25 ml con agua. Proceder según se indica en *Método I*, excepto que se debe emplear 1 ml de *solución estándar de plomo* (10 ppm) en la preparación estándar y en la preparación control. El límite es 0,001 %, en base a la cantidad de cloruro de sodio.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe cumplir con los requisitos. Cuando la concentración de la Solución Inyectable de Cloruro de Sodio esté comprendida entre 0,5 y 0,9 % de cloruro de sodio no debe contener más de 0,5 Unidades de Endotoxina por ml. Cuando la concentración de la Solución Inyectable de Cloruro de Sodio esté comprendida entre 3,0 y 24,3 % de cloruro de sodio no debe contener más de 3,6 Unidades de Endotoxina por ml.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Transferir un volumen de Solución Inyectable de Cloruro de Sodio, equivalente a 50 mg de cloruro de sodio, a un erlenmeyer y agregar agua, si fuera necesario, hasta aproximadamente 50 ml. Titular con nitrato de plata 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de nitrato de plata 0,1 N equivale a 5,844 mg de NaCl.

SODIO, CLORURO DE

SOLUCIÓN ISOTÓNICA

ESTÉRIL PARA IRRIGACIÓN

Definición - La Solución Isotónica Estéril para Irrigación de Cloruro de Sodio es una solución estéril de *Cloruro de Sodio* al 0,9 por ciento en *Agua para Inyectables*, esterilizada en su envase final y envasada en envases monodosis que pueden contener más de 1 litro. No debe contener conservantes ni otras sustancias agregadas. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de NaCl y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis de plástico o de vidrio tipo I o II. [NOTA: el diseño del envase debe permitir el vaciado rápido].

ENSAYOS

Identificación

Debe responder a los ensayos para *Sodio* <410> y *Cloruro* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 7,0.

Límite de hierro <580>

Proceder según se indica en *Solución Inyectable de Cloruro de Sodio*.

Límite de metales pesados <590>

Proceder según se indica en *Solución Inyectable de Cloruro de Sodio*.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330 >

No debe contener más de 0,5 Unidades de Endotoxinas por ml de Solución Isotónica Estéril para Irrigación de Cloruro de Sodio.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Proceder según se indica en *Solución Inyectable de Cloruro de Sodio*.

ROTULADO

En el rótulo deben figurar las leyendas: “*No emplear como inyectable*”; “*Usar solo para irrigación*”.

SODIO, CLORURO DE SOLUCIÓN ISOTÓNICA ESTÉRIL PARA NEBULIZAR

Definición - La Solución Isotónica Estéril para Nebulizar de Cloruro de Sodio es una solución estéril de *Cloruro de Sodio* al 0,9 por ciento en *Agua Purificada*, esterilizada y envasada en envases monodosis no mayores de 20 ml. No debe contener conservantes ni otras sustancias agregadas. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de NaCl y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis de plástico o de vidrio tipo I o II.

ENSAYOS

Identificación

Debe responder a los ensayos para *Sodio* <410> y *Cloruro* <410>.

Determinación del pH <250 >

Entre 4,5 y 7,0.

Límites de metales pesados <590>

Proceder según se indica en *Solución Inyectable de Cloruro de Sodio*.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Proceder según se indica en *Solución Inyectable de Cloruro de Sodio*.

ROTULADO

En el rótulo deben figurar las siguientes leyendas: “*No emplear como inyectable*”; “*Usar solo para nebulizar*”; “*Una vez abierta, desechar el remanente*”.

SODIO, CLORURO DE SOLUCIÓN OFTÁLMICA

Definición - La Solución Oftálmica de Cloruro de Sodio es una solución estéril y regulada de *Cloruro de Sodio*, conteniendo agentes antimicrobianos apropiados. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de NaCl y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Calentar una porción de la Solución Oftálmica de Cloruro de Sodio hasta ebullición, filtrar en caliente y enfriar. El filtrado debe responder a los ensayos para *Sodio* <410> y *Cloruro* <410>.

Determinación del pH<250>

Entre 6,0 y 8,0.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Oftálmica de Cloruro de Sodio, equivalente a 90 mg de cloruro de sodio, a un erlenmeyer. Agregar 10 ml de ácido acético glacial, 75 ml de metanol y 0,5 ml de eosina (SR). Titular con nitrato de plata 0,1 N (SV), mediante agitación hasta punto final rosa. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de nitrato de plata 0,1 N equivale a 5,844 mg de NaCl.

ROTULADO

En el rótulo debe figurar la siguiente leyenda:
“*Descartar una vez finalizado el tratamiento*”.

SODIO, CLORURO DE UNGÜENTO OFTÁLMICO

Definición - El Ungüento Oftálmico de Cloruro de Sodio debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de NaCl. Debe ser estéril y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Pesar exactamente una cantidad del Ungüento Oftálmico de Cloruro de Sodio, equivalente a 200 mg de cloruro de sodio. Transferir a una ampolla de decantación que contenga 25 ml de éter y extraer con 5 ml de agua: la fase acuosa obtenida debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410> y para *Sodio* <410>.

Determinación del contenido neto del envase
<220>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas metálicas en ungüentos oftálmicos
<660>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Pesar exactamente una cantidad del Ungüento Oftálmico de Cloruro de Sodio, equivalente a 100 mg de cloruro de sodio. Transferir a una ampolla de decantación que contenga 50 ml de éter y extraer con cuatro porciones de 20 ml de agua. Combinar los extractos acuosos en un erlenmeyer y evaporar hasta un volumen de 10 ml. Agregar 10 ml de ácido acético glacial, 75 ml de metanol y 0,5 ml de Eosina (SR). Titular, con agitación, con nitrato de plata 0,1 N (SV) hasta punto final rosa. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias 8ver 780. *Volumetría*). Cada ml de nitrato de plata 0,1 N equivale a 5,844 mg de NaCl.

SODIO, NITRITO DE

SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Nitrito de Sodio es una solución estéril de *Nitrito de Sodio* en *Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de NaNO_2 y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis o multidosis, de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

Debe responder a los ensayos de *Identificación* en *Nitrito de Sodio*.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 7,0 y 9,0.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 0,33 Unidades de Endotoxina por mg de Nitrito de Sodio.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Nitrito de Sodio, equivalente aproximadamente a 150 mg de nitrito de sodio, a un recipiente apropiado que contenga una mezcla de 50,0 ml de permanganato de potasio 0,1 N (SV), 100,0 ml de agua y 5,0 ml de ácido sulfúrico, sumergir la punta de la pipeta debajo de la superficie de la mezcla durante la adición. Calentar el líquido a 40 °C, dejar reposar durante 5 minutos y agregar 25 ml de ácido oxálico 0,1N (SV). Calentar la mezcla aproximadamente a 80 °C y titular con permanganato de potasio 0,1 N (SV). Cada ml de permanganato de potasio 0,1 N equivale a 3,450 mg de NaNO_2 .

SODIO, TIOSULFATO DE

SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Tiosulfato de Sodio es una solución estéril de *Tiosulfato de Sodio en Agua para Inyectables* recientemente sometida a ebullición. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

Debe responder a los ensayos para *Tiosulfato y Sodio* <410>.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de pH <250>

Entre 6,0 y 9,5.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 0,03 Unidades de Endotoxina por mg de tiosulfato de sodio.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Tiosulfato de Sodio, equivalente a 1 g de tiosulfato de sodio, a un recipiente apropiado y ajustar a un pH entre 6,2 y 6,7 agregando ácido clorhídrico 3 N. Diluir aproximadamente a 20 ml con agua y titular con yodo 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Cada ml de yodo 0,1 N (SV) es equivalente a 24,82 mg de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

SULFADIAZINA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Sulfadiazina deben contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{10}H_{10}N_4O_2S$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Sulfadiazina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Pesar una cantidad del polvo fino obtenido a partir de la *Preparación muestra* en *Valoración*, equivalente a 500 mg de sulfadiazina, y suspender con 5 ml de cloroformo. Transferir a un filtro pequeño, lavar con otra porción de 5 ml de cloroformo y descartar el filtrado. Suspender el residuo con 10 ml de hidróxido de amonio 6 N durante 5 minutos, agregar 10 ml de agua y filtrar. Calentar el filtrado hasta que la mayor parte del amonio sea expulsado, enfriar y agregar ácido acético 6 N hasta que la reacción ácida: se debe producir un precipitado de sulfadiazina. Transferir el precipitado a un filtro, lavar con agua fría y secar a 105°C durante 1 hora.

A - La sulfadiazina obtenida anteriormente debe fundir entre 250 y 254 °C, determinado por el *Método I* en 260. *Determinación del punto de fusión*.

B - La sulfadiazina obtenida anteriormente debe responder al *Ensayo de Identificación A* en *Sulfadiazina*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 75 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,1 N; 900 ml.

Tiempo: 90 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con hidróxido de sodio 0,01 N y determinar la cantidad de $C_{10}H_{10}N_4O_2S$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 254 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Sulfadiazina SR-FA, en el mismo medio.

Tolerancia - No menos del 70 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{10}H_{10}N_4O_2S$ se debe disolver en 90 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Sulfadiazina*.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Sulfadiazina. Transferir una porción exactamente pesada, equivalente a 100 mg de sulfadiazina, a un matraz aforado de 100 ml, agregar 75 ml de hidróxido de sodio 0,025 N, agitar durante 30 minutos, completar a volumen con el mismo solvente, mezclar y centrifugar.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración en Sulfadiazina*. Calcular la cantidad de $C_{10}H_{10}N_4O_2S$ en los Comprimidos de Sulfadiazina, de acuerdo a la cantidad declarada.

SULFASALAZINA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Sulfasalazina deben contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{18}H_{14}N_4O_5S$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Sulfasalazina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

Absorción ultravioleta <470>

El espectro de absorción obtenido a partir de la *Preparación muestra* según se indica en *Valoración*, presenta máximos y mínimos a las mismas longitudes de onda que el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: solución reguladora de fosfato pH 7,5 (ver *Soluciones Reguladoras en Reactivos y Soluciones*); 900 ml.

Tiempo: 60 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{18}H_{14}N_4O_5S$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 358 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Sulfasalazina SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 85 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{18}H_{14}N_4O_5S$ se debe disolver en 60 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Sulfasalazina. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 150 mg de sulfasalazina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 50 ml de hidróxido de sodio 0,1 N y mezclar. Completar a volumen con

hidróxido de sodio 0,1 N, mezclar y filtrar, descartando los primeros 20 ml del filtrado. Transferir 5,0 ml del filtrado a un matraz aforado de 1 litro que contenga aproximadamente 750 ml de agua, mezclar y agregar 20,0 ml de ácido acético 0,1 N. Completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación estándar - Emplear una solución de Sulfasalazina SR-FA de aproximadamente 7,5 μg por ml, tratada de la misma manera.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorción, 359 nm, con un espectrofotómetro, empleando agua como blanco. Calcular la cantidad de $C_{18}H_{14}N_4O_5S$ en los Comprimidos de Sulfasalazina, de acuerdo a la cantidad declarada.

TEOFILINA

CÁPSULAS

Definición - Las Cápsulas de Teofilina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de teofilina anhidra $C_7H_8N_4O_2$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Teofilina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Pesar una cantidad equivalente a 500 mg de teofilina a partir del contenido de las Cápsulas de Teofilina obtenido en la *Preparación muestra en Valoración*. Transferir a un recipiente apropiado, suspender con porciones de 5 ml y 10 ml de éter de petróleo y descartar el éter de petróleo. Agregar al residuo dos porciones de 10 ml de una mezcla de volúmenes iguales de agua e hidróxido de amonio 6 N y filtrar. Evaporar los filtrados combinados aproximadamente a 5 ml, neutralizar con ácido acético 6 N, si fuera necesario, empleando papel de tornasol, enfriar aproximadamente a 15 °C y agitar. Recolectar el precipitado en un filtro, lavar con agua fría y secar a 105 °C durante 2 horas. El espectro de absorción infrarroja de la dispersión del residuo obtenido debe presentar máximos sólo a las mismas longitudes de onda que el de una preparación similar de Teofilina SR-FA tratada del mismo modo.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 60 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con ácido clorhídrico 0,1 N, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_7H_8N_4O_2$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta, a la longitud de onda de máxima absorción, 268 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Teofilina SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_7H_8N_4O_2$ se debe disolver en 60 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm x 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, metanol y ácido acético glacial (64:35:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Teofilina SR-FA en metanol para obtener una solución de aproximadamente 400 μ g por ml.

Preparación muestra para cápsulas duras - Extraer el contenido de no menos de veinte Cápsulas de Teofilina y mezclar. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 100 mg de Teofilina anhidra, transferir a un matraz aforado de 250 ml, agregar 150 ml de metanol y agitar hasta disolver. Completar a volumen con metanol, mezclar y filtrar.

Preparación muestra para cápsulas blandas - Extraer el contenido de veinte Cápsulas de Teofilina y transferir a un matraz aforado de 200 ml. Agregar 50 ml de hidróxido de amonio 6 N, agitar hasta disolver y completar a volumen con agua. Mezclar, filtrar y descartar los primeros 20 ml de filtrado. Transferir un volumen de filtrado exactamente medido, equivalente a 100 mg de teofilina anhidra, a un matraz aforado de 250 ml y completar a volumen con metanol. Mezclar y filtrar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para tres inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_7H_8N_4O_2$ en las Cápsulas de Teofilina, de acuerdo a la cantidad declarada.

TEOFILINA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Teofilina deben contener no menos de 94,0 por ciento y no más de 106,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_7H_8N_4O_2$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Teofilina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Pesar y reducir a polvo fino tres Comprimidos de Teofilina. Pesar una cantidad equivalente a 500 mg de teofilina, agitar con sendas porciones de 5 ml y 10 ml de éter de petróleo y descartar el éter de petróleo. Mezclar el residuo con dos porciones de 10 ml de una mezcla de volúmenes iguales de agua e hidróxido de amonio 6 N y filtrar cada vez. Evaporar los filtrados combinados aproximadamente a 5 ml, neutralizar, si fuera necesario, con ácido acético 6 N, empleando papel de tornasol y luego enfriar aproximadamente a 15 °C y agitar. Recolectar el precipitado en un filtro, lavar con agua fría y secar a 105 °C durante 2 horas. El espectro de absorción infrarroja de la dispersión del residuo obtenido debe presentar máximos sólo a las mismas longitudes de onda que el de una preparación similar de Teofilina SR-FA tratada del mismo modo.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. Los tiempos de retención, relativos al estándar interno, de los picos principales en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se deben corresponder con los de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_7H_8N_4O_2$ disuelta a partir de las absorbancias medidas en el ultravioleta, a la longitud de onda de máxima absorción, 272 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Teofilina SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_7H_8N_4O_2$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución del estándar interno, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Teofilina*.

Preparación muestra - Transferir diez Comprimidos de Teofilina a un matraz aforado de 500 ml, agregar 50 ml de agua. Cuando los comprimidos se hayan desintegrado, agregar 50 ml de hidróxido de amonio 6 N y agitar hasta disolver. Completar a volumen con agua, mezclar y filtrar a través de un filtro seco con la ayuda de vacío, si fuera necesario, en un matraz, descartando los primeros 20 ml del filtrado. Transferir una alícuota exactamente medida de la solución anterior, equivalente a 10 mg de teofilina, a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 20,0 ml de *Solución del estándar interno*, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento en Valoración en Teofilina*. Calcular la cantidad de $C_7H_8N_4O_2$ en los Comprimidos de Teofilina, de acuerdo a la cantidad declarada.

TETRACICLINA, CLORHIDRATO DE CÁPSULAS

Definición - Las Cápsulas de Clorhidrato de Tetraciclina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 125,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Tetraciclina SR-FA. Clorhidrato de 4-Epianhidrotetraciclina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 75 rpm. Mantener una distancia de 45 ± 5 mm entre la paleta y el interior del fondo del vaso.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 60 minutos; 90 minutos para Cápsulas de Clorhidrato de Tetraciclina de 500 mg.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 276 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Clorhidrato de Tetraciclina SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 80 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$ se debe disolver en 60 minutos; 90 minutos para Cápsulas de Clorhidrato de Tetraciclina de 500 mg.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Pérdida por secado <680>

Pesar exactamente alrededor de 100 mg a partir del contenido de las Cápsulas de Clorhidrato de Tetraciclina obtenido en *Preparación muestra* en *Valoración*. Secar al vacío a una presión que no exceda los 5 mm de Hg, a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 4,0 % de su peso.

Límite de 4-epianhidrotetraciclina

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Diluyente y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de 4-Epianhidrotetraciclina SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 10 µg por ml.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* preparada en *Valoración*.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración*. Calcular el porcentaje de clorhidrato de 4-epianhidrotetraciclina en las Cápsulas de Clorhidrato de Tetraciclina, relacionando las respuestas del pico de 4-epianhidrotetraciclina obtenidas a partir de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. No debe contener más de 3,0 %.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Diluyente, Preparación estándar, Solución de resolución y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración* en *Clorhidrato de Tetraciclina*.

Preparación muestra - Transferir el contenido de no menos de veinte Cápsulas de Clorhidrato de Tetraciclina a un mortero y mezclar. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 50 mg de clorhidrato de tetraciclina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar aproximadamente 50 ml de *Diluyente*, mezclar y sonicar durante 5 minutos. Dejar enfriar, completar a volumen con *Diluyente*, mezclar y filtrar.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* en *Valoración* en *Clorhidrato de Tetraciclina*. Calcular la cantidad de $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$ en las Cápsulas de Clorhidrato de Tetraciclina, de acuerdo a la cantidad declarada.

TETRACICLINA, CLORHIDRATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Clorhidrato de Tetraciclina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 125,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Tetraciclina SR-FA. Clorhidrato de 4-Epianhidrotetraciclina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 75 rpm. Mantener una distancia de 45 ± 5 mm entre la paleta y el interior del fondo del vaso.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 60 minutos.

Procedimiento - Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$ disuelta a partir de las absorbancias en el ultravioleta a la longitud de onda de máxima absorción, 276 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Clorhidrato de Tetraciclina SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 85 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$ se debe disolver en 60 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Pérdida por secado <680>

Pesar exactamente alrededor de 100 mg del polvo fino obtenido en *Valoración*. Secar al vacío a una presión que no exceda los 5 mm de Hg a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 3,0 % de su peso.

Límite de 4-epianhidrotetraciclina

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Diluyente y Aptitud del sistema- Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de 4-Epianhidrotetraciclina SR-FA en *Diluyente* para obtener una solución de aproximadamente 15 µg por ml.

Solución muestra - Proceder según se indica en *Preparación muestra* en *Valoración*.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración*. Calcular el porcentaje de clorhidrato de 4-epianhidrotetraciclina en los Comprimidos de Clorhidrato de Tetraciclina, en base a la cantidad de Clorhidrato de Tetraciclina declarada en el rótulo y a las respuestas de los picos de clorhidrato de 4-epianhidrotetraciclina obtenidos a partir de la *Solución muestra* y *Solución estándar*. No debe contener más de 3,0 %.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Diluyente, Preparación estándar, Solución de resolución y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración* en *Clorhidrato de Tetraciclina*.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Clorhidrato de Tetraciclina. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 50 mg de clorhidrato de tetraciclina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 50 ml de *Diluyente*, mezclar y sonicar durante 5 minutos. Dejar enfriar, completar a volumen con *Diluyente*, mezclar y filtrar.

Procedimiento - Proceder según se indica para *Procedimiento* en *Valoración* en *Clorhidrato de Tetraciclina*. Calcular la cantidad de $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$ en los Comprimidos de Clorhidrato de Tetraciclina, de acuerdo a la cantidad declarada.

TIAMINA, CLORHIDRATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Clorhidrato de Tiamina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{12}O_{17}ClN_4OS \cdot HCl$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Tiamina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Pesar una cantidad equivalente a 10 mg de clorhidrato de tiamina a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*. Suspender con 10 ml de agua y filtrar. Emplear porciones de 2 ml del filtrado: se debe producir un precipitado marrón rojizo con iodo (SR), un precipitado blanco con cloruro mercuríco (SR) y debe responder al ensayo para *Cloruro* <410>.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{12}H_{17}ClN_4OS \cdot HCl$ disuelta empleando la siguiente técnica

[NOTA: emplear material de vidrio inactivo].

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua, metanol y ácido acético glacial (73:27:1) conteniendo 140 mg de 1-hexanosulfonato de sodio cada 100 ml. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Tiamina SR-FA en *Medio* para obtener una solución de concentración similar a la de la *Solución muestra*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 3,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μl) de la *Solución estándar* y las soluciones en ensayo, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{12}H_{17}ClN_4OS \cdot HCl$ disuelta.

Tolerancia - No menos de 75 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{12}H_{17}ClN_4OS \cdot HCl$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 244 nm, una columna de 10 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 1 g de 1-heptanosulfonato de sodio en una mezcla de 180 ml de metanol y 10 ml de trietilamina, diluir a 1 litro con agua y ajustar a pH 3,2 ácido fosfórico. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 30 mg de Clorhidrato de Tiamina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 500 ml, agregar 50 ml de ácido clorhídrico 0,1 N y agitar durante 20 minutos. Completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Clorhidrato de Tiamina Pesar exactamente una cantidad equivalente a 30 mg de clorhidrato de tiamina, transferir a un matraz aforado de 500 ml, agregar 50 ml de ácido clorhídrico 0,1 N y agitar durante 20 minutos. Completar a volumen con agua y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. Cromatografía) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{12}O_{17}N_4OS \cdot HCl$ en los Comprimidos de Clorhidrato de Tiamina, de acuerdo a la cantidad declarada.

TIAMINA, CLORHIDRATO DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Clorhidrato de Tiamina es una solución estéril de *Clorhidrato de Tiamina en Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{12}H_{17}ClN_4OS \cdot HCl$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Tiamina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos monodosis o multidosis, de vidrio Tipo I.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe producir un precipitado blanco frente al agregado de cloruro mercúrico (SR) y un precipitado castaño rojizo frente al agregado de iodo (SR). Debe producir un precipitado frente al agregado de iodomercuriato de potasio (SR) y de trinitrofenol (SR).

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

C - Debe responder a los ensayos para *Cloruro* <410>.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 2,5 y 4,5.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 3,5 Unidades de Endotoxina por mg de Clorhidrato de Tiamina.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 30 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de

diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Fosfato monobásico de potasio 0,04 M y metanol (55:45). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución del estándar interno - Preparar una solución de metilparabeno en *Fase móvil* de aproximadamente 100 µg por ml.

Preparación estándar - Preparar una solución de Clorhidrato de Tiamina SR-FA en *Fase móvil* de aproximadamente 500 µg por ml. Transferir 10,0 ml de esta solución y 10,0 ml de *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Preparación muestra - Diluir un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Clorhidrato de Tiamina con *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 500 µg de por ml. Transferir 10,0 ml de esta solución y 10,0 ml de *Solución del estándar interno* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,35 para tiamina y 1,0 para metilparabeno; la resolución *R* entre los picos de metilparabeno y tiamina no debe ser menor de 6,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 25 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{12}H_{17}ClN_4OS \cdot HCl$ en la Solución Inyectable de Clorhidrato de Tiamina, de acuerdo a la cantidad declarada.

TIMOLOL, MALEATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Maleato de Timolol deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{13}H_{24}N_4O_3S \cdot C_4H_4O_4$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Maleato de Timolol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol e hidróxido de amonio (80:20:1).

Solución muestra - Pesar una cantidad equivalente a 30 mg de maleato de timolol a partir del polvo fino obtenido en *Preparación muestra* en *Valoración*, transferir a un matraz aforado de 50 ml, agregar aproximadamente 2 ml de ácido clorhídrico 0,1 N y agitar. Agregar aproximadamente 30 ml de metanol, agitar durante 20 minutos, completar a volumen con metanol, mezclar y centrifugar.

Solución estándar - Preparar una solución de aproximadamente 0,6 mg de Maleato de Timolol SR-FA por ml, del mismo modo que la *Solución muestra*.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: los valores de R_f de las manchas principales obtenidas a partir de la *Solución muestra* se deben corresponder con los de la *Solución estándar*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Procedimiento para muestreo unificado

Aparato 1: 100 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,1 N; 500 ml.

Tiempo: 20 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrarlas y determinar la cantidad de $C_{13}H_{24}N_4O_3S \cdot C_4H_4O_4$ disuelta según se indica en *Valoración*, realizando los ajustes necesarios, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Maleato de Timolol SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de un 80 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{13}H_{24}N_4O_3S \cdot C_4H_4O_4$ se debe disolver en 20 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación
<740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 295 nm y una columna de 30 cm \times 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,8 ml por minuto.

Solución reguladora de fosfato de pH 2,8 - Transferir 22,08 g de fosfato monobásico de potasio a un matraz aforado de 2 litros completar a volumen con agua, ajustar a pH 2,80 \pm 0,05 con ácido fosfórico y filtrar.

Fase móvil - *Solución reguladora de fosfato de pH 2,8* y metanol (3:2) Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Maleato de Timolol SR-FA, transferir a un matraz aforado de 500 ml, agregar 50 ml de fosfato monobásico de sodio 0,05 M y sonicar hasta disolver. Agregar 100 ml de acetonitrilo, agitar, completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de diez Comprimidos de Maleato de Timolol. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 10 mg de maleato de timolol, transferir a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 10 ml de fosfato monobásico de sodio 0,05 M, sonicar durante 5 minutos y agregar 20 ml de acetonitrilo. Sonicar durante 5 minutos, agregar 20 ml de agua, agitar durante 10 minutos, completar a volumen con agua y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y

registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 15 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{13}H_{24}N_4O_3S \cdot C_4H_4O_4$ en los Comprimidos de Maleato de Timolol, de acuerdo a la cantidad declarada.

TIMOLOL, MALEATO DE SOLUCIÓN OFTÁLMICA

Definición - La Solución Oftálmica de Maleato de Timolol es una solución acuosa estéril de *Maleato de Timolol*. Debe no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de timolol ($C_{13}H_{24}N_4O_3S$) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Maleato de Timolol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - Absorción ultravioleta <470>

Diluir un volumen apropiado de la Solución Oftálmica de Maleato de Timolol con agua para obtener una solución de aproximadamente 20 μ g de timolol por ml: el espectro de absorción ultravioleta de la solución obtenida debe presentar máximos y mínimos a las mismas longitudes de onda que una preparación similar de Maleato de Timolol SR-FA.

Determinación del pH<250>

Entre 6,5 y 7,5.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

[NOTA: proteger la sustancia de referencia y las soluciones de la exposición directa a la luz].

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 295 nm y una columna de 15 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μ m de diámetro. Mantener la columna a 40 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1,2 ml por minuto.

Solución reguladora de fosfato de pH 2,8 - Disolver 11,1 g de fosfato monobásico de sodio en 1 litro de agua y ajustar a pH 2,80 \pm 0,05.

Diluyente - Acetonitrilo y *Solución reguladora de fosfato de pH 2,8* (2:1)

Fase móvil - *Solución reguladora de fosfato de pH 2,8* y metanol (65:35). Filtrar y desgasificar.

Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 34 mg de Maleato de Timolol SR-FA y transferir a un matraz aforado de 25 ml. Disolver con agua, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, agregar 15 ml de *Diluyente*, completar a volumen con agua y mezclar.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Oftálmica de Maleato de Timolol, equivalente a 5 mg de timolol, a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen *Diluyente* y mezclar. .

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la eficiencia de la columna no debe ser menor de 3.600 platos teóricos; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de timolol ($C_{13}H_{24}N_4O_3S$) en la Solución Oftálmica de Maleato de Timolol, de acuerdo la cantidad declarada.

ROTULADO

En el rótulo debe figurar la siguiente leyenda: "*Descartar una vez finalizado el tratamiento*".

TIOPENTAL SÓDICO

PARA INYECCIÓN

cantidad de $C_{11}H_{17}N_2NaO_2S$ en Tiopental Sódico para Inyección, de acuerdo a la cantidad declarada.

Definición - El Tiopental Sódico para Inyección es una mezcla estéril de *Tiopental Sódico* y *Carbonato de Sodio* anhidro como solución reguladora. Debe contener no menos de 93,0 por ciento y no más de 107,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{11}H_{17}N_2NaO_2S$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Tiopental Sódico SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de vidrio Tipo I o II

ENSAYOS

Identificación

Debe cumplir con los ensayos de *Identificación B y C* en *Tiopental Sódico*.

Disolución completa <280>

Mezclar 800 mg de Tiopental Sódico para Inyección con 10 ml de agua libre de dióxido de carbono y dejar un minuto en reposo: debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 10,2 y 11,2, determinado en la solución preparada en *Disolución completa*.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 1,0 Unidades de Endotoxina por mg de Tiopental Sódico.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

Uniformidad de contenido <740>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Diluyente y Preparación estándar - Proceder según se indica en *Valoración* en *Tiopental Sódico*.

Preparación muestra - Disolver el contenido de 10 envases de Tiopental Sódico para Inyección en agua y diluir un volumen exactamente medido con agua para obtener una solución de aproximadamente 50 mg por ml. Diluir esta solución, cuantitativamente y en etapas, con solución de hidróxido de sodio (1 en 250) para obtener una solución de aproximadamente 5 µg por ml.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración* en *Tiopental Sódico*. Calcular la

TROPICAMIDA

SOLUCIÓN OFTÁLMICA

Definición - La Solución Oftálmica de Tropicamida es una solución acuosa estéril de *Tropicamida*, conteniendo un agente antimicrobiano apropiado. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{17}H_{20}N_2O_2$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Tropicamida SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto. Evitar el congelamiento.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Extraer 10 ml de la Solución Oftálmica de Tropicamida con 25 ml de cloroformo, filtrar el extracto clorofórmico y evaporar hasta sequedad.

B - Absorción ultravioleta <470>

El espectro de absorción ultravioleta de la *Preparación muestra* en *Valoración* debe presentar máximos y mínimos a las mismas longitudes de onda que la *Preparación estándar*.

Determinación del pH <250>

Entre 4,0 y 5,8.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Diluyente - Ácido sulfúrico diluido 1 en 6.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Tropicamida SR-FA en *Diluyente* y diluir cuantitativamente y en etapas con el mismo solvente para obtener una solución de aproximadamente 30 µg por ml.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Oftálmica de Tropicamida, equivalente a 30 mg de tropicamida, a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 10,0 ml de esta solución a una ampolla de decantación, agregar 2 ml de una solución de carbonato de calcio 1 en 10, extraer con cuatro porciones de 20 ml de cloroformo y combinar los extractos en una segunda ampolla de decantación. Lavar los extractos combinados con una porción de 25 ml de solución reguladora de fosfato pH 6,5 (ver. *Soluciones reguladoras* en *Reactivos y Soluciones*) y transferir a otra ampolla de decantación. Lavar la fase acuosa con 10 ml de cloroformo y agregarlo a

los extractos. Extraer la solución clorofórmica con cuatro porciones de 20 ml de *Diluyente*, combinar los extractos ácidos en un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra* en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorbancia, 253 nm, con un espectrofotómetro, empleando *Diluyente* como blanco. Calcular la cantidad de $C_{17}H_{20}N_2O_2$ en la Solución Oftálmica de Tropicamida, de acuerdo a la cantidad declarada.

ROTULADO

En el rótulo debe figurar la siguiente leyenda: “*Descartar una vez finalizado el tratamiento*”.

VALPROICO, ÁCIDO

CÁPSULAS

Definición - Las Cápsulas de Ácido Valproico deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_8H_{16}O_2$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Ácido Valproico SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. Los cocientes entre los tiempos de retención de los picos de ácido valproico y del estándar interno obtenido a partir de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra* no deben diferir más de 2 %.

B - Extraer el contenido de tres Cápsulas de Ácido Valproico y mezclar. Pesar una cantidad equivalente a 250 mg de ácido valproico, transferir a una ampolla de decantación, agregar 20 ml de hidróxido de sodio 1 N, agitar y permitir que las fases se separen. Transferir la fase acuosa a una segunda ampolla de decantación, agregar 4 ml de ácido clorhídrico, mezclar y extraer con 40 ml de *n*-heptano. Filtrar la fase orgánica a través de lana de vidrio en un vaso de precipitados y evaporar el solvente completamente en un baño de vapor. Transferir dos gotas del residuo a un tubo de ensayo conteniendo 0,5 ml de solución de yoduro de potasio 1 en 50 y 0,5 ml de solución de yodato de potasio 1 en 25. Mezclar. Se debe desarrollar color amarillo.

Ensayo de disgregación <310>

Proceder según se indica en *Cápsulas blandas*, observando las cápsulas a los 15 minutos.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: solución conteniendo 5,0 mg de lauril sulfato de sodio por ml de fluido intestinal simulado (SR) (preparada sin la enzima y con fosfato monobásico de sodio en lugar de fosfato monobásico de potasio), ajustando a pH 7,5 con hidróxido de sodio 5 M; 900 ml.

Tiempo: 60 minutos.

Solución del estándar interno y *Sistema cromatográfico* - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución estándar - Pesar exactamente una cantidad apropiada de Ácido Valproico SR-FA para obtener una solución de concentración similar a la solución en ensayo. Transferir 10,0 ml de esta solución a un recipiente apropiado, agregar aproximadamente 3,0 g de cloruro de sodio y agitar durante 5 minutos. Agregar aproximadamente 1 ml de ácido clorhídrico 6 N, 5,0 ml de *Solución del estándar interno* y agitar durante 2 minutos. Permitir que las fases se separen, remover la fase de *n*-heptano y filtrar. Descartar la fase acuosa.

Solución muestra - Transferir 10,0 ml de la solución en ensayo a un recipiente apropiado. Proceder según se indica en *Solución estándar*, comenzando donde dice "agregar aproximadamente 3,0 g de cloruro de sodio..."

Procedimiento - Proceder según se indica en *Valoración*.

Tolerancia - No menos de 85 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_8H_{16}O_2$ se debe disolver en 60 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos. Emplear cloroformo como solvente en el procedimiento de *Cápsulas blandas*.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 1,8 m x 2 mm con fase estacionaria constituida por 10 % de poliéster de succinato de dietilenglicol estabilizado con ácido fosfórico sobre un soporte formado por tierra silíceo para cromatografía de gases que ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900°C con un tamaño de malla de 80 a 100. [NOTA: la tierra de sílice se lava con ácido, luego se lava con agua hasta neutralidad, pero no se lava con bases. La tierra de sílice puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetilclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener la columna aproximadamente a 150 °C y el inyector y el detector a 250 °C. Se debe emplear helio seco como gas transportador con un caudal de aproximadamente 40 ml por minuto.

Solución del estándar interno - Disolver una cantidad de bifenilo en *n*-heptano para obtener una solución de aproximadamente 5,0 mg por ml.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Ácido Valproico SR-FA en *n*-heptano para obtener una solución de aproximadamente 2,5 mg por ml. Transferir 5,0 ml de esta solución a un recipiente apropiado con tapa, agregar 2,0 ml de *Solución del estándar interno*, tapar el recipiente y mezclar.

Preparación muestra - Transferir no menos de veinte Cápsulas de Ácido Valproico a un recipiente apropiado, agregar aproximadamente 150 ml de cloruro de metileno y enfriar en una mezcla de dióxido de carbono sólido-acetona hasta que el contenido se haya solidificado. Si fuera necesario, transferir la mezcla de las Cápsulas de Ácido Valproico y cloruro de metileno a un recipiente apropiado, y mezclar a alta velocidad hasta que todos los sólidos se reduzcan a partículas finas. Transferir la mezcla a un matraz aforado de 500 ml, completar a volumen con *n*-heptano, mezclar y permitir que los sólidos decanten. Transferir un volumen exactamente medido de esta solución, equivalente a 250 mg de ácido valproico, a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *n*-heptano y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un recipiente con tapa, agregar 2,0 ml de la *Solución del estándar interno*, tapar el recipiente y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos son aproximadamente 0,5 para ácido valproico y 1,0 para bifenilo; la resolución *R* entre los picos de ácido valproico y bifenilo no debe ser menor de 3,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 2 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos de ácido valproico y del estándar interno. Calcular la cantidad de $C_8H_{16}O_2$ en las Cápsulas de Ácido Valproico, de acuerdo a la cantidad declarada.

VALPROICO, ÁCIDO

SOLUCIÓN ORAL

Definición - La Solución Oral de Ácido Valproico debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_8H_{16}O_2$. Debe ser preparado con la ayuda de hidróxido de sodio y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Ácido Valproico SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases herméticos.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. Los cocientes entre los tiempos de retención del pico de ácido valproico relativo al pico del estándar interno obtenidos a partir de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* no deben diferir en más de 2,0 %.

B - Transferir un volumen de la Solución Oral de Ácido Valproico, equivalente a 250 mg de ácido valproico, a una ampolla de decantación. Agregar 40 ml de agua y 2 ml de ácido clorhídrico, mezclar y extraer con 40 ml de *n*-heptano. Filtrar la fase de *n*-heptano a través de lana de vidrio a un vaso de precipitados y evaporar el solvente por completo en un baño de. Transferir dos gotas del residuo a un tubo de ensayo que contenga 0,5 ml de solución de yoduro de potasio (1 en 50) y 0,5 ml de solución de iodato de potasio (1 en 25) y mezclar: se debe desarrollar un color amarillo.

Determinación del pH <250>

Entre 7,0 y 8,0.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución del estándar interno, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración en Cápsulas de Ácido Valproico*.

Preparación muestra - Transferir una cantidad exactamente medida de la Solución Oral de Ácido Valproico, equivalente a 250 mg de ácido valproico, a una ampolla de decantación. Agregar

40 ml de agua, 2 ml de ácido clorhídrico y mezclar. Extraer con 80 ml de *n*-heptano hasta que la fase acuosa se torne transparente. Filtrar la fase de *n*-heptano a través de lana de vidrio, recolectando el filtrado en un matraz aforado de 100 ml. Lavar la ampolla de decantación y la lana de vidrio con pequeñas porciones de *n*-heptano, agregar los lavados al matraz, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un recipiente con tapa, agregar 2,0 ml de la *Solución del estándar interno*, tapar el recipiente y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 2 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos de ácido valproico y bifenilo. Calcular la cantidad de $C_8H_{16}O_2$ en la Solución Oral de Ácido Valproico, de acuerdo a la cantidad declarada.

VERAPAMILO, CLORHIDRATO DE COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Clorhidrato de Verapamilo deben contener no menos del 90,0 por ciento y no más del 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{27}H_{38}N_2O_4 \cdot HCl$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Verapamilo SR-FA. Impureza A de Verapamilo SR-FA: Monoclorhidrato de 3,4-dimetoxi- α -[3-(metilamino)propil]- α -(1-metiletil)bencenoacetonitrilo. Impureza B de Verapamilo SR-FA: Monoclorhidrato de α -[2-[[2-(3,4-dimetoxifenil)etil]metilamino]etil-3,4-dimetoxi- α -(1-metiletil)bencenoacetonitrilo.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En Fase sólida.*

Pesar una cantidad equivalente a 25 mg de clorhidrato de verapamilo a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración* y transferir a una ampolla de decantación. Agregar 25 ml de agua y agitar durante 30 minutos. Agregar 1 ml de hidróxido de sodio 1 N y extraer con 25 ml de cloroformo, agitando durante 10 minutos. Filtrar el extracto clorofórmico a través de un filtro que contenga sulfato de sodio anhidro. Triturar el extracto clorofórmico con 400 mg de bromuro de potasio y evaporar hasta sequedad. Secar a 105 °C durante 2 horas.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: ácido clorhídrico 0,01 N; 900 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_{27}H_{38}N_2O_4 \cdot HCl$ disuelta a partir de la diferencia entre las absorbancias medidas en el ultravioleta, a 278 y 300 nm, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Clorhidrato de Verapamilo SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 75 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{27}H_{38}N_2O_4 \cdot HCl$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido

Diluyente - Ácido clorhídrico 0,01 N.

Solución muestra - Transferir un Comprimido de Clorhidrato de Verapamilo a un vaso de precipitados de capacidad apropiada. Agregar 50 ml de *Diluyente* y calentar en un baño de vapor durante 50 minutos. Sonicar durante 10 minutos, enfriar y transferir cuantitativamente a un matraz aforado de 100 ml. Completar a volumen con *Diluyente*, mezclar y filtrar. Diluir una porción exactamente medida del filtrado con *Diluyente* hasta obtener una solución de aproximadamente 48 µg de clorhidrato de verapamilo por ml.

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Verapamilo SR-FA en *Diluyente* hasta obtener una solución de aproximadamente 48 µg de clorhidrato de verapamilo por ml.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución muestra* y la *Solución estándar* en un espectrofotómetro, en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, 278 nm, y la absorbancia de la *Solución muestra* a 300 nm, empleando *Diluyente* como blanco. Corregir la lectura de absorbancia de la *Solución muestra* a 278 nm sustrayendo la lectura obtenida a 300 nm. Calcular la cantidad de $C_{27}H_{38}N_2O_4 \cdot HCl$ en cada Comprimido de Clorhidrato de Verapamilo, en base a la cantidad declarada.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Solución de acetato de sodio, Fase móvil, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Pureza cromatográfica* en *Clorhidrato de Verapamilo*.

Solución estándar - Disolver cantidades exactamente pesadas de Clorhidrato de Verapamilo SR-FA, Impureza A de Verapamilo SR-FA, 3,4-dimetoxibenzaldehído y alcohol 3,4-dimetoxibencílico en *Fase móvil* hasta obtener una solución de aproximadamente 1,6 mg de clorhidrato de verapamilo por ml y 4,8 µg de impureza A de verapamilo, de 3,4-dimetoxibenzaldehído y de alcohol 3,4-dimetoxibencílico por ml.

Solución muestra - Preparar según se indica en *Preparación muestra* en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente

10 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas durante al menos cuatro veces el tiempo de retención del verapamilo y medir las respuestas de todos los picos. [NOTA: los tiempos de retención relativos son aproximadamente 0,4 para alcohol 3,4-dimetoxibencílico, 0,5 para impureza A de verapamilo, 0,7 para 3,4-dimetoxibenzaldehído y 1,0 para verapamilo]. Calcular la cantidad de cada impureza individual en los Comprimidos de Clorhidrato de Verapamilo, relacionando las respuestas de los picos a tiempos de retención correspondientes en la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. No debe presentar más de 0,3 % de cualquier impureza específica y la suma de todas las impurezas no debe ser mayor de 1,0 %.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Solución de acetato de sodio, Fase móvil, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Pureza cromatográfica en Clorhidrato de Verapamilo*.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Verapamilo SR-FA en *Fase móvil* hasta obtener una solución de aproximadamente 1,6 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Clorhidrato de Verapamilo. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 40 mg de clorhidrato de verapamilo, transferir a un tubo de centrifuga con tapa y agregar 25 ml de *Fase móvil*. Agitar durante 15 minutos, centrifugar y filtrar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas durante al menos cuatro veces el tiempo de retención del verapamilo y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{27}H_{38}N_2O_4 \cdot HCl$ en los Comprimidos de Clorhidrato de Verapamilo, de acuerdo a la cantidad declarada.

VERAPAMILO, CLORHIDRATO DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Clorhidrato de Verapamilo es una solución estéril de *Clorhidrato de Verapamilo en Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{27}H_{38}N_2O_4 \cdot HCl$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Clorhidrato de Verapamilo SR-FA. Impureza A de Verapamilo SR-FA: Monoclorhidrato de 3,4-dimetoxi- α -[3-(metilamino)propil]- α -(1-metiletil)bencenoacetnitrilo. Impureza B de Verapamilo SR-FA: Monoclorhidrato de α -[2-[[2-(3,4-dimetoxifenil)etil]metilamino]etil-3,4-dimetoxi- α -(1-metiletil)bencenoacetnitrilo.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe cumplir con los requisitos en 490. *Identificación de bases nitrogenadas*. Emplear un volumen de la Solución Inyectable de Clorhidrato de Verapamilo, equivalente a 100 mg de clorhidrato de verapamilo, empleando cloroformo en lugar de disulfuro de carbono y una celda de 0,1 mm en lugar de una celda de 1 mm.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

C - Debe responder al ensayo para *Cloruros* <410>.

Determinación del pH <250>

Entre 4,0 y 6,5.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución de acetato de sodio, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en el ensayo de *Pureza cromatográfica en Clorhidrato de Verapamilo*.

Solución estándar - Disolver cantidades exactamente pesadas de Clorhidrato de Verapamilo SR-FA, Impureza A de Clorhidrato de Verapamilo SR-FA, 3,4-dimetoxibenzaldehído y alcohol 3,4-dimetoxibencílico en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 2,5 mg

de Clorhidrato de Verapamilo SR-FA por ml y 0,0075 mg de la Impureza A de Clorhidrato de Verapamilo SR-FA, del 3,4-dimetoxibenzaldehído y de alcohol 3,4-dimetoxibencílico por ml.

Solución muestra - Preparar según se indica en *Preparación muestra en Valoración*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*. Cromatografiar la *Solución muestra* durante al menos cuatro veces el tiempo de retención del pico de clorhidrato de verapamilo. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,4 para alcohol 3,4-dimetoxibencílico, 0,5 para impureza A de clorhidrato de verapamilo, 0,7 para 3,4-dimetoxibenzaldehído y 1,0 para verapamilo. Calcular la cantidad de cada impureza individual en la Solución Inyectable de Clorhidrato de Verapamilo, relacionando las respuestas de las impurezas a tiempos de retención correspondientes en la *Solución muestra* y en la *Solución estándar*. No debe contener más de 0,3 % de cada impureza y la suma de todas las impurezas no debe ser mayor de 1,0 %.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 16,7 Unidades de Endotoxina por mg de Clorhidrato de Verapamilo.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución de acetato de sodio, Solución de aptitud del sistema y Aptitud del sistema - Preparar según se indica en el ensayo de *Pureza cromatográfica en Clorhidrato de Verapamilo*.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Clorhidrato de Verapamilo SR-FA en *Fase móvil* para obtener una solución de aproximadamente 2,5 mg por ml.

Preparación muestra - Diluir con *Fase móvil*, si fuera necesario, un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Clorhidrato de Verapamilo para obtener una solución de aproximadamente 2,5 mg por ml.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la

cantidad de $C_{27}H_{38}N_2O_4 \cdot HCl$ en la Solución Inyectable de Clorhidrato de Verapamilo, de acuerdo a la cantidad declarada.

WARFARINA SÓDICA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Warfarina Sódica deben contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{19}H_{15}NaO_4$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Warfarina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

B - *Absorción infrarroja <460>. En fase sólida.* Pesar una cantidad equivalente a 200 mg de warfarina sódica a partir del polvo fino obtenido en la *Preparación muestra* en *Valoración*, mezclar con 50 ml de agua, centrifugar y filtrar el líquido sobrenadante. Extraer con 50 ml de éter, transferir la fase acuosa a una ampolla de decantación y descartar el éter. Ajustar a pH menor de 3,0 con ácido clorhídrico y extraer con 50 ml de cloroformo. Transferir la fase clorofórmica a otra ampolla de decantación, extraer con 50 ml de solución de hidróxido de sodio 1 en 250 y descartar el cloroformo. Transferir la fase acuosa a un vaso de precipitados y ajustar a pH menor de 3,0 con ácido clorhídrico para precipitar la warfarina. Agitar la mezcla y dejar que coagule el precipitado. Filtrar y lavar el precipitado con cuatro porciones de 5 ml de agua. Si el precipitado no es blanco disolverlo en el mínimo volumen de solución de hidróxido de sodio 1 en 250, diluir a 50 ml con agua y repetir el procedimiento previo, comenzando donde dice: "*Extraer con 50 ml de éter...*". Secar la warfarina obtenida de este modo, al vacío sobre pentóxido de fósforo durante 4 horas.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y determinar la cantidad de $C_{19}H_{15}NaO_4$ disuelta mediante la siguiente técnica.

Sistema cromatográfico y Fase móvil - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución del estándar interno - Preparar una solución de *Propilparabeno* de aproximadamente 0,0025 veces la cantidad declarada en mg de Warfarina Sódica en cada comprimido por ml de agua. [NOTA: se puede emplear un pequeño volumen de metanol, si fuera necesario, para disolver el *Propilparabeno*].

Solución madre del estándar - Preparar una solución de Warfarina SR-FA de aproximadamente 0,0011 veces la cantidad declarada en mg de $C_{19}H_{15}NaO_4$ en cada comprimido por ml de agua. [NOTA: emplear un pequeño volumen de hidróxido de sodio 0,1 N para favorecer la disolución].

Solución estándar - Agregar 1,0 ml de *Solución del estándar interno* a 3,0 ml de *Solución madre del estándar* y mezclar.

Solución muestra - A una alícuota filtrada de 3,0 ml agregar 1,0 ml de *Solución del estándar interno* y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 40 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales.

Tolerancia - No menos del 80 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{19}H_{15}NaO_4$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 25 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,4 ml por minuto.

Solución reguladora de pH 7,4 - Pesar exactamente alrededor 1,36 g de fosfato monobásico de potasio, transferir a un matraz aforado de 200 ml y disolver en 50 ml de agua. Agregar 39,1 ml de hidróxido de sodio 0,2 N y completar a volumen con agua. Ajustar a pH $7,4 \pm 0,1$ con hidróxido de sodio o ácido fosfórico.

Fase móvil - Metanol, agua y ácido acético glacial (68:32:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los

ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - *Solución reguladora de pH 7,4* y acetonitrilo (85:15).

Solución del estándar interno - Preparar una solución de *Propilparabeno* en acetonitrilo de aproximadamente 1 mg por ml.

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 62,5 mg de Warfarina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 200 ml y disolver en 78 ml de hidróxido de sodio 0,1 N. Agregar 50 ml de fosfato monobásico de potasio 0,2 M, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 15,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml. Agregar 5,0 ml de *Solución del estándar interno* y completar a volumen con *Diluyente*.

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino no menos de veinte Comprimidos de Warfarina Sódica. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 5 mg de warfarina sódica, transferir a un matraz aforado de 50 ml y agregar 5 ml de *Solución del estándar interno* y aproximadamente 30 ml de *Diluyente*. Sonicar durante 10 minutos y agitar durante 60 minutos. Completar a volumen con *Diluyente* y filtrar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,75 para propilparabeno y 1,0 para warfarina; la resolución *R* entre los picos de propilparabeno y warfarina no deben ser menor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{19}H_{15}NaO_4$ en los Comprimidos de Warfarina Sódica, de acuerdo a la cantidad declarada.

ZALCITABINA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Zalcitabina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_9H_{13}N_3O_3$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Zalcitabina SR-FA. Impureza A de Zalcitabina SR-FA: 2',3'-Didehidro-2',3'-dideoxicitidina.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Precaución - Manipular la Zalcitabina evitando su inhalación y el contacto con la piel.

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 20 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrar y diluir las mismas con *Medio*, si fuera necesario, y determinar la cantidad de $C_9H_{13}N_3O_3$ disuelta empleando la técnica siguiente.

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 270 nm, una columna de 15 cm × 3,9 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución reguladora de fosfato pH 6,8 - Disolver 8,7 g de fosfato dibásico de potasio en 1 litro de agua, ajustar a pH 6,8 con ácido fosfórico y mezclar.

Fase móvil - Solución reguladora de fosfato pH 6,8, metanol y acetonitrilo (96:4:3). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de Zalcitabina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 250 ml, agregar aproximadamente 200 ml de *Medio* y sonicar hasta disolución. Completar a volumen con *Medio* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las

respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 150 µl) de la *Solución estándar* y las soluciones en ensayo, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de zalcitabina disuelta.

Tolerancia - No menos de 80 % (Q) de la cantidad declarada de $C_9H_{13}N_3O_3$ se debe disolver en 20 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm, un guardacolumna con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Solución reguladora de fosfato - Disolver 3,4 g de fosfato monobásico de potasio en 1 litro de agua, ajustar a pH 2,2 con ácido fosfórico. Agregar 1,08 g de ácido 1-octanosulfónico de sodio y mezclar.

Fase móvil - Solución reguladora de fosfato y acetonitrilo (85:15). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Agua y acetonitrilo (17:3).

Solución de resolución - Disolver una cantidad exactamente pesada de Zalcitabina SR-FA y de Impureza A de Zalcitabina SR-FA en *Diluyente* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, para obtener una solución de aproximadamente 0,02 mg de zalcitabina por ml y 0,002 mg de impureza A de zalcitabina por ml.

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Zalcitabina SR-FA en *Diluyente* y diluir cuantitativamente y en etapas, si fuera necesario, para obtener una solución de aproximadamente 0,008 mg por ml.

Preparación muestra - Transferir cinco Comprimidos de Zalcitabina a un matraz aforado apropiado para obtener una solución de aproximadamente

0,008 mg de zalcitabina por ml. Agregar un volumen de *Diluyente* equivalente a tres quintas partes del volumen del matraz, sonicar durante 15 minutos y agitar durante 10 minutos. Completar a volumen con *Diluyente* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de zalcitabina e impureza A de zalcitabina no debe ser menor de 1,1 y el factor de asimetría no debe ser mayor de 1,5. Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_9H_{13}N_3O_3$ en los Comprimidos de Zalcitabina, de acuerdo a la cantidad declarada.

ZIDOVUDINA

CÁPSULAS

Definición - Las Cápsulas de Zidovudina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{10}H_{13}N_5O_4$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Zidovudina SR-FA. Impureza B de Zidovudina SR-FA: Timina.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - *Absorción ultravioleta* <470>.

Solvente - Metanol y agua (75:25).

Solución muestra - Pesar una cantidad equivalente a 300 mg de zidovudina a partir del contenido de las Cápsulas de Zidovudina obtenido en *Preparación muestra* en *Valoración*. Transferir a un matraz aforado de 200 ml, agregar 50 ml de *Solvente* y mezclar. Sonicar durante 5 minutos, completar a volumen con metanol y mezclar. Dejar que los sólidos insolubles sedimenten, transferir 1 ml del sobrenadante a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Solvente* y mezclar. La solución debe contener aproximadamente 15 µg de zidovudina por ml.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 45 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrarlas y determinar la cantidad de $C_{10}H_{13}N_5O_4$ disuelta según se indica en *Procedimiento* en *Valoración*, realizando los ajustes necesarios, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Zidovudina SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 75 % (Q) de la cantidad declarada de $C_{10}H_{13}N_5O_4$ se debe disolver en 45 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución madre del estándar y Solución madre de Impureza B de Zidovudina - Proceder según se indica en *Valoración* en *Zidovudina*.

Solución estándar - Proceder según se indica en *Preparación estándar* en *Valoración*.

Solución muestra - Proceder según se indica en *Preparación muestra* en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el porcentaje de Impureza B de Zidovudina en las Cápsulas de Zidovudina. No debe presentar más de 3,0 % de Impureza B de Zidovudina.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Fase móvil, Solución madre del estándar y Solución madre de Impureza B de Zidovudina - Proceder según se indica en *Valoración* en *Zidovudina*.

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 265 nm y una columna de 25 cm × 4,0 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro y un guardacolumna de 1,5 cm x 3,2 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Diluyente - Metanol y agua (75: 25).

Preparación estándar - Transferir 10,0 ml de la *Solución madre del estándar* y 1,0 ml de la *Solución madre de la Impureza B de Zidovudina* a un matraz aforado de 100 ml, agregar 25 ml de agua y mezclar. Completar a volumen con metanol y mezclar.

Preparación muestra - Extraer el contenido de no menos de veinte Cápsulas de Zidovudina y mezclar. Pesar exactamente una cantidad equivalente a 100 mg de zidovudina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar una porción de *Diluyente* para disolver, sonicar durante aproximadamente 20 minutos y completar a volumen con *Diluyente*. Dejar que los sólidos sedimenten, transferir 10,0 ml del sobrenadante a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Diluyente*.

Aptitud del sistema (ver 100. Cromatografía) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,2 para la impureza B de zidovudina y 1,0 para zidovudina; la resolución *R* entre los picos de la zidovudina y la impureza B de zidovudina no debe ser menor de 5,0; el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{10}H_{13}N_5O_4$ en las Cápsulas de Zidovudina, de acuerdo a la cantidad declarada.

ZIDOVUDINA

COMPRIMIDOS

Definición - Los Comprimidos de Zidovudina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{10}H_{13}N_5O_4$ y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Zidovudina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción infrarroja <460>. *En fase sólida.*

Solución muestra - Reducir a polvo fino un Comprimido de Zidovudina, remover la cubierta filmica y emplear 5 mg del polvo.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Ensayo de disolución <320>

Aparato 2: 50 rpm.

Medio: agua; 900 ml.

Tiempo: 30 minutos.

Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso, filtrarlas y determinar la cantidad de $C_{10}H_{13}N_5O_4$ disuelta según se indica en *Procedimiento* en *Valoración*, realizando los ajustes necesarios, comparando con una *Solución estándar* de concentración conocida de Zidovudina SR-FA en el mismo medio.

Tolerancia - No menos de 75 % (*Q*) de la cantidad declarada de $C_{10}H_{13}N_5O_4$ se debe disolver en 30 minutos.

Uniformidad de unidades de dosificación <740>

Debe cumplir con los requisitos.

Procedimiento para uniformidad de contenido

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 265 nm y una columna de 15 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μm de diámetro, desactivada para bases. El caudal debe ser aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua y metanol (4:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución estándar - Proceder según se indica en *Preparación estándar* en *Valoración*.

Solución muestra - Transferir un Comprimido de Zidovudina a un matraz aforado de 100 ml, agregar aproximadamente 20 ml de agua y agitar hasta dispersar el comprimido. Agregar aproximadamente 30 ml de metanol y sonicar durante 10 minutos. Completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 4,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Filtrar descartando los primeros 2 ml del filtrado.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μl) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{10}H_{13}N_5O_4$ en cada Comprimido de Zidovudina.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Fase móvil y Solución estándar - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* preparada en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μl) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el porcentaje de cada impureza en los Comprimidos de Zidovudina, relacionando la respuesta del pico de cada impureza en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* y la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar*. Multiplicar la respuesta del pico de cada impureza por el factor de corrección *F* según corresponda, *F* igual a 0,59 para el pico que eluya a un tiempo de retención relativo a la zidovudina de aproximadamente 0,17 e igual a 1,00 para los otros picos. No debe contener más de 1,5 % de impurezas con un tiempo de retención relativo de 0,17, no más de 0,2 % de cualquier otra impureza y no más de 2,0 % de impurezas totales.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 265 nm y una columna de 15 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro, desactivada para bases. El caudal debe ser aproximadamente 1,3 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 3,0 g de acetato de sodio y 1,3 g de 1-octanosulfonato de sodio en 900 ml de agua. Agregar 90 ml de metanol y 40 ml de acetonitrilo y mezclar. Ajustar a pH 5,3 con ácido acético glacial. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Pesar exactamente una cantidad de Zidovudina SR-FA, disolver en un volumen de metanol, diluir a volumen con agua para obtener una solución de aproximadamente 0,12 mg por ml y mezclar.

Preparación muestra - Transferir una cantidad de los Comprimidos de Zidovudina, equivalente a 1.500 mg de zidovudina, a un matraz aforado de 500 ml. Agregar aproximadamente 50 ml de agua, agitar durante 30 minutos hasta dispersar los comprimidos. Agregar aproximadamente 150 ml de metanol y sonicar durante 10 minutos. Completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 4,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de la zidovudina y el correspondiente a un tiempo de retención relativo de aproximadamente 1,2 no debe ser menor de 2,5; el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₁₀H₁₃N₅O₄ en los Comprimidos de Zidovudina, de acuerdo a la cantidad declarada.

ZIDOVUDINA

SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Zidovudina es una solución estéril de *Zidovudina* en *Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de $C_{10}H_{13}N_5O_4$ y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Zidovudina SR-FA. Impureza B de Zidovudina SR-FA: Timina.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Absorción ultravioleta <470>

Solvente: metanol y agua (75:25).

Concentración: 15 µg por ml. Obtener la *solución muestra* del siguiente modo: mezclar un volumen de la Solución Inyectable de Zidovudina, equivalente a 20 mg de zidovudina, con 50 ml de *Solvente* en un matraz aforado de 200 ml y completar a volumen con *Solvente*. Diluir la solución resultante 15 en 100 con *Solvente* y mezclar.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación del pH <250>

Entre 3,5 y 7,0; determinado sobre una mezcla que contenga un volumen de la Solución Inyectable de Zidovudina, equivalente a 150 mg de zidovudina, y 5 ml de cloruro de potasio 0,12 M.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución madre del estándar, Solución madre de la Impureza B de Zidovudina y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración* en *Zidovudina*.

Solución estándar - Transferir 10,0 ml de la *Solución madre del estándar* y 1,0 ml de la *Solución madre de la Impureza B de Zidovudina* a un matraz aforado de 100 ml, agregar 25 ml de agua, mezclar, completar a volumen con metanol y mezclar.

Solución muestra - Proceder según se indica para *Preparación muestra* en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los todos picos. Calcular la cantidad de la Impureza B de Zidovudina en la Solución Inyectable de Zidovudina. No debe contener más de 1,0 %.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 1,0 Unidad de Endotoxina por mg de Zidovudina.

Ensayo de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, según se indica en *Método de filtración por membrana*.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Solución madre del estándar, Solución madre estándar de la Impureza B de Zidovudina y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración* en *Zidovudina*.

Preparación estándar - Transferir 10,0 ml de la *Solución madre del estándar* y 2,0 ml de *Solución madre de la Impureza B de Zidovudina*, a un matraz aforado de 100 ml, agregar 25 ml de agua, mezclar, completar a volumen con metanol y mezclar.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Inyectable de Zidovudina, equivalente a 25 mg de zidovudina, a un matraz aforado de 250 ml, disolver y completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{10}H_{13}N_5O_4$ en la Solución Inyectable de Zidovudina, de acuerdo a la cantidad declarada.

ZIDOVUDINA

SOLUCIÓN ORAL

Definición - La Solución Oral de Zidovudina deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de zidovudina ($C_{10}H_{13}N_5O_4$) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Zidovudina SR-FA. Impureza B de Zidovudina SR-FA: Timina.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos impermeables.

ENSAYOS

Identificación

A - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Alcohol butílico, acetona, *n*-heptano e hidróxido de sodio (40:30:30:10).

Solución estándar - Preparar una solución de Zidovudina SR-FA en una mezcla de metanol y agua (75:25) de aproximadamente 5 mg por ml.

Solución muestra - Preparar una solución de Zidovudina en metanol de aproximadamente 5 mg por ml.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 μ l de la *Solución estándar* y 5 μ l de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: el valor de R_f de la mancha principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido en la *Solución estándar*.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación del pH <250>

Entre 3,0 y 4,0, determinado sobre una solución que contenga un volumen de Solución Oral de Zidovudina equivalente a 150 mg de zidovudina y 5 ml de cloruro de potasio 0,12 M (3:1).

Sustancias relacionadas

Sistema cromatográfico, Fase móvil, Aptitud del sistema y Solución madre del estándar de Impureza B de Zidovudina - Proceder según se indica en *Valoración*.

Solución madre del estándar - Proceder según se indica en *Preparación madre del estándar* en *Valoración*.

Solución estándar - Proceder según se indica en *Preparación estándar* en *Valoración*.

Solución muestra - Proceder según se indica en *Preparación muestra* en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de impureza B de zidovudina en la Solución Oral de Zidovudina. No debe contener más de 3,0 %.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos para productos terminados de administración oral.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 240 nm, una columna de 12,5 cm \times 4,0 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Acetato de sodio 0,04 M, metanol, acetonitrilo y ácido acético glacial (900:90:10:2). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución madre del estándar de la Impureza B de Zidovudina - Pesar exactamente 20 mg de Impureza B de Zidovudina SR-FA, transferir a un matraz aforado de 200 ml, agregar 150 ml de *Fase móvil*, sonicar durante 10 minutos, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Preparación madre del estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de Zidovudina SR-FA en *Fase móvil*, y diluir cuantitativamente para obtener una solución de aproximadamente 1,0 mg por ml.

Preparación estándar - Transferir 10,0 ml de *Preparación madre del estándar* y 2,0 ml de *Solución madre del estándar de la Impureza B de Zidovudina* a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Preparación muestra - Transferir un volumen exactamente medido de la Solución Oral de Zidovudina, equivalente a 100 mg de zidovudina, a un matraz

aforado de 100 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,12 para la impureza B de zidovudina y 1,0 para zidovudina, la resolución *R* entre los picos de zidovudina y la impureza B de zidovudina no debe ser menor de 4,0; el factor de asimetría no debe ser mayor de 2,0 y la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de $C_{10}H_{13}N_5O_4$ en la Solución Oral de Zidovudina, de acuerdo a la cantidad declarada.

MEDICAMENTOS HERBARIOS

APARTADO DE MEDICAMENTOS HERBARIOS

ÍNDICE

Métodos Generales de Análisis

<480> - Grasas y aceites fijos

<630> - Métodos de farmacognosia

Monografías

Ajo, Polvo

Alcachofa, Hoja

Anís, Fruto

Bálsamo de Perú

Bálsamo de Tolú

Belladona, Hoja

Boldo, Hoja

Caléndula, Flor

Canela de Ceilán, Corteza

Cardo Mariano, Fruto

Cáscara Sagrada, Corteza

Castaño de Indias, Semilla

Cedrón, Hoja

Centella, Hierba

Cola, Nuez de

Eucalipto, Hoja

Ginkgo, Hoja

Ginseng Oriental, Raíz

Hamamelis, Hoja

Hipérico, Hierba

Ipecacuana, Raíz y Rizoma

Manzanilla, Flores

Menta, Hoja

Podófilo, Resina de

Regaliz, Raíz

Sen, Hoja

Uva Ursi, Hoja

Valeriana, Raíz y Rizoma

Yerba Mate, Hoja y Tallo

480. GRASAS Y ACEITES FIJOS

Definiciones generales -

Indice de acidez - Es la cantidad, en mg, de hidróxido de potasio necesaria para neutralizar los ácidos libres presentes en 1,0 g de muestra.

Indice de esterificación - Es la cantidad, en mg., de hidróxido de potasio necesaria para saponificar los ésteres presentes en 1,0 g de muestra.

Indice de hidroxilo - Es la cantidad, en mg, de hidróxido de potasio equivalente al contenido de hidroxilo de 1,0 g de muestra.

Indice de iodo - Es la cantidad, en g, de iodo capaz de ser fijado, bajo las condiciones indicadas, por 100 g de muestra.

Indice de saponificación - Es la cantidad, en mg, de hidróxido de potasio necesaria para neutralizar los ácidos libres y saponificar los ésteres presentes en 1,0 g de muestra.

Preparación muestra -

Si la muestra se presenta turbia debido a la presencia de estearina, calentar el envase en un baño de agua a 50 °C hasta que quede límpida; si el aceite no se clarifica por calentamiento, filtrarlo a través de un papel de filtro seco en un embudo que se pueda mantener caliente. Mezclar y pesar, de una vez, tantas porciones como se necesiten para las distintas determinaciones. Mantener la muestra fundida hasta que se hayan tomado las porciones necesarias.

Densidad relativa -

Determinar la densidad relativa de una grasa o aceite según se indica en <160>. *Determinación de la densidad relativa.*

Temperatura de fusión

Determinar la temperatura de fusión según se indica para el *Método II* en <260>. *Determinación del punto de fusión.*

Temperatura de solidificación de ácidos grasos

Aislamiento de los ácidos grasos - Calentar en un vaso de precipitados de 800 ml a 150 °C, 75 ml de solución de hidróxido de potasio-glicerina, preparada disolviendo 25 g de hidróxido de potasio en 100 ml de glicerina, y agregar 50 ml de la grasa clarificada. Calentar la mezcla durante 15 minutos con agitación frecuente, evitando que la temperatura sobrepase los 150 °C. La saponificación se considera completa cuando la mezcla se presenta homogénea, sin partículas adheridas al vaso en el menisco. Verter el contenido del vaso de precipitados en 500 ml de

agua próxima a hervir en un segundo vaso de precipitados o en una cápsula de 800 ml. Agregar lentamente 50 ml de ácido sulfúrico diluido, preparado mezclando 3 partes de agua con 1 parte de ácido sulfúrico, y calentar la solución, con agitación frecuente, hasta que los ácidos grasos se separen como una capa transparente. Lavarlos con agua hirviendo hasta que estén exentos de ácido sulfúrico y recolectarlos en un vaso de precipitados. Calentar en un baño de vapor hasta que el agua se separe y los ácidos grasos formen una capa clara; filtrar en un vaso de precipitados seco mientras se calienta y secar a 105 °C durante 20 minutos. Transferir los ácidos grasos aún calientes a un recipiente apropiado y enfriar en un baño de hielo hasta que se produzca la solidificación.

Ensayo de saponificación completa - Transferir 3 ml de los ácidos grasos aislados a un erlenmeyer y agregar 15 ml de alcohol. Calentar la solución a ebullición y agregar un volumen igual de hidróxido de amonio 6 N. La solución deberá permanecer límpida.

Procedimiento - Proceder según se Indica para el *Procedimiento* en <180>. *Determinación de la temperatura de solidificación.* El promedio de no menos de cuatro lecturas consecutivas de la mayor temperatura observada, es la temperatura de solidificación de los ácidos grasos.

Determinación del índice de acidez (ácidos grasos libres)

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, disolver aproximadamente 10,0 g de muestra exactamente pesados en 50 ml de una mezcla de volúmenes iguales de alcohol y éter, previamente neutralizados frente a la fenoltaleína con hidróxido de sodio 0,1 N. Si la muestra no se disuelve en el solvente frío, adaptar al erlenmeyer un condensador apropiado y calentar suavemente, agitando hasta disolución. Agregar 1 ml de fenoltaleína (SR). Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) hasta coloración rosada persistente durante 30 segundos. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Calcular el *Indice de acidez* o el volumen de álcali 0,1 N requerido para neutralizar 10,0 g de muestra (ácidos grasos libres), según corresponda.

Si el volumen de hidróxido de sodio 0,1 N (SV) requerido para la titulación es menor de 2 ml, puede emplearse un titulante más diluido o ajustarse convenientemente el tamaño de la muestra. Los resultados pueden expresarse en función del

volumen de titulante empleado o en función del volumen equivalente de hidróxido de sodio 0,1 N.

Si el aceite ha sido saturado con dióxido de carbono para su conservación, calentar a reflujo suavemente la solución de alcohol-éter durante 10 minutos antes de la titulación. El dióxido de carbono presente en el aceite puede eliminarse también colocándolo en un cristizador dentro de un desecador al vacío durante 24 horas antes de pesar la muestra.

Determinación del índice de saponificación

Transferir 1,5 a 2 g de muestra, exactamente pesados, a un erlenmeyer de 250 ml, previamente pesado, y agregar 25,0 ml de hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N (SV). Calentar en un baño de vapor, con un refrigerante apropiado para mantener el reflujo durante 30 minutos, agitando por rotación frecuentemente. Agregar 1 ml de fenolftaleína (SR) y titular el hidróxido de potasio en exceso con ácido clorhídrico 0,5 N (SV). Realizar una determinación con un blanco (ver *Titulaciones residuales* en 780. *Volumetría*). La diferencia entre los volúmenes, en ml, de ácido clorhídrico 0,5 N consumido por la muestra y el blanco, multiplicado por 28,05 y dividido por el peso, en g, de la muestra, es el *Índice de saponificación*.

Si el aceite ha sido saturado con dióxido de carbono para su conservación, colocarlo en un cristizador dentro de un desecador al vacío durante 24 horas antes de pesar la muestra para el ensayo.

Determinación del índice de esterificación

[NOTA: si se han determinado el *Índice de saponificación* y el *Índice de acidez*, por diferencia entre estos se obtiene el *Índice de esterificación*.]

Transferir entre 1,5 y 2 g de muestra, exactamente pesados, a un erlenmeyer de 250 ml, previamente pesado. Agregar entre 20 y 30 ml de alcohol neutralizado, agitar y agregar 1 ml de fenolftaleína (SR). Titular con hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N (SV) hasta neutralizar totalmente los ácidos grasos, libres. Agregar 25,0 ml de hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N (SV) y proceder según se indica en *Índice de saponificación*, comenzando donde dice "Calentar en un baño de vapor..." pero omitiendo el agregado adicional de fenolftaleína (SR). Realizar una determinación con un blanco. La diferencia entre los volúmenes, en ml, de ácido clorhídrico 0,5 N consumido por la muestra y el blanco, multiplicado

por 28,05 y dividido por el peso, en g, de la muestra tomada, es el *Índice de esterificación*.

Determinación del índice de hidroxilo

Reactivo piridina-anhídrido acético - Antes de comenzar el ensayo, mezclar 3 volúmenes de piridina recientemente destilada con 1 volumen de anhídrido acético recientemente destilado.

Procedimiento - Transferir una cantidad de muestra (determinada según la *Tabla 1*), exactamente pesada, a un erlenmeyer de 250 ml con tapón de vidrio y agregar 5,0 ml de *Reactivo piridina-anhídrido acético*. Transferir 5,0 ml de *Reactivo piridina-anhídrido acético* a un segundo erlenmeyer de 250 ml con tapón de vidrio, que será empleado como blanco. Acoplar a ambos erlenmeyers refrigerantes apropiados con juntas esmeriladas. Calentar en un baño de vapor durante 1 hora, agregar 10 ml de agua a través de cada refrigerante y calentar en el baño de vapor durante 10 minutos adicionales. Enfriar y agregar, a cada erlenmeyer, 25 ml de alcohol butílico previamente neutralizado frente a fenolftaleína (SR) con hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N; vertiendo los primeros 15 ml a través de cada refrigerante y, luego de retirar los refrigerantes, lavar las paredes de ambos erlenmeyers con la porción restante de 10 ml. A cada erlenmeyer agregar 1 ml de fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N (SV). Registrar el volumen consumido por el ácido residual en la solución muestra como T y el consumido por el blanco como B. Transferir aproximadamente 10 g de muestra, exactamente pesados, a un erlenmeyer de 125 ml y mezclar con 10 ml de piridina recientemente destilada, neutralizada previamente frente a fenolftaleína (SR). Agregar 1 ml de fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N (SV). Registrar el volumen constituido por los ácidos grasos libres presentes en la muestra como A, o emplear el *Índice de acidez* para obtener A. Calcular el *Índice de hidroxilo* por la fórmula siguiente:

$$(56,11N/P)[B + (PA/C) - T]$$

en la cual *P* y *C* son los pesos de la muestra, en g, tomados para la acetilación y para la determinación de ácidos libres, respectivamente, *N* es la normalidad exacta del hidróxido de potasio alcohólico, 56,11 es el peso molecular del hidróxido de potasio y los otros términos son los definidos anteriormente.

Tabla 1.

Intervalo de índice de hidroxilo	Peso de muestra (g)
0 a 20	10
20 a 50	5
50 a 100	3
100 a 150	2
150 a 200	1,5
200 a 250	1,25
250 a 300	1
300 a 350	0,75

Determinación del índice de iodo

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, determinar el *Índice de iodo* por el *Método I*.

Método I

Procedimiento - Transferir aproximadamente 800 mg de grasa sólida o 200 mg de aceite, exactamente pesados, a un matraz para iodo de 250 ml. Disolver en 10 ml de cloroformo, agregar 25,0 ml de bromuro de iodo (SR), tapar perfectamente y dejar en reposo durante 30 minutos al abrigo de la luz, agitando ocasionalmente. Agregar 30 ml de yoduro de potasio (SR) y 100 ml de agua, en ese orden. Titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agitando vigorosamente después de cada agregado de tiosulfato. Cuando el color del iodo se toma muy pálido, agregar 3 ml de almidón (SR) y continuar la titulación con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV) hasta que el color azul desaparezca. Realizar una determinación con un blanco (Ver *Titulaciones residuales* en 780. *Volumetría*). La diferencia entre los volúmenes, en ml, de tiosulfato de sodio 0,1 N (SV) consumido por la muestra y el blanco, multiplicado por 1,269 y dividido por el peso, en g, de la muestra, es el *Índice de iodo*.

[NOTA: si más de la mitad del bromuro de yodo (SR) es absorbido por la porción de muestra tomada, repetir la determinación, empleando una muestra de menor tamaño.]

Método II

Solución de yoduro de potasio - Disolver 10,0 g de yoduro de potasio en agua para obtener 100 ml. Almacenar en envases inactivos.

Solución indicadora de almidón - Mezclar 1 g de almidón soluble con cantidad suficiente de agua fría para hacer una pasta fina. Agregar esta pasta, con agitación, a 100 ml de agua hirviendo, mezclar y enfriar. Emplear solamente la solución clara.

Procedimiento - Fundir la muestra, si es sólida. [NOTA: la temperatura no debe ser mayor que el punto de fusión de la muestra en más de 10 °C.] Filtrar a través de dos piezas de papel de filtro para eliminar las impurezas sólidas y las trazas de humedad. La filtración puede realizarse en una estufa a 100 °C pero debe completarse en no más de 5 minutos \pm 30 segundos. La muestra debe estar totalmente seca. Todos los materiales de vidrio deben estar limpios y completamente secos. Luego de la filtración, dejar que la muestra filtrada alcance una temperatura entre 68 y 71 ± 1 °C, antes de pesarla. Una vez que la muestra ha alcanzado la temperatura indicada, pesar de inmediato en un matraz para iodo de 500 ml. Emplear los pesos y exactitud de pesaje indicados en la *Tabla 2*. [NOTA: el peso de la muestra debe ser tal que el exceso de cloruro de iodo (SR) sea entre 50 y 60 % de la cantidad agregada, o sea, entre 100 y 150 o de la cantidad absorbida.] Agregar 15 ml de una mezcla de ciclohexano y ácido acético (1:1) y agitar hasta disolución. Agregar 25,0 ml de cloruro de yodo (SR), tapar perfectamente el matraz y mezclar. Dejar reposar, al abrigo de la luz, a 25 ± 5 °C, con agitación ocasional, durante 1 hora para un índice de iodo menor a 150 o durante 2 horas para un índice de iodo mayor o igual a 150. Dentro de los 3 minutos después del tiempo de reacción indicado, agregar, 20 ml de *Solución de yoduro de potasio* y 150 ml de agua recientemente hervida y enfriada en ese orden y mezclar. Dentro de los siguientes 30 minutos, titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agitando mecánicamente después de cada agregado de tiosulfato. Cuando el color amarillo del iodo casi haya desaparecido, agregar 1 a 2 ml de *Solución indicadora de almidón* y continuar la titulación con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV) hasta que el color azul desaparezca. Realizar una determinación con un blanco (ver *Titulaciones residuales* en 780. *Volumetría*). La diferencia entre los volúmenes de tiosulfato de

sodio 0,1 N consumidos por el blanco y la muestra, multiplicada por 1,269 y dividido por el peso, en g,

de la muestra, es el *Índice de iodo*.

Tabla 2.

Índice de iodo esperado	Peso de muestra (g ± 0,001)
< 5	3
5-20	1
21-50	0,4
51-100	0,2
101-150	0,13
151-200	0,1

Materia insaponificable

Materia insaponificable - En aceites o grasas se refiere a aquellas sustancias que no son saponificables por hidróxidos alcalinos pero son solubles en los solventes grasos comunes y a productos de saponificación que son solubles en dichos solventes.

Procedimiento - Transferir aproximadamente 5,0 g, exactamente pesados, del aceite o grasa, a un erlenmeyer de 250 ml. Agregar 50 ml de una solución de hidróxido de potasio alcohólico, preparada disolviendo 12 g de hidróxido de potasio en 10 ml de agua y diluyendo con alcohol a 100 ml. Calentar el erlenmeyer en un baño de vapor con un refrigerante apropiado para mantener el reflujo durante 1 hora, agitando por rotación frecuentemente. Enfriar a una temperatura por debajo de 25 °C, transferir el contenido del erlenmeyer a una ampolla de decantación con un robinete de politetrafluoretileno y lavar el erlenmeyer con dos porciones de 50 ml de agua que se agregan a la ampolla de decantación. [NOTA: no emplear grasa en el robinete.] Extraer con tres porciones de 100 ml de éter, combinando los extractos etéreos en otra ampolla de decantación que contenga 40 ml de agua. Agitar suavemente la ampolla de decantación durante algunos minutos. [NOTA: una agitación violenta puede provocar la formación de una emulsión difícil de separar.] Dejar que la mezcla se separe y descartar la fase acuosa inferior. Lavar el extracto etéreo con dos porciones de 40 ml de agua adicionales y descartar la fase acuosa inferior. Lavar el extracto etéreo sucesivamente con una porción de 40 ml de una solución de hidróxido de potasio (3 en 100) y una porción de 40 ml de agua. Repetir tres veces la secuencia de lavado con solución de hidróxido de potasio y agua. Lavar el extracto etéreo con porciones de 40 ml de agua hasta que el último

lavado no se colorea por el agregado de 2 gotas de fenolftaleína (SR). Transferir el extracto etéreo a un erlenmeyer previamente pesado y lavar la ampolla de decantación con 10 ml de éter, agregando los lavados al erlenmeyer. Evaporar el éter en un baño de vapor y agregar al residuo 6 ml de acetona. Eliminar la acetona bajo una corriente de aire y secar el residuo a 105 °C hasta peso constante. Calcular el porcentaje de materia insaponificable en la porción de aceite o grasa tomada, por la fórmula siguiente:

$$100(P_R / P_M)$$

en la cual P_R es el peso, en g, del residuo y P_M es el peso, en g, del aceite o grasa tomado para el ensayo.

Disolver el residuo en 20 ml de alcohol, previamente neutralizado hasta punto final frente a fenolftaleína. Agregar fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio alcohólico 0,1 N (SV) hasta la aparición de un débil color rosado que persista por no menos de 30 segundos. Si el volumen de hidróxido de sodio alcohólico 0,1 N es mayor de 0,2 ml, la separación de las fases ha sido incompleta y, por lo tanto, el residuo pesado no puede considerarse como materia insaponificable. En tales casos se debe repetir el ensayo.

Composición de ácidos grasos

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama, un sistema de inyección sin división (splitless) y una columna capilar de sílice fundida de 30 m × 0,53 mm rellena con una fase estacionaria constituida por polietilenglicol (PM aproximadamente 15.000), de 1,0 μm de espesor. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 220 y 260 °C, respectivamente. Mantener la columna a 70 °C durante aproximadamente 2 minutos después de la inyección; aumentar, a razón de 5 °C por minuto,

hasta 240 °C y mantener a esta temperatura durante 5 minutos. Se emplea helio como gas transportador con una velocidad lineal de aproximadamente 50 cm por segundo.

Solución estándar - Preparar una mezcla de ésteres de composición conocida que contenga los ésteres que se especifiquen en la monografía correspondiente. Esta solución puede contener otros componentes. [NOTA: en el comercio existen mezclas de ésteres que pueden emplearse para este propósito.]

Solución muestra - Transferir aproximadamente 100 mg de muestra, exactamente pesados, a un erlenmeyer de 50 ml. [NOTA: si la muestra contiene ácidos grasos con más de dos dobles enlaces, purgar el erlenmeyer con nitrógeno.] Adosar un refrigerante y una barra de agitación magnética, agregar 4 ml de solución de hidróxido de sodio 0,5 N en metanol y calentar a reflujo entre 5 y 10 minutos, hasta que desaparezcan los glóbulos de aceite. Agregar 5 ml de una solución preparada disolviendo 14 g de trifluoruro de boro en 100 ml de metanol. Agitar por rotación para mezclar y calentar a reflujo durante 2 minutos. Agregar 4 ml de *n*-heptano a través del refrigerante y calentar a reflujo durante 1 minuto. Enfriar, retirar el refrigerante, agregar aproximadamente 15 ml de solución saturada de cloruro de sodio, agitar y dejar que las fases se separen. Filtrar la fase de *n*-heptano a través de 0,1 g de sulfato de sodio anhidro (previamente lavado con *n*-heptano). Transferir 1,0 ml del filtrado a un matraz aforado de 10 ml, diluir a volumen con *n*-heptano y mezclar.

Solución de aptitud del sistema - Transferir aproximadamente 20 mg de ácido esteárico, 20 mg de ácido palmítico y 20 mg de ácido oleico, exactamente pesados, a un erlenmeyer de 25 ml adaptado a un refrigerante y con una barra de agitación magnética. Proceder según se indica para la *Solución muestra*, comenzando donde dice "Agregar 5 ml de una solución preparada disolviendo...".

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de aptitud del sistema*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución, *R*, entre los picos de estearato de metilo y oleato de metilo no es menor de 1,5; los tiempos de retención relativos son aproximadamente 0,87 para palmitato de metilo, 0,99 para estearato de metilo y 1,0 para el oleato de metilo; la desviación estándar relativa de las respuestas de los picos de palmitato de metilo y estearato de metilo para inyecciones repetidas no es mayor de 6,0 % y la desviación estándar relativa del cociente entre las

respuestas de los picos del palmitato y el estearato para inyecciones repetidas no es mayor de 1,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 1 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos de los ésteres de los ácidos grasos. Comparar los tiempos de retención de los picos de los ésteres de los ácidos grasos en el cromatograma de la *Solución muestra* con los obtenidos en el cromatograma de la *Solución estándar*. Calcular el porcentaje de cada ácido graso presente en la muestra, por la fórmula siguiente:

$$100(A/B)$$

en la cual *A* es la respuesta del pico obtenido para cada éster de ácido graso individual y *B* es la suma de las respuestas de todos los picos, excluyendo el pico del solvente, en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*.

Agua y sedimento en aceites fijos

Aparato - Emplear una centrífuga con un diámetro de giro (*d* = distancia entre los extremos de los tubos cuando están girando) de 38 a 43 cm y emplearla a una velocidad de aproximadamente 1500 rpm. Si se emplea una centrífuga de diferentes dimensiones, calcular la velocidad requerida, por la fórmula siguiente:

$$V (rpm) = 1.500 \sqrt{40,6/d}$$

Emplear tubos de centrífuga cónicos graduados y con tapones. La capacidad total de cada tubo debe ser de aproximadamente 125 ml. Las graduaciones deben ser claras y diferenciadas, empezando desde el fondo del tubo hacia arriba según la escala que se indica en la *Tabla 3*.

Procedimiento - Transferir 50,0 ml de benceno a dos tubos de centrífuga y, a cada tubo, agregar una porción de 50,0 ml del aceite previamente calentado a 25 °C y agitado, si fuera necesario, para incorporar nuevamente la estearina separada. Tapar perfectamente los tubos, agitarlos vigorosamente hasta que el contenido se mezcle completamente y luego sumergirlos en un baño de agua a 50 °C durante 10 minutos. Centrifugar durante 10 minutos. Leer el volumen combinado de agua y sedimento en el fondo de cada tubo. Centrifugar nuevamente durante períodos de 10 minutos hasta que el volumen combinado de agua y sedimento permanezca constante en tres lecturas sucesivas. La suma de los volúmenes de agua y sedimento combinado en los dos tubos representa el

porcentaje, en volumen, de agua y sedimento en el aceite.

Tabla 3.

Volumen (ml)	División de la escala (ml)
0 a 3	0,1
3 a 5	0,5
5 a 10	1
10 a 25	5
25 a 50	25
50 a 100	50

630. MÉTODOS DE FARMACOGNOSIA

Definición de Droga Vegetal - Se denomina así a las plantas o sus partes enteras, molidas o pulverizadas (flores, frutos, semillas, tubérculos, cortezas, etc.) frescas o secas, así como los jugos, gomas, látex, aceites esenciales o fijos y otros componentes similares, que se emplean puras o mezcladas en la elaboración de medicamentos.

Debido a las características de las drogas vegetales, en particular su falta de homogeneidad, se requieren procedimientos especiales en relación a los ensayos a realizar.

MUESTREO

Los siguientes procedimientos de muestreo constituyen las consideraciones mínimas aplicables a las drogas vegetales. Algunos productos o ensayos pueden requerir procedimientos más estrictos que incluyan el muestreo de mayor número de envases y/o más muestras por envase.

Si el examen externo de los envases y rótulos indica que puede considerarse el lote como homogéneo, tomar muestras individuales de un número de envases seleccionados aleatoriamente según se indica a continuación. Si el lote no puede considerarse homogéneo, fraccionarlo en sublotes que sean lo más homogéneos posible y realizar el muestreo con cada uno como un lote homogéneo.

N° de envases por lote (<i>N</i>)	N° de envases a Muestrear (<i>n</i>)
1 a 5	todos
6 a 50	5
> a 50*	10 % de los envases

* Redondear *N* al múltiplo de diez próximo superior.

Las muestras se deben tomar de las secciones superior, media e inferior de cada envase y en diferentes sitios. En el caso de los polvos o material compuesto por fragmentos de 1 cm o menos en cualquier dimensión, retirar la muestra a través de un dispositivo de muestreo que permita tomar el material desde la parte superior hasta el fondo del envase. Si el material está compuesto por fragmentos mayores de 1 cm en cualquier dimensión, retirar las muestras en forma manual. En el caso de fardos o bolsas grandes, las muestras deben tomarse a más de 10 cm de los bordes porque el contenido de humedad de la capa superficial puede ser diferente que el de las capas internas.

Combinar y mezclar las muestras tomadas de cada envase abierto, evitando aumentar el grado de fragmentación o modificar significativamente el contenido de humedad. Disponer la muestra así

preparada en forma de cuadrado y fraccionarla diagonalmente en cuatro partes iguales. Tomar luego dos partes opuestas y mezclarlas cuidadosamente. Repetir el procedimiento, si fuera necesario, hasta obtener la cantidad requerida para realizar todos los ensayos necesarios (cuarteo).

Sólo si se indica, moler la muestra para que pase a través de un tamiz N° 20 y mezclar el polvo resultante. Si el material no puede ser molido, reducirlo al estado más fino posible.

ANÁLISIS MICROSCÓPICO

Cortes y coloración

Hidratación o ablandamiento - Colocar en un vaso de precipitados una cantidad apropiada de material con 20 a 30 veces su volumen de agua. Colocar sobre una plancha calefactora o una tela metálica, calentar suavemente hasta ebullición y mantenerla durante 5 minutos. Si el material no puede ser cortado después de hidratarlo, se procede a ablandarlo hirviéndolo durante 5 minutos en agua con detergente y ensayando su consistencia. Si se considera que aún no está lo suficientemente blando como para ser cortado, colocar una cantidad apropiada del material en un vaso de precipitados que contenga un volumen apropiado de etilenglicol. Ensayar periódicamente la consistencia del material. Para futuros análisis, determinar el tiempo que tarda cada material en adquirir una consistencia tal que permita su corte.

Cortes - Obtener secciones transversales delgadas del material vegetal. Esto se logra cortando a mano alzada o mediante el empleo de micrótopo. [NOTA: en el caso de la obtención de transcortes de hoja, resulta necesario el empleo de un soporte para poder cortar. Generalmente se coloca la hoja entre dos semicilindros de médula de sauco o de hinojo y se procede a cortar todo junto.]

Los instrumentos cortantes pueden ser hoja de afeitar, bisturí o cuchilla para histología.

Los cortes se colocan en un recipiente con agua (vidrios de reloj, vasos de precipitados de 30 ml). Se seleccionan los más delgados para observación al microscopio a 10x.

Coloración - Sumergir los cortes en solución de hipoclorito de sodio al 50 % para eliminar el contenido celular. Dejar actuar hasta que los cortes se vuelvan transparentes (no más de 10 a 15 minutos). Lavar los cortes con agua hasta eliminación del hipoclorito de sodio, pH neutro. Colocar los cortes en solución de azul de toluidina al 0,05 %, durante 10 segundos. Lavar con agua luego con solución de ácido acético al 0,5 % y por

último nuevamente con agua. Colocar entre porta y cubreobjetos con 2 a 3 gotas de una mezcla de glicerina-agua (1:1) y observar al microscopio a 10x y 40x. Las paredes celulósicas se tiñen de rosa púrpura. Las paredes lignificadas y las paredes con tanino se tiñen de color azul verdoso brillante. [NOTA: la coloración así obtenida no es estable.]

Observación de la droga en polvo

Observación directa - Colocar 2 a 10 mg de la droga en polvo sobre un portaobjetos. Agregar 2 ó 3 gotas de solución de ácido láctico al 5 % (diafanizante) y colocar el cubreobjetos. Observar al microscopio a 10x y 40x.

Reacciones histoquímicas -

Detección de almidón - Colocar 2 a 10 mg de la droga en polvo sobre un portaobjetos. Verter 2 ó 3 gotas de Solución de Lugol (SR) diluida (1:5) en agua. Colocar el cubreobjetos y observar al microscopio a 10x y 40x. Los granos de almidón se colorean de azulvioláceo intenso.

Detección de lípidos y aceites esenciales - Colocar 2 a 10 mg de la droga en polvo sobre un portaobjetos. Verter 2 ó 3 gotas de solución de Sudan III (SR) y dejar actuar durante 2 ó 3 minutos. Escurrir el líquido y lavar bien con alcohol 70 %. Colocar el cubreobjetos y observar al microscopio a 10x y 40x. Los lípidos aparecen como gotas de color rojo.

Detección de concreciones de carbonato de calcio (cistolitos) y de cristales de oxalato de calcio - Colocar 2 a 10 mg de la droga en polvo sobre un portaobjetos. Verter 2 ó 3 gotas de ácido clorhídrico 2 M, con la precaución de que el reactivo esté en íntimo contacto con todos los componente del polvo. Colocar el cubreobjetos y observar inmediatamente al microscopio a 10x. La presencia de carbonato de calcio está indicada por la aparición de burbujas. Los cristales de oxalato de calcio, que en general tardan más tiempo en disolverse, no desprenden burbujas.

Detección de taninos - Colocar 2 a 3 mg de la droga en polvo sobre un portaobjetos. Verter 2 ó 3 gotas de solución de cloruro férrico al 5 %. Colocar el cubreobjetos y observar al microscopio a 10x y 40x. La presencia de taninos se traduce en la aparición de masas oscuras de color pardo, azul o negro.

Obtención de disociados

Disociación, leve o débil - Este método se emplea principalmente para el análisis de hojas, tallos herbáceos y cortezas. Los cristales se conservan. Los almidones pierden su estructura característica.

Colocar en un vaso de precipitados de 30 ml una porción del material vegetal. Agregar 10 ml de solución de hidróxido de sodio al 5 % y llevar a ebullición durante 5 minutos. Enfriar. Trasvasar a un tubo de centrifuga. Centrifugar durante 2 minutos a 3000 rpm. Descartar la solución sobrenadante. Lavar con agua. Colocar una porción del centrifugado sobre un portaobjetos con 2 ó 3 gotas de una mezcla de glicerina-agua (1:1). Colocar el cubreobjetos y terminar la disgregación ejerciendo presión. Observar al microscopio a 10x y 40x.

Disociación fuerte - Este método se emplea principalmente para el análisis de leños, tegumentos de semillas y endocarpios esclerosados-carozos. No se conservan los cristales ni los almidones.

Colocar en un vaso de precipitados de 30 ml una porción del material vegetal. Agregar 10 ml de solución de hidróxido de potasio al 10 % y llevar a ebullición durante 10 minutos. Enfriar. Eliminar cuidadosamente la solución sobrenadante. Lavar con agua. Colocar el material vegetal en un tubo de centrifuga. Agregar 10 ml de solución de ácido crómico al 25 % y dejar actuar durante un tiempo no inferior a 30 minutos a temperatura ambiente. Ensayar la consistencia del material vegetal con una varilla de vidrio. Cuando esté lo suficientemente blando, centrifugar durante 2 minutos a 3000 rpm. Descartar el sobrenadante y lavar con agua hasta eliminar totalmente el color amarillo del ácido crómico. Colocar una porción del centrifugado sobre un portaobjetos con 2 ó 3 gotas de una mezcla de glicerina-agua (1:1). Colocar el cubreobjetos y terminar la disgregación ejerciendo presión. Observar al microscopio a 10x y 40x.

Determinación del índice de estomas

(Se emplea para hojas). Es el número de estomas por cada 100 células epidérmicas en un área fija.

Delimitar sobre una hoja de papel, con ayuda de una cámara clara, de un tubo de dibujo o de un ocular de dibujo, un área de 2 mm de lado empleando un micrómetro objetivo, observando con objetivo de 5x y ocular de 8x.

Colocar un trozo de hoja de 0,5 cm x 0,5 cm en un vaso de precipitados de 30 ml. Agregar 10 ml de una mezcla de hidrato de cloral y agua (5:2). Llevar a ebullición durante 10 a 15 minutos o hasta que el trozo se vuelva transparente. Esta operación se realiza bajo campana.

Colocar el trozo de hoja sobre un portaobjetos con la epidermis inferior hacia arriba. Agregar 2 ó 3 gotas de la mezcla de hidrato de cloral y agua y colocar el cubreobjetos. Contar las células epidérmicas y los estomas que aparecen en el área

delimitada empleando un objetivo de 40x. Las dos células estomáticas se cuentan como una sola.

El índice de estomas se calcula por la fórmula siguiente:

$$\frac{S}{S + E} 100$$

en la cual *S* es el número de estomas y *E* el número de células epidérmicas en el área delimitada.

MÉTODOS DE ANÁLISIS

Materia extraña

Se considera materia extraña a cualquier parte de la planta medicinal que no esté comprendida en la definición o en la descripción de la monografía correspondiente; cualquier organismo, parte o producto de un organismo no comprendido en la definición o en la descripción; o residuos minerales, como por ej., tierra, piedras, arena o polvo.

Durante el almacenamiento, los productos deben mantenerse en un área limpia, de modo de evitar su contaminación. Deben tomarse precauciones especiales para evitar la proliferación de hongos dado que algunos de ellos pueden generar aflatoxinas.

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, obtener por cuarteo las siguientes cantidades de muestra:

<i>Raíces, rizomas, cortezas</i>	
<i>y plantas enteras.....</i>	500 g
<i>Hojas, flores, semillas y frutos.....</i>	250 g
<i>Drogas vegetales en fragmentos</i>	
<i>de 0,5 g o menores.....</i>	50 g

Extender la muestra en una capa delgada y separar la materia extraña a mano, en la forma más completa posible. Pesarla y determinar el porcentaje de materia extraña a partir de la cantidad de droga empleada.

Cenizas totales

Pesar exactamente una cantidad de muestra, obtenida según se indica en *Muestreo*, que represente de 2 a 4 g del material; molerla para que pase a través de un tamiz N° 20 y secarla al aire en un crisol previamente pesado. Someter a calcinación, suavemente al principio, y aumentar gradualmente la temperatura hasta 675 ± 25 °C. Continuar la calcinación hasta eliminar el residuo carbonoso y determinar el peso de las cenizas. Si de esta forma no se obtienen cenizas libres de residuo carbonoso, extraer la masa carbonizada con agua caliente. Recolectar el residuo insoluble en un papel de filtro libre de cenizas, calcinar el residuo y el papel de filtro hasta que las cenizas sean blancas

o casi blancas. Luego, agregar el filtrado, evaporarlo hasta sequedad y calentar a 675 ± 25 °C. Si de esta forma no se obtienen cenizas libres de residuo carbonoso, enfriar el crisol, agregar 15 ml de alcohol, disgregar las cenizas con una varilla de vidrio, quemar el alcohol y calentar nuevamente a 675 ± 25 °C. Enfriar en un desecador, pesar las cenizas y calcular el porcentaje de cenizas totales a partir de la cantidad de droga empleada.

Cenizas insolubles en ácido

Calentar a ebullición las cenizas obtenidas según se indica en *Cenizas totales*, con 25 ml de ácido clorhídrico 3 M durante 5 minutos. Recolectar el material insoluble en un crisol filtrante previamente pesado o en un filtro libre de cenizas lavado con agua caliente, llevar a temperatura de calcinación y pesar. Determinar el porcentaje de cenizas insolubles en ácido a partir del peso de droga empleada.

Extracto alcohólico

Método I (método de extracción caliente) - Transferir a un erlenmeyer con tapón de vidrio aproximadamente 4 g, exactamente pesados, del material en polvo grueso y secado al aire. Agregar 100 ml de alcohol y pesar el erlenmeyer. Agitar y dejar en reposo durante 1 hora. Conectar un refrigerante al erlenmeyer y calentar suavemente a ebullición durante 1 hora, enfriar y pesar. Ajustar nuevamente al peso original mediante el agregado de alcohol. Agitar y filtrar rápidamente a través de un filtro seco. Transferir 25 ml del filtrado a un cristizador y evaporar hasta sequedad en baño de agua. Secar a 105 °C durante 6 horas, enfriar en un desecador durante 30 minutos y pesar inmediatamente. Calcular el contenido, en mg por g, de materia extraíble en alcohol en la muestra empleada.

Método II (método de extracción fría) - Transferir a un erlenmeyer con tapón de vidrio aproximadamente 4 g, exactamente pesados, de material en polvo grueso y secado al aire. Agregar 100 ml de alcohol, tapar el erlenmeyer y macerar durante 24 horas, agitando frecuentemente durante las primeras 8 horas y luego dejar reposar. Filtrar rápidamente, tomando precauciones para evitar la pérdida de alcohol. Evaporar 25 ml del filtrado hasta sequedad en un cristizador previamente pesado y secar a 105 °C hasta peso constante. Calcular el contenido, en mg por g, de la materia extraíble en alcohol en la muestra empleada.

Extracto acuoso

Método I (método de extracción caliente) - Proceder según se indica para el *Método I* en

Extracto alcohólico, excepto que se debe emplear agua en lugar de alcohol.

Método II (método de extracción fría) - Proceder según se indica para el *Método II* en *Extracto alcohólico*, excepto que se debe emplear agua en lugar de alcohol.

Fibra cruda

Extraer con éter hasta agotar una cantidad exactamente pesada de la muestra que represente aproximadamente 2 g de la droga. Transferir la droga agotada a un balón de 500 ml y agregar 200 ml de ácido sulfúrico diluido (1:78) en agua a punto de ebullición. Conectar el balón a un refrigerante y calentar a reflujo la mezcla durante exactamente 30 minutos. Filtrar a través de un filtro de papel grueso o muselina y lavar el residuo retenido en el filtro con agua hirviendo hasta que los lavados no sean ácidos. Lavar el residuo en el balón con 200 ml de solución de hidróxido de sodio, libre de carbonato de sodio, aproximadamente a 100 °C, ajustada al 1,25 % mediante titulación. Calentar nuevamente a reflujo la mezcla durante exactamente 30 minutos, filtrar rápidamente a través de un filtro previamente pesado, lavar el residuo con agua hirviendo hasta que el último lavado sea neutro y secar a 110 °C hasta peso constante. Someter el residuo seco a calcinación hasta peso constante, enfriar en un desecador y pesar las cenizas obtenidas: la diferencia entre el peso obtenido por secado a 110 °C y el de las cenizas representa el peso de la fibra cruda. [NOTA: la ebullición con ácido y álcali debería continuar durante exactamente 30 minutos, desde el tiempo que el líquido (que se enfría debajo del punto de ebullición al agregarlo al balón frío)

hierva nuevamente. Luego de que la solución haya entrado en ebullición, se debe disminuir el calor lo suficiente como para que ésta se mantenga.

Durante la ebullición, rotar el balón suavemente, varias veces, para remover cualquier partícula que pueda quedar adherida a las paredes. Una corriente lenta de aire introducida en el balón durante la operación ayuda a impedir la excesiva formación de espuma].

Determinación de aceites esenciales

La determinación de aceites esenciales en vegetales se lleva a cabo mediante extracción por arrastre con vapor de agua en un aparato apropiado en las condiciones que se detallan a continuación. El aceite esencial es recolectado en un tubo graduado empleando xileno para fijarlo, mientras que el agua retorna al balón de extracción.

Aparato (ver *Figura 1*) - Consta de un balón con cuello corto esmerilado cuyo diámetro máximo interno es de 29 mm y de un condensador con junta esmerilada. Las diferentes partes de este condensador están construidas en una sola pieza de vidrio de bajo coeficiente de expansión. El tapón *K'* tiene una abertura y el tubo *K* posee un orificio de 1 mm de diámetro, el cual coincide con la ubicación de la abertura del tapón. El extremo final del tubo *K* es esmerilado y tiene un diámetro interno de 10 mm; un tubo en forma de pera *J* de 3 ml de capacidad; un tubo *JL* graduado en 0,01 ml; un tubo en forma de bulbo de aproximadamente 2 ml de capacidad y una válvula de tres vías *M*. La unión *B* se encuentra a 20 mm de la graduación máxima superior. El aparato posee un dispositivo apropiado para ser calentado.

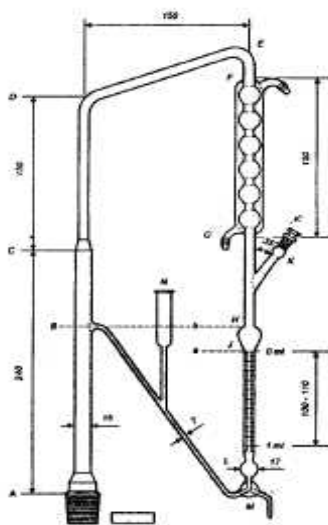


Figura 1. Aparato para la determinación de aceites esenciales en drogas vegetales (las dimensiones son mm).

Procedimiento - Llevar a cabo el ensayo de acuerdo con la naturaleza de la droga a ser examinada. Transferir al balón el volumen de líquido indicado en la monografía correspondiente, agregar algunos trozos de plato poroso y colocar el condensador. Introducir agua a través del tubo de llenado *N* hasta el nivel *B*. Quitar el tapón *K'* y transferir la cantidad indicada de xileno empleando una pipeta con su extremo en la parte inferior del tubo *K*. Colocar el tapón *K'* asegurándose que los orificios de *K* y *K'* coincidan entre sí. Calentar el líquido en el balón hasta ebullición y ajustar la velocidad de extracción a aproximadamente 2 ml

por minuto, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente.

Para determinar la velocidad de extracción, disminuir el nivel de agua por medio de la válvula de tres vías hasta que el menisco se encuentre en la marca inferior *a* (ver *Figura 2*). Cerrar la válvula y medir el tiempo que toma el líquido en alcanzar la marca superior *b*. Abrir la válvula y continuar con la extracción, modificando el calentamiento para regular la velocidad de extracción. Extraer durante 30 minutos. Detener el calentamiento y leer el volumen de xileno en el tubo graduado después de por lo menos 10 minutos.

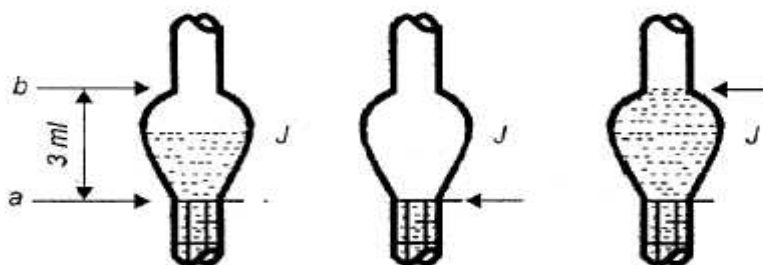


Figura 2.

Transferir el balón la cantidad de muestra especificada en la monografía correspondiente y continuar la extracción como se ha descrito anteriormente en tiempo y velocidad según se indique. Detener el calentamiento y después de 10 minutos leer el volumen de líquido recolectado en el tubo graduado y restarle el volumen de xileno anteriormente medido. Calcular el resultado en ml por cada 100 g de droga.

Cuando un aceite esencial se emplee para propósitos analíticos, la obtención de la mezcla de xileno y aceite esencial libre de agua se realiza como se detalla a continuación: quitar el tapón *K'* y transferir 1,1 ml de una solución de fluoresceinato de sodio al 0,1 % y 0,5 ml de agua. Disminuir el volumen de la mezcla de xileno y aceite esencial dentro del tubo *L* por medio de la válvula de tres vías; dejar en reposo durante 5 minutos y descargar la mezcla lentamente hasta alcanzar justo el nivel de la válvula *M*. Abrir la válvula en el sentido contrario a las agujas del reloj de manera tal que el agua fluya fuera del tubo de conexión *BM*. Lavar el tubo, primero con acetona y luego con tolueno, introducidos por el tubo de llenado *N*. Girar la llave en el sentido contrario a las agujas del reloj de manera tal que se pueda recuperar la mezcla de xileno y aceite esencial en un recipiente apropiado.

Pérdida por secado

Reducir 10 g de muestra a fragmentos de aproximadamente 3 mm de espesor. Las semillas o frutos más pequeños de 3 mm se deben fragmentar. Evitar el empleo de molinos de gran velocidad para preparar la muestra y tomar las precauciones necesarias para no modificar el contenido de humedad de la muestra. Pesar exactamente 10 g de droga en un cristizador previamente pesado. Secar a 105 °C durante 5 horas y pesar. Repetir el procedimiento de secado y pesado a intervalos de 1 hora hasta que la diferencia entre dos pesadas sucesivas corresponda a no más de 0,25 % de muestra.

RESIDUOS DE PESTICIDAS

La lista de pesticidas consignada para este ensayo es de carácter orientativo. Para mayor información consultar las resoluciones que a tal efecto emita la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos de la Nación.

Definición - Para los propósitos de esta Farmacopea, un pesticida es aquella sustancia o mezcla de sustancias empleadas para prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, especies de plantas o animales indeseables que puedan causar daño o interferir en la producción, procesamiento,

almacenamiento, transporte o comercialización de las drogas vegetales. El término incluye a sustancias empleadas como reguladores del crecimiento, desfoliantes o desecantes y cualquier otra sustancia aplicada para brindar una protección antes o después de la cosecha, o para prevenir el deterioro de la droga vegetal durante el almacenamiento o transporte.

Límites - A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente la muestra debe cumplir con los límites expresados en la *Tabla 1*. Los pesticidas que no figuren en la misma deben cumplir con las especificaciones dadas por las resoluciones que a tal efecto emita la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos de la Nación. Los límites para los pesticidas que no figuran en la *Tabla 1* se calculan por la fórmula siguiente:

$$\frac{IDA \times M}{DDD \times 100}$$

en la cual *IDA* es la ingesta diaria admisible, recomendada por la FAO, expresada en mg por kg de peso corporal, *M* es el peso corporal en kilogramo (considerar 60 kg) y *DDD* es la dosis diaria de la droga en kg.

Si la droga vegetal es empleada en la preparación de extractos, tinturas u otras formas farmacéuticas cuyo método de preparación modifique el contenido del pesticida en el producto final, el límite se calcula por la fórmula siguiente:

$$\frac{IDA \times M \times E}{DDD \times 100}$$

en la cual *E* es el factor de extracción del método de preparación, determinado experimentalmente.

Tabla 1.

Pesticida	Límite
Alaclor	0,02
Aldrin y dieldrin, suma de	0,05
Azinfos, metil	1
Bromopropilato	3
Cipermetrina (e isómeros)	1
Clordano (suma de cis-, trans- y oxiclordano)	0,05
Clorfenvinfos	0,5
Clorpirifos	0,2
Clorpirifos, metil	0,1
DDT (suma de p,p'-DDT, o, p'-DDE y p,p'-TDE)	1
Deltametrina	0,5
Diazinon	0,5
Diclorvos	1
Ditiocarbamatos (expresado como CS ₂)	2
Endosulfan (suma de isómeros y sulfato de endosulfano)	3
Endrin	0,05
Etion	2
Fenitrothion	0,5
Fenvalerato	1,5
Fonofos	0,05
Fosalono	0,1
Heptacloro (suma de heptacloro y heptacloro epóxido)	0,05
Hexaclorobenceno	0,1
Hexaclorociclohexano, isómeros (distintos de γ)	0,3
Lindano (γ-hexaclorociclohexano)	0,6
Malation	1
Metidation	0,2
Paration	0,5
Paration, metil	0,2
Permetrina	1
Piperonil, butóxido	3
Piretrinas, suma de	3
Pirimifos, metil	4

Quintozeno, suma de quintozeno, pentacloroanilina y metil 1
pentaclorofenil sulfuro)

Análisis cualitativo y cuantitativo de residuos de pesticidas

Los procedimientos analíticos empleados deben satisfacer los siguientes criterios: el método de extracción elegido debe ser apropiado para la combinación de pesticidas que se pretende

investigar y no provocar interferencias. Los límites de detección y cuantificación deben determinarse para cada combinación de pesticidas a ser analizada. La recuperación debe estar entre el 70 y 110 %. La repetitividad y reproducibilidad del método no debe ser menor que la indicada en la *Tabla 2*.

Tabla 2.

Concentración de pesticida (mg/kg)	Repetitividad (\pm mg/kg)	Reproducibilidad (\pm mg/kg)
0,01	0,005	0,01
0,1	0,025	0,05
1	0,125	0,25

Pesticidas organoclorados, organofosforados y piretroides

Los ensayos que se describen a continuación se emplean para el análisis de pesticidas, a menos que se especifique lo contrario en la monografía correspondiente. Dependiendo de la sustancia a analizar, puede ser necesario, en algunos casos, introducir modificaciones en los procedimientos descritos. En cualquier caso, puede ser necesario emplear otra columna con diferente polaridad u otro método de detección (espectrometría de masa, etc.) o un método diferente para confirmar los resultados obtenidos (métodos inmunoquímicos, etc.).

Este ensayo es válido solamente para el análisis de drogas vegetales con un contenido de agua menor de 15 %. Las muestras con mayor humedad pueden secarse, teniendo en cuenta que el procedimiento empleado no afecte significativamente el contenido de pesticida.

Extracción - A 10 g de muestra, en forma de polvo grueso, agregar 100 ml de acetona y dejar reposar durante 20 minutos. Agregar 1 ml de solución que contenga 1,8 μ g por 1 ml de carbofenotion en tolueno. Homogeneizar empleando un agitador de alta velocidad durante 3 minutos. Filtrar y lavar el residuo con dos porciones de acetona de 25 ml. Combinar el filtrado y los lavados en un balón y evaporar hasta casi sequedad en un evaporador rotatorio a una temperatura no mayor a 40 °C. Al residuo así obtenido, agregarle unos ml de tolueno y continuar con el calentamiento a la temperatura especificada anteriormente hasta evaporación total de la acetona. Disolver el residuo en 8 ml de tolueno. Filtrar a través de una membrana

filtrante de 45 μ m, lavar el balón y el filtrado de tolueno. Diluir a 10 ml con el mismo solvente. Denominar esta solución como *Solución A*.

Purificación -

Pesticidas organoclorados, o ganofosforados y piretroides - Emplear una columna de 30 cm x 7,8 mm para cromatografía (ver *100. Cromatografía*) con fase estacionaria constituida por copolímero rígido, esférico de divinilbenceno y estireno, de 5 μ m de diámetro. Emplear tolueno como fase móvil. El caudal es de aproximadamente 1 ml por minuto.

Para verificar la aptitud de la columna, inyectar 100 μ l de una solución en tolueno que contenga 0,5 mg por ml de rojo de metilo y 0,5 mg por ml de azul de oracet 2R y proceder con la cromatografía. La columna es apta si los colores del eluato cambian de anaranjado a azul en un volumen de eluato de aproximadamente 10,3 ml. Calibrar la columna, si fuera necesario, empleando una solución en tolueno que contenga una concentración apropiada del pesticida a ser analizado de menor peso molecular (por ej., diclorvos) y aquél de mayor peso molecular (por ej., deltametrina). Determinar en qué fracción del eluato se encuentran ambos pesticidas.

Purificación de la solución - Inyectar un volumen apropiado de *Solución A* (100 a 500 μ l) y proceder con la cromatografía. Recolectar las fracciones según se indicó anteriormente e identificarlas como *Solución B*. Los pesticidas organofosforados generalmente eluyen entre 8,8 y 10,9 ml, y los organoclorados y piretroides lo hacen entre 8,5 y 10,3 ml.

Pesticidas organoclorados y piretroides - Emplear una columna cromatográfica de 10 cm x 5 mm. Introducir un trozo de lana de vidrio y 0,5 g de gel de sílice para cromatografía tratada según se indica a continuación: calentar el gel de sílice para

cromatografía en una estufa a 150 °C durante 4 horas. Dejar enfriar y agregar gota a gota una cantidad de agua equivalente a 1,5 % de la masa de gel de sílice empleada, agitar vigorosamente hasta que desaparezcan los grumos y continuar agitando durante 2 horas empleando un agitador mecánico. Acondicionar la columna empleado 1,5 ml de hexano. [NOTA: pueden emplearse columnas empacadas con 0,5 g de gel de sílice apropiado si su empleo ha sido previamente validado].

Concentrar la *Solución B* hasta casi sequedad bajo una corriente de helio o nitrógeno libre de oxígeno y diluir a un volumen apropiado con tolueno (200 µl a 1 ml de acuerdo con el volumen inyectado en la preparación de la *Solución B*). Transferir cuantitativamente a la columna y eluir con 1,8 ml de tolueno. Recolectar el eluato e indentificarlo como *Solución C*.

Análisis cuantitativo

Pesticidas organofosforados -

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de nitrógeno-fósforo o un detector de ionización a la llama y una columna de sílice fundida de 30 m x 0,32 mm con una fase estacionaria constituida por una capa de dimetilpolisiloxano de 0,25 µm de espesor. Mantener la columna a 80 °C durante 1 minuto, luego aumentar la temperatura a razón de 30 °C por minuto hasta 150 °C, mantener a esa temperatura durante 3 minutos. Aumentar la

temperatura a razón de 4 °C por minuto hasta 280 °C y mantener a esta temperatura durante 1 minuto. Mantener el inyector y el detector a 250 y 275 °C, respectivamente. Se emplea hidrógeno como gas transportador.

[NOTA 1: pueden emplearse otros gases transportadores como nitrógeno o helio si su empleo ha sido previamente validado].

[NOTA 2: emplear carbofenotion como estándar interno; en ciertos casos puede ser necesario emplear un segundo estándar interno para identificar una posible interferencia con el pico correspondiente al carbofenotion].

Soluciones estándar - Preparar al menos tres soluciones en tolueno, que contengan los insecticidas a determinar y carbofenotion en concentraciones apropiadas para obtener una curva de calibración.

Solución muestra - Concentrar la *Solución B* bajo una corriente de helio o nitrógeno libre de oxígeno hasta casi sequedad y diluir a 100 µl con tolueno.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo los volúmenes elegidos para cada solución, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos. Los tiempos de retención relativos aproximados se indican en la *Tabla 3*. [NOTA: los valores tabulados son orientativos y se transcriben para dar una idea de la secuencia en que eluyen las sustancias].

Calcular el contenido de pesticida a partir de las respuestas de los picos y las concentraciones de las soluciones empleadas.

Tabla 3.

Sustancia	Tiempos de retención relativos
Diclorvos	0,20
Fonofos	0,50
Diazinon	0,52
Paration, metil	0,59
Cloropirifos, metil	0,60
Pirimifos, metil	0,66
Malation	0,67
Paration	0,69
Cloropirifos	0,70
Metidation	0,78
Etion	0,96
Carbofenotion	1,00
Azinfos, metil	1,17
Fosalon	1,18

Pesticidas organoclorados y piretroides -

Sistema cromatográfico - Emplear un cromatógrafo de gases equipado con un detector de captura electrónica y una columna de sílice fundida de 30 m x 0,32 mm con fase estacionaria constituida por una capa de dimetilfenilpolisiloxano de 0,25 µm de espesor. Mantener la columna a

80 °C durante 1 minuto, aumentar la temperatura a razón de 30 °C por minuto hasta 150 °C, mantener esa temperatura durante 3 minutos. Aumentar la temperatura a razón de 4 °C por minuto hasta 280 °C y mantener a esta temperatura durante de 1 minuto. Mantener el inyector y el detector a 250

y 275 °C, respectivamente. Se emplea hidrógeno como gas transportador.

[NOTA 1: pueden emplearse otros gases transportadores como nitrógeno o helio si su empleo ha sido previamente validado].

[NOTA 2: emplear carbofenotion como estándar interno, en ciertos casos puede ser necesario emplear un segundo estándar interno para identificar una posible interferencia con el pico correspondiente al carbofenotion).

Soluciones estándar - Preparar al menos tres soluciones en tolueno, que contengan los pesticidas a determinar y carbofenotion en concentraciones apropiadas para obtener una curva de calibración.

Solución muestra - Concentrar la *Solución C* bajo una corriente de helio o nitrógeno libre de oxígeno hasta casi sequedad y diluir a 500 µl con tolueno.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo los volúmenes elegidos para cada solución, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos. Los tiempos de retención relativos aproximados se indican en la *Tabla 4*. [NOTA: los valores tabulados son orientativos y se transcriben para dar una idea de la secuencia en que eluyen-las sustancias].

Calcular el contenido de pesticida a partir de las respuestas de los picos y las concentraciones de las soluciones empleadas.

Tabla 4.

Sustancia	Tiempos de retención relativos
α-Hexaclorociclohexano	0,44
Hexaclorobenceno	0,45
β-Hexaclorociclohexano	0,49
Lindano	0,49
δ-Hexaclorociclohexano	0,54
ε-Hexaclorociclohexano	0,56
Heptacoloro	0,61
Aldrin	0,68
cis-Heptacoloro epóxido	0,76
p,p'-DDE	0,81
α-Endosulfan	0,82
Dieldrin	0,87
p,p'-DDE	0,87
o,p'-DDD	0,89
Endrin	0,91
β-Endosulfan	0,92
o,p'-DDT	0,95
Carbofenotion	1,00
p,p'-DDT	1,02
cis-Permetrina	1,29
trans-Permetrina	1,31
Cipermetrina*	1,40
Fenvalerato*	1,47
	1,49
Deltametrina	1,54

La sustancia presenta varios picos

CONTROL HIGIÉNICO

Proceder según se indica en <90>. *Control higiénico de productos no obligatoriamente*

estériles y en <110>. Determinación de aflatoxinas. Los límites permitidos son los establecidos en la *Tabla 5*.

Tabla 5.

	Materias primas y productos terminados destinados a la preparación de infusiones	Productos terminados de uso tópico	Productos terminados de uso oral
Recuento de aerobios viables	No más de 10^7 ufc/g	No más de 10^4 uf/g	No más de 10^4 uf/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia en un gramo	Ausencia en un gramo	Ausencia en un gramo
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	Ausencia en un gramo	-
<i>Salmonella</i> spp.	Ausencia en un gramo	-	Ausencia en un gramo
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia en un gramo	-	Ausencia en un gramo
Anaerobios sulfito-reductores	Ausencia en un gramo	-	Ausencia en un gramo
Recuento de Enterobacteriaceae	No más de 10^4 ufc/g	No mas de 10^2 ufc/g	No mas de 10^2 ufc/g
Recuento de hongos y levaduras	No más de 10^4 ufc/g	No mas de 10^2 ufc/g	No mas de 10^2 ufc/g
Aflatoxinas	No más de 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ *	Ausencia en un gramo	Ausencia en un gramo

*siempre que B₁ no supere los 5 μg por kg.

AJO, polvo

Definición - Ajo se obtiene a partir de los bulbos de *Allium sativum* L. (Liliaceae) cortados, liofilizados y secados, a una temperatura que no debe exceder los 65 °C y reducidos a polvo. Debe contener no menos de 0,45 por ciento de *allicina*, calculado sobre la droga seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Alanina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados, almacenados en un sitio fresco y seco.

ENSAYOS

Identificación

A - *Características macroscópicas* - El polvo es blanco amarillento; de olor fuerte y característico; sabor pungente y persistente.

B - *Características microscópicas* - Presenta fragmentos de parénquima con algunas células que contienen cristales prismáticos de oxalato de calcio; fragmentos de vasos espiralados; fragmentos de epidermis con células alargadas de paredes gruesas y perforadas. Ocasionalmente aparecen estomas.

C - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Alcohol, ácido acético glacial, propanol y agua (40:20:20:20).

Solución estándar - Disolver 5 mg de Alanina SR-FA en 10 ml de agua y diluir hasta 20 ml con metanol.

Solución muestra - A 1 g de Ajo, polvo agregar 5,0 ml de metanol, agitar durante 1 minuto y filtrar.

Revelador - Disolver 0,2 g de Ninhidrina en 100 ml de una mezcla de butanol y ácido acético glacial (95:5).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa, en bandas, 20 µl de la *Solución muestra* y 10 µl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar en estufa durante 5 a 10 minutos entre 105 y 110 °C. Examinar la placa bajo luz visible. El cromatograma obtenido con la *Solución estándar* debe presentar una mancha de

color violeta correspondiente a alanina en el tercio central. El cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe presentar una mancha de color entre violeta y rojo parduzco en posición similar correspondiente a la *allicina*. Con valores de R_f mayores y menores de la misma se pueden apreciar otras manchas semejantes, generalmente más débiles.

Almidón

Examinar la droga al microscopio utilizando agua. Agregar Solución de yodo (SR): no se debe desarrollar color azul.

Cenizas insolubles en ácido (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No debe contener más de 1 %.

Cenizas totales (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No debe contener más de 5,0 %.

Límite de metales pesados <590>

Método I. No debe contener más de 0,001 %.

Pérdida por secado (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No debe perder más de 7,0 % de su peso, determinado sobre 1,0 g de droga pulverizada secada en estufa entre 100 y 105°C durante 2 horas.

Residuos de pesticidas (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm con una precolumna de 20 cm × 4 mm y una columna de 25 cm × 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 0,8 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol y solución de ácido fórmico anhidro al 1 % v/v (60:40).

Solución del estándar interno - Disolver aproximadamente 20 mg de butilparabeno en 100 ml de una mezcla de metanol y agua (1:1).

Preparación muestra - A 0,8 g de Ajo polvo agregarle 20 ml de agua y homogeneizar la mezcla en un baño con ultrasonido a 4 °C durante 5 minutos. Dejar reposar a temperatura ambiente durante 30 minutos. Centrifugar durante 30 minutos. Transferir 10,0 ml del sobrenadante y diluir con *Fase móvil* a 25 ml. Agitar y centrifugar durante 5 minutos. Transferir 0,5 ml de la *Solución del estándar interno* a un matraz aforado y completar a 10 ml con la solu-

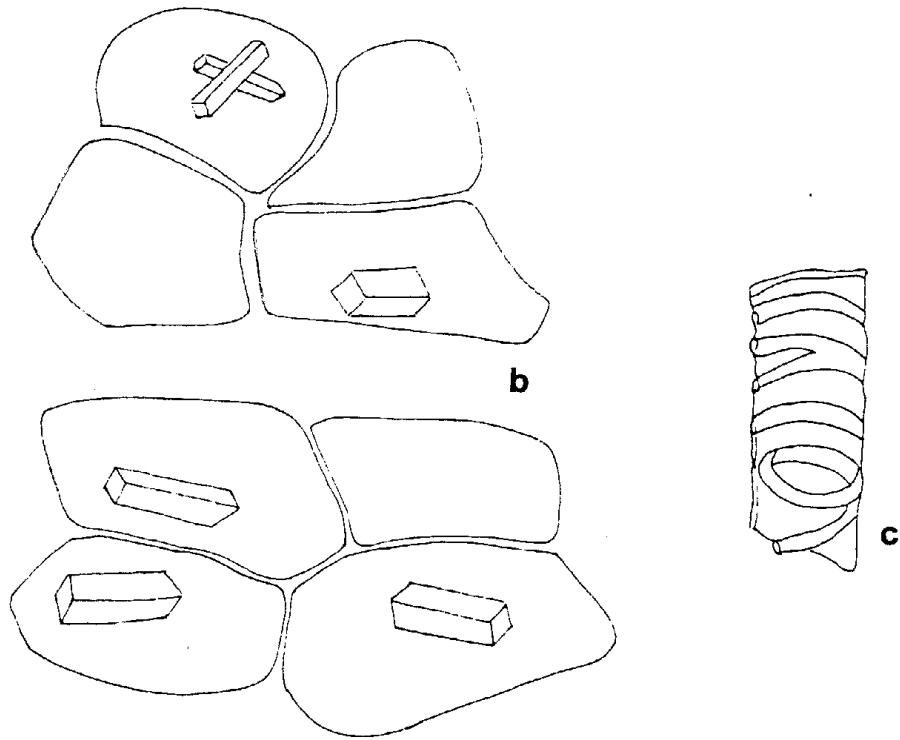
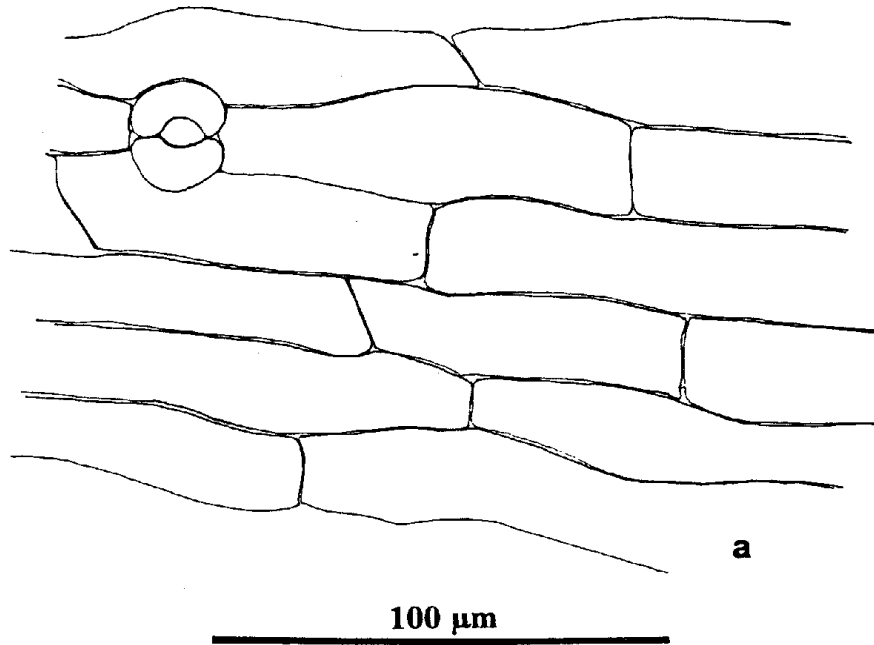
ción preparada anteriormente.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución del estándar interno* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*. La desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar 1 µl de la *Solución de estándar interno*, registrar el cromatograma hasta un tiempo equivalente al doble del correspondiente al pico principal que se registre. Proceder del mismo modo con 10 µl de la *Preparación muestra*. Ajustar los parámetros operativos de modo que el pico obtenido a partir del estándar interno en la *Preparación muestra* sea aproximadamente el 50 % de la escala completa del registrador. Calcular el contenido en porcentaje de *Allicina* en la porción de Ajo en ensayo por la fórmula siguiente:

$$\frac{22,75S_1m_2}{S_2m_1}$$

en la cual S_1 es la respuesta del pico correspondiente a la *allicina* (pico más grande), S_2 es la respuesta del pico correspondiente al *butilparabeno* obtenido en el cromatograma de la *Preparación muestra*, m_1 es la masa de la droga en gramos y m_2 es la masa de *butilparabeno* en gramos, en 100 ml de *Solución de estándar interno*. Cada miligramo de *butilparabeno* equivale a 8,65 mg de *Allicina*.



Allium sativum

Bulbo a: vista superficial de la epidermis, b: parénquima con cristales, c: vaso xilemático

ALCACHOFA, Hoja

Definición - Alcachofa está constituida por las hojas frescas o desecadas, enteras o divididas, de *Cynara scolymus* L. (Asteraceae). Debe contener no menos de 0,8 por ciento de ácido clorogénico, calculado sobre la materia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Ácido Clorogénico SR-FA.

CONSERVACION

En envases inactivos bien cerrados, en un sitio seco y fresco.

ENSAYOS

Identificación

A - Características macroscópicas - Hojas simples, las basales arrosietadas, de hasta 1 m de longitud y 30 cm de ancho. Pecíolo de 1 a 2 cm de longitud. Lámina pinatinervada, lobulada o pinatífida con segmentos agudos, marcadamente dentados en el margen; la cara superior de color verde grisáceo y cubierta de pelos blanquecinos; la inferior de color verde pálido, densamente tomentosa, con largos pelos enmarañados. Pecíolo y nervios principales planos en la cara superior, y prominentes, con estrías longitudinales, en la cara inferior. Olor característico y sabor amargo.

B - Características microscópicas: en vista superficial, ambas epidermis presentan células poligonales con paredes rectas y estomas de tipo anomicítico; pelos de dos tipos: simples, flageliformes, pluricelulares, uniseriados, con una porción basal compuesta de 2 a 6 o más células de diferentes tamaños y una larga célula terminal; y glandulares, constituidos por un pie 4 a 5 celular y cabezuela secretora bicelular; los pelos simples son más numerosos y predominan en la epidermis inferior formando un denso indumento. La sección transversal del limbo presenta la epidermis superior con células rectangulares aplanadas tangencialmente y la epidermis inferior con células cuadrangulares, ambas cubiertas por una fina cutícula, además de los pelos descriptos; mesófilo dorsiventral con 2 estratos de parénquima en empalizada y 3 a 4 estratos de parénquima esponjoso; colénquima angular-laminar, en 3 a 4 capas de células y en relación con ambas epidermis; nervadura central constituida por 1 a 3 haces vasculares colaterales, y escasas fibras.

C - Droga en polvo: el polvo es de color verde grisáceo. Se observan fragmentos de epidermis con estomas, pelos glandulares, pelos pluricelulares aislados o unidos a porciones de tejido epidérmico,

restos de parénquima clorofiliano y fragmentos de nervaduras donde se distinguen vasos anillados y espiralados.

D - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica:

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta de gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo, agua, ácido acético y ácido fórmico (100:26:11: 11). [NOTA: preparar inmediatamente antes de su uso].

Solución estándar - Disolver 2 mg de Ácido Clorogénico SR-FA en 10 ml de metanol.

Solución muestra - A 2 g de Alcachofa finamente pulverizada, agregar 20 ml de alcohol 60 %, macerar durante dos horas, agitando de vez en cuando y filtrar.

Revelador - Reactivo de Productos naturales-polietilenglicol.

Procedimiento - Aplicar en bandas por separado 5 µl de la *Solución estándar* y 10 µl de la *Solución muestra*. Desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar de la cámara, marcar el frente de solvente y dejar secar. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y dejar secar. Examinar la placa con luz ultravioleta a 365 nm. El cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe presentar una banda de fluorescencia celeste correspondiente al ácido clorogénico que se corresponde en posición y fluorescencia a la obtenida con la *Solución estándar* (R_f 0,47). El cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe presentar además una banda amarilla brillante a R_f 0,50, correspondiente a luteolina-7-glucósido y entre otras, bandas de fluorescencia celeste entre R_f 0,8 y 0,9.

Materia extraña (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe contener no más de 2,0 % de materias extrañas.

Cenizas totales (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No más de 20,0 %, determinado sobre 1,0 g de Alcachofa finamente pulverizado.

Pérdida por secado (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No más de 12,0 %, determinado sobre 10 g de Alcachofa desecada reducida a polvo fino, colocada en estufa a una temperatura comprendida entre 100 y 105 °C durante 2 horas.

Control higiénico (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

Aflatoxinas (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

Metales pesados (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Método 1. No más de 0,001 %.

Residuo de pesticidas (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACION

Sistema cromatográfico - Emplear un cromatógrafo de líquidos equipado con un detector ultravioleta ajustado a 330 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice porosa de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,2 ml por minuto. El cromatógrafo se debe programar del siguiente modo:

Tiempo (min)	Solución A (%)	Solución B (%)
0 - 1	92	8
1 - 20	92 → 75	8 → 25
20 - 33	75	25
33 - 35	0	100
35 - 37	0 → 92	100 → 8
37 - 47	92	8

Solución A - Agua y ácido fosfórico (99,5:0,5).

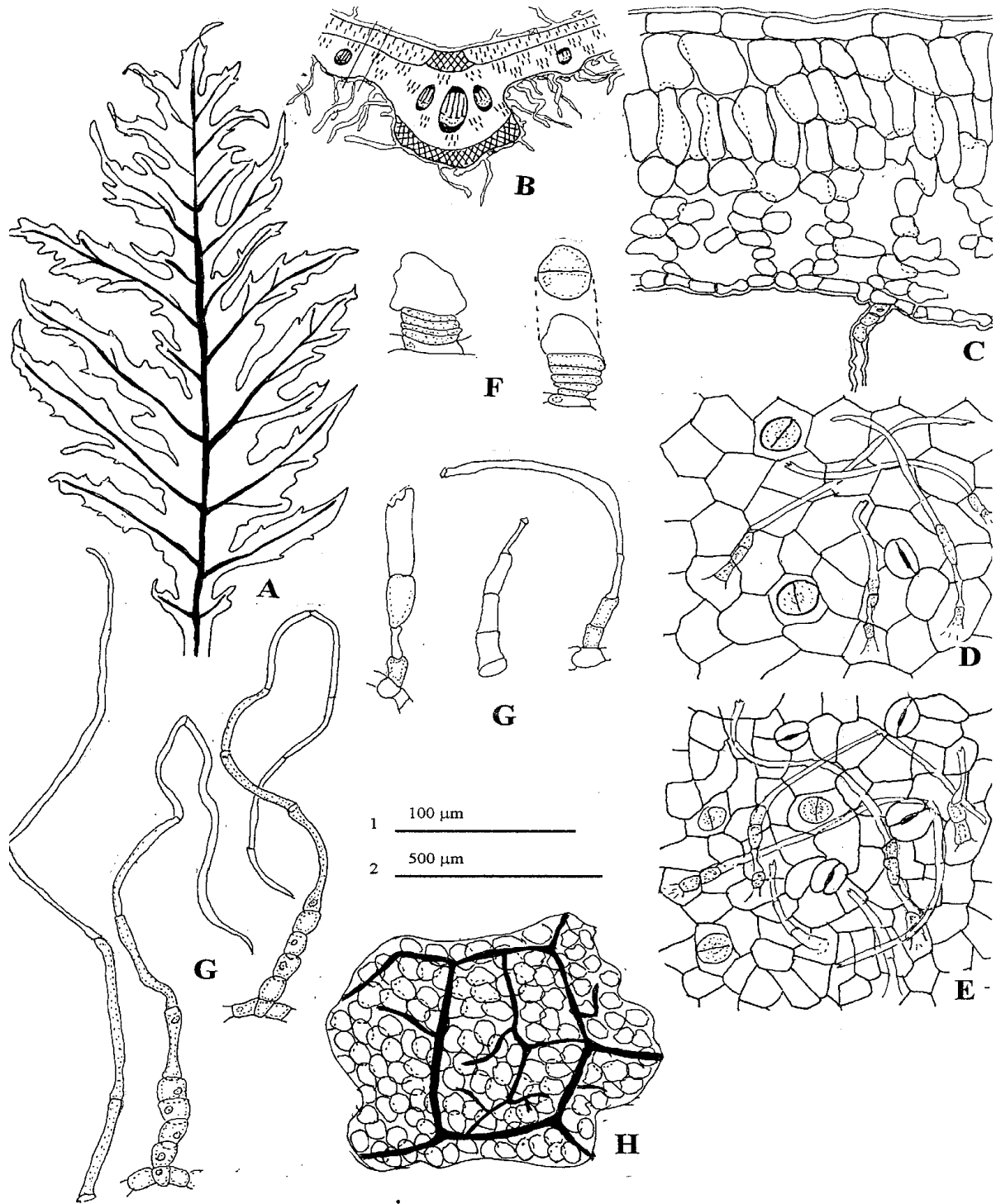
Solución B - Acetonitrilo y ácido fosfórico (99,5:0,5).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 5,0 mg de Ácido Clorogénico SR-FA, transferir a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 30 ml de una mezcla de agua y metanol (6:4) y agitar hasta disolver. Completar a volumen con el mismo solvente.

Preparación muestra - Reducir a polvo fino aproximadamente 5 g de Alcachofa y transferir aproximadamente 500 mg a un erlenmeyer de 100 ml. Agregar 50 ml de una mezcla de agua y metanol (6:4) y agitar magnéticamente durante 30 minutos. Extraer el sobrenadante y repetir la operación sobre el residuo. Combinar los extractos obtenidos, transferir a un matraz aforado de 100 ml y filtrar. Completar a volumen con el mismo solvente y filtrar.

Procedimiento- Inyectar por separado volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los pi-

cos correspondientes al ácido clorogénico. Calcular la cantidad en porcentaje de ácido clorogénico en la porción de Alcachofa en ensayo.



Cynara scolymus L. A-H: A, hoja morfología. B-C: corte transversal del limbo: B, representación esquemática del nervio medio; C, detalle de los indicado en B. D-E: vista superficial de la epidermis: D, superior; E, inferior. F-G: tricomas: F, glandulares con cabeza secretora bicelular; G, simples, pluricelulares, flageliformes (algunos rotos). H, vista superficial de una porción de la lámina mostrando la arquitectura foliar y el parénquima en empalizada. Las reglillas corresponden a 1 a C-H; 2 a B.

ANÍS, fruto

Definición - Anís es el fruto desecado de *Pimpinella anisum* L. (Apiaceae). Debe contener no menos de 2,0 por ciento de aceite esencial, calculado sobre la droga seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Características macroscópicas - El fruto es de forma ovoide, oblonga y ligeramente comprimido lateralmente, terminado en un estilopodio, con dos ramas estilares reflejas; de color verde grisáceo o verde amarillento; de 2 a 3 mm de ancho. Consta de 2 mericarpos que persisten con frecuencia adosados por sus ápices al carpóforo; los que poseen una cara comisural plana y otra dorsal convexa, recorrida de la base al ápice por 5 costillas delgadas, algunas poco salientes y presenta pelos cortos y gruesos. Posee olor a anetol, agradable, aromático y sabor dulce y ardiente, característico.

B - Características microscópicas - En sección transversal es octogonal o redondeado, con diez costillas poco salientes en la cara dorsal y la cara comisural ligeramente cóncava. La epidermis muestra pelos cortos, unicelulares, no glandulares, de paredes gruesas y cutícula verrugosa; el pericarpo se caracteriza por la presencia de numerosos canales secretores pequeños (15 a 45) dispuestos en forma circular, sobre la cara dorsal de cada mericarpo, y unos pocos (2 a 4) canales grandes sobre la cara comisural. La epidermis interna del pericarpo está constituida por una capa de células de paredes delgadas, tangencialmente alargadas, excepto cerca de la línea media de la cara comisural, donde las células pueden tener paredes gruesas, porosas o reticuladas. La cubierta de la semilla está constituida por células con paredes gruesas, de color pardo amarillento, íntimamente unidas con la epidermis del pericarpo, excepto a lo largo de la cara comisural, donde se separa por una gran cavidad; el endosperma es de células poligonales, de paredes gruesas, llenas de granos esféricos o elipsoidales de aleurona, micro rosetas de oxalato de calcio y aceite fijo.

C - Droga en polvo - Es de color verde amarillento a pardo verdoso; se observan partículas irregulares de pericarpo, que muestran porciones de canales secretores; células del endosperma, con granos de aleurona, micro rosetas de oxalato de calcio y aceite fijo; pelos no glandulares; haces de fibras escleren-

quimáticas del carpóforo y fragmentos de haces vasculares. No debe contener almidón.

D - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno.

Solución estándar - Mezclar 3 µl de anetol y 40 µl de aceite de oliva con 1 ml de tolueno.

Solución muestra - Agitar 100 mg de Anís pulverizado con 2 ml de cloruro de metileno durante 15 minutos. Filtrar y evaporar con precaución el filtrado a sequedad en baño de agua a 60 °C. Disolver el residuo en 0,5 ml de tolueno.

Revelador - Ácido fosfomolibdico al 20 % en etanol, recientemente preparado.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 2 µl y 3 µl de la *Solución muestra* y 1 µl, 2 µl y 3 µl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar al aire. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: los cromatogramas deben presentar, sobre un fondo claro una banda correspondiente al anetol con un valor de R_f de aproximadamente 0,60. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar en estufa a 120 °C durante 5 minutos. Observar a la luz natural: las bandas correspondientes al anetol deben presentar color azul sobre fondo amarillo. La intensidad de la banda correspondiente al anetol, en el cromatograma obtenido con 2 µl de *Solución muestra* es intermedia respecto de las intensidades obtenidas con 1 µl y 3 µl de la *Solución estándar*. Los cromatogramas obtenidos con la *Solución muestra* deben presentar una banda azul correspondiente a triacilglicéridos con un valor de R_f comprendido entre 0,20 y 0,30, semejante al obtenido con la *Solución estándar*.

Cenizas insolubles en ácido (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No debe contener más de 2,5 %.

Cenizas totales (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No debe contener más de 12,5 %, determinado sobre 1,0 g de droga finamente pulverizada.

Control higiénico (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de aflatoxinas <110>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de agua <120>

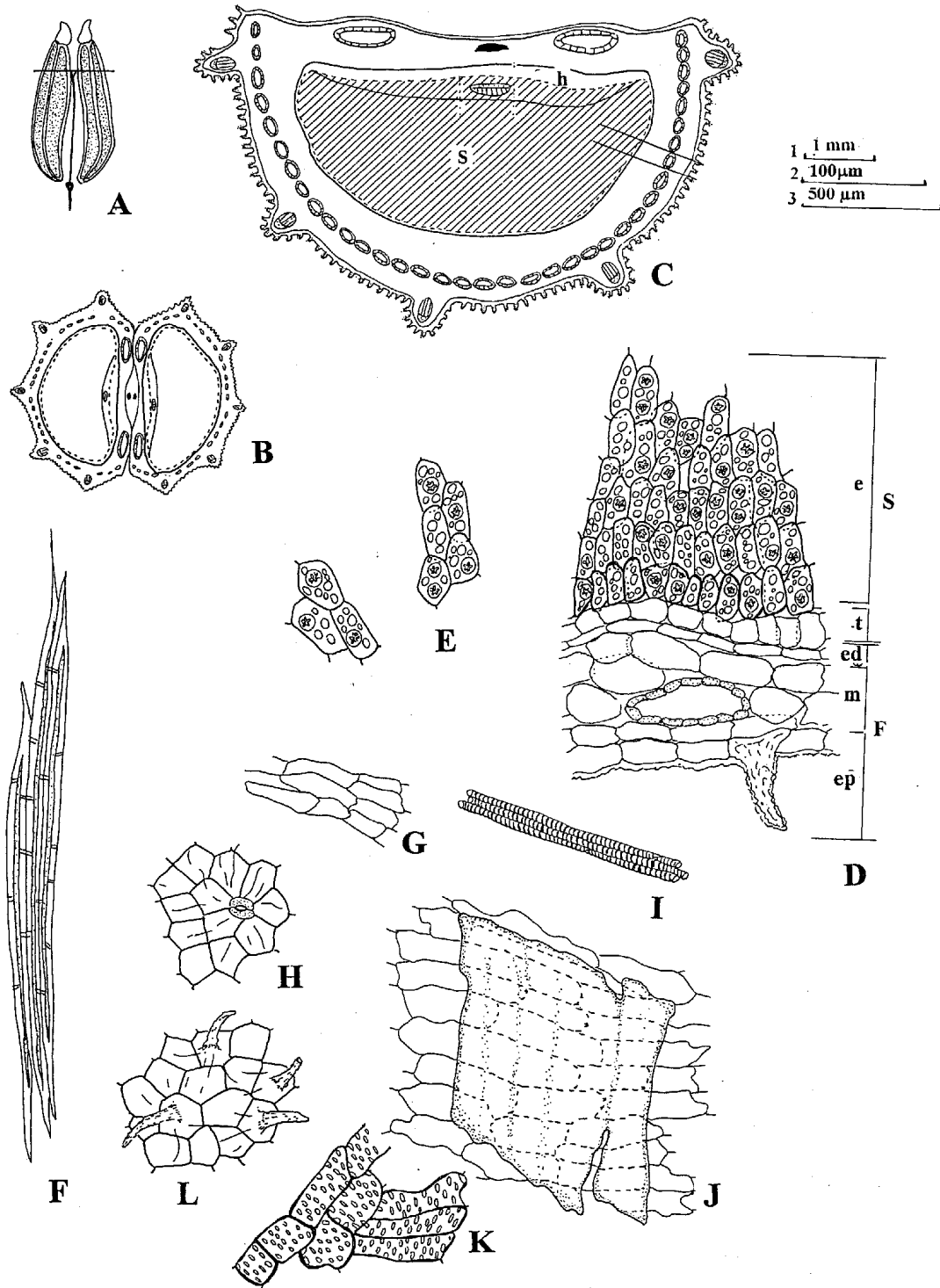
Determinada sobre 10,0 g por destilación azeotrópica. No debe contener más de 7,0 %.

Materia extraña (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No debe contener más de 3 %.

VALORACION

Realizar la determinación de aceites esenciales (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*). Pesar 10,0 g de Anís en polvo y transferir a un balón de 250 ml. Destilar con 100 ml de agua y recolectar el destilado empleando 0,5 ml de xileno en un tubo graduado, a una velocidad de 3 a 4 ml por minuto durante 2 horas. Pesar y calcular el contenido de Anís en porcentaje.



Pimpinella anisium L., A-L: A, morfología del fruto. B-D, sección transversal. B, fruto según lo indicado en A, esquema. C, representación esquemática del pericarpio. D, fruto y semilla detalle de lo indicado en C. E-I, polvo. E, fragmento de endosperma con células con aceites fijos y granos de aleuronas conteniendo 1-2 rosetas de oxalato de calcio. F, cordones de fibras del carpóforo y pedicelo. G, células de la testa de paredes delgadas. H, porción de la pared del fruto mostrando un estoma anomocítico y cutícula estriada. I, fragmento de tejido vascular, vasos espiralados. J, porción del mesocarpio con un canal secretos ramificado. K, esclereidas de la cara comisural. L, porción de la pared del fruto con tricomas enteros y fragmentados, cutícula estriada. e, endosperma; ed, endocarpio; ep, epicarpio; Fr, fruto. h, hueco; m, mesocarpio; S, semilla; t, tegumento de la semilla. Las reglillas corresponden a: 1 a B; 2 a D-L; 3 a C.

BÁLSAMO DE PERÚ

Definición - Bálsamo de Perú es el líquido obtenido por contusión y quemadura superficial de la corteza de *Myroxylon balsamum* (L.) Harms var. *pereirae* (Royle) Harms (Fabaceae). Debe contener no menos de 45,0 por ciento y no más de 70,0 por ciento de ésteres, principalmente benzoato de bencilo y cinamato de bencilo y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido viscoso, de color pardo oscuro a pardo rojizo, transparente cuando se observa en capa delgada. No se espesa ni solidifica por contacto con el aire. Posee olor balsámico agradable similar al de la vainilla; con sabor acre y ligeramente amargo. Fácilmente soluble en su peso de alcohol absoluto, cloroformo y ácido acético; parcialmente soluble en éter, éter de petróleo y aceites fijos; prácticamente insoluble en agua, a la que confiere reacción ácida al tornasol.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados, en un sitio fresco y seco.

ENSAYOS

Identificación

A - Disolver 200 mg de Bálsamo de Perú en 10 ml de alcohol. Agregar 0,2 ml de cloruro férrico: se debe desarrollar una coloración verde a verde oliva.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Hexano, acetato de etilo, ácido acético glacial (90:10:0,5).

Solución muestra - Disolver 500 mg de Bálsamo de Perú en 10 ml de acetato de etilo.

Solución estándar - Disolver 4 mg de timol, 30 mg de cinamato de bencilo y 80 µl de benzoato de bencilo en 5 ml de acetato de etilo.

Revelador - Ácido fosfomolibdico al 20 % en alcohol, recientemente preparado.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de la *Solución estándar* y 10 µl de la *Solución muestra*, en forma de bandas. Desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Secar al aire y desarrollar nuevamente en las mismas condiciones. Secar la placa al aire nuevamente y examinar bajo luz

ultravioleta a 254 nm. El cromatograma obtenido con la *Solución estándar* presenta, en su tercio superior, dos bandas: la superior correspondiente al benzoato de bencilo y la inferior al cinamato de bencilo. El cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe presentar dos bandas con R_f similar y prácticamente del mismo tamaño. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*, calentar entre 100 y 105 °C durante 5 a 10 minutos. Examinar los cromatogramas bajo luz natural. Las bandas correspondientes al benzoato de bencilo y al cinamato de bencilo deben presentar color azul sobre fondo amarillo. El cromatograma obtenido con la *Solución estándar* presenta, cerca de su parte media, una banda gris-violeta correspondiente al timol. En el cromatograma obtenido con la *Solución muestra* se debe observar una banda azul correspondiente al nerolidol inmediatamente por debajo de la banda correspondiente al timol en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar*. Examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm. Inmediatamente por debajo de la banda correspondiente al nerolidol, no debe aparecer ninguna banda azul correspondiente a colofonia. En las partes superior e inferior del cromatograma obtenido con la *Solución muestra* pueden aparecer otras bandas de color azul pálido.

Aceites fijos

Agitar 1 g de Bálsamo de Perú con una solución preparada con 3 g de hidrato de cloral (SR) y 2 ml de agua: se debe obtener una solución transparente (ausencia de aceites fijos).

Colofonia y bálsamo de copaiba

Agitar enérgicamente 1 g de Bálsamo de Perú con 10 ml de éter de petróleo, durante dos minutos. Filtrar y agregar 10 ml de una solución recientemente preparada de acetato cúprico al 0,5 %; agitar bien y dejar separar las fases: no se debe producir coloración verde en la capa de éter de petróleo.

Determinación de la densidad relativa <160>

Entre 1,140 y 1,170.

Determinación del índice de acidez (ver 480. *Grasas y aceites fijos*)

Disolver 1 g de Bálsamo de Perú, en 100 ml de alcohol neutralizado; agregar 1 ml de fenoltaleína y titular la mezcla con hidróxido de sodio 0,1 N: el índice de acidez debe estar comprendido entre 56 y 84.

Determinación del índice de saponificación (ver 480. *Grasas y aceites fijos*)

Disolver el residuo obtenido en *Valoración* en 20 ml de alcohol; agregar 20,0 ml de hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N; calentar a reflujo durante media hora y titular la solución con ácido sulfúrico

0,5 N (SV), en presencia de fenolftaleína como indicador: el índice de saponificación debe estar comprendido entre 230 y 255.

VALORACIÓN

[NOTA: emplear éter etílico libre de peróxidos].

Agregar a 2,5 g de Bálsamo de Perú, contenidos en una ampolla de decantación, 7,5 ml de solución de hidróxido de sodio al 8,5 % y 40 ml de éter etílico y agitar vigorosamente durante 10 minutos. Separar la capa inferior y agitar con tres porciones de 15 ml de éter etílico. Reunir los extractos etéreos, secar con 10 g de sulfato de sodio anhidro y filtrar. Lavar el sulfato de sodio con dos porciones de 10 ml de éter etílico. Reunir los extractos etéreos y evaporar a sequedad. Secar el residuo entre 100 y 105 °C durante 30 minutos y pesar. Expresar el peso obtenido en porcentaje.

BÁLSAMO DE TOLÚ

Definición - Bálsamo de Tolú es obtenido por incisiones practicadas en la corteza de *Myroxylon balsamum* (L.) Harms (Fabaceae).

Caracteres generales - Semisólido amarillo o amarillo pardo, que endurece con el tiempo, presentándose entonces como una masa resinosa, dura, friable, que se ablanda al entibiarse; de color pardo claro a pardo rojizo, traslúcido en capa delgada; de olor balsámico agradable que recuerda al de la vainilla; con sabor aromático, dulce al principio luego acre. Soluble en etanol, cloroformo, éter y ácido acético; prácticamente insoluble en agua y éter de petróleo.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - Preparar una solución alcohólica de Bálsamo de Tolú al 5 %. La solución debe ser ácida frente al tornasol; se debe enturbiar fuertemente por adición de agua, formando una emulsión de color blanco amarillento que por agregado de cloruro férrico se debe desarrollar color verde.

B - Calentar hasta ebullición 1 g de Bálsamo de Tolú con 5 ml de agua; filtrar; agregar al filtrado 30 mg de permanganato de potasio y calentar: debe producirse olor a benzaldehído.

Colofonia, esencia de trementina y copaiba

Transferir a un mortero 1 g de Bálsamo de Tolú, pulverizado o molido y agregar 10 ml de éter de petróleo. Triturar durante 1 a 2 minutos, filtrar, transferir a un tubo de ensayo, y agregar al filtrado 10 ml de una solución recientemente preparada de acetato cúprico al 0,5 %. Agitar y dejar separar las fases: la capa etérea no debe presentar color verde.

Determinación del índice de acidez (ver 480. *Grasas y Aceites Fijos*)

Disolver 1 g de Bálsamo de Tolú en 50 ml de alcohol neutralizado, agregar 1 ml de fenolftaleína como indicador y titular con hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N: el índice de acidez se debe encontrar entre 112 y 168.

Determinación del índice de saponificación (ver 480. *Grasas y Aceites Fijos*)

Agregar lentamente 20,0 ml de hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N al líquido neutralizado obtenido en el ensayo para *Determinación del índice de acidez*; calentar el líquido en un baño de vapor durante

30 minutos bajo un refrigerante y enfriar. Agregar aproximadamente 200 ml de agua destilada y titular el hidróxido de potasio en exceso con ácido clorhídrico 0,5 N. Realizar una determinación con un blanco (ver 780. *Volumetría en Titulaciones residuales o Titulación por retorno*). El volumen total de hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N consumido, incluyendo aquél requerido para neutralizar el ácido libre en la *determinación del índice de acidez*, el índice de saponificación debe estar entre 154 y 220.

BELLADONA, hoja

Definición - Belladona está constituida por las hojas desecadas o mezcladas con sumidades floridas y a veces con frutos, de *Atropa belladonna* L. (Solanaceae). Belladona debe contener no menos de 0,3 por ciento de alcaloides totales expresados como hiosciamina y debe cumplir con las siguientes especificaciones

Sustancias de referencia - Sulfato de Hiosciamina SR-FA. Bromhidrato de Hioscina SR-FA (Bromhidrato de Escopolamina).

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados, en sitio fresco y seco.

ENSAYOS

Identificación

A - Características macroscópicas. Hoja levemente discolor, verde a verde pardusco en el haz y más clara en el envés, entera o rota, a menudo arrugada, enrollada o aglomerada; limbo anchamente ovado u oval-lanceolado, ápice acuminado y atenuado, borde entero; pecíolo de hasta 4 mm de longitud, deprimido, pubescente cuando joven, al igual que la lámina. Ejes de las inflorescencias comprimidos, con brácteas opuestas de tamaño desigual y flores solitarias u ocasionalmente frutos en sus axilas. Las flores, cuando presentes, tienen cáliz gamosépalo y corola gamopétala campanulada. El fruto es una baya globosa, de color verdoso a negro, rodeado por el cáliz persistente con lóbulos ampliamente extendidos, y contiene numerosas semillas comprimidas, reniformes.

B - Características microscópicas. En vista superficial de la lámina foliar, ambas epidermis presentan células con paredes sinuosas, cutícula delgada y estriada y numerosos estomas (anisocíticos y ocasionalmente algunos anomocíticos), con mayor densidad en la inferior; pelos tectores uniseriados, 2 a 6 celulares, con paredes lisas y finas; pelos secretores de dos tipos: a) con cabezuela unicelular y pie uniseriado pluricelular y b) con cabezuela pluricelular y pie unicelular. Mesófilo con parénquima en empalizada uniestratificado y 4 a 5 capas de parénquima esponjoso con células repletas con arena cristalina. Nervadura media biconvexa, con colénquima subepidérmico hacia ambas superficies, grupos de haces bicolaterales, aproximados entre sí y dispuestos en forma de arco muy abierto.

C - Droga en polvo. Polvo verde o verde pardusco, con olor fétido. Presenta vasos reticulados y algunos anulares y espiralados; fibras procedentes de los tallos; células características conteniendo

arena cristalina; cristales pequeños aislados; células epidérmicas con cutícula estriada y estomas anisocíticos y eventualmente anomocíticos; escasos pelos de los tipos anteriormente descritos; granos de polen subsféricos a elipsoides, triaperturados; fragmentos de la corola con células epidérmicas papilosas y/o pelos tectores o secretores de los tipos descritos anteriormente; fragmentos pardos-amarillentos de las semillas, con células del tegumento irregularmente esclerificadas y con punteaduras.

D - Agitar 1,0 g de Belladona, previamente reducida a polvo con 10 ml de ácido sulfúrico 0,05 M durante 2 minutos y filtrar. Agregar 1,0 ml de amoníaco concentrado y 5,0 ml de agua. Agitar con precaución para evitar la formación de emulsión, con 15,0 ml de éter. Dejar separar las fases, extraer la fase etérea y desecar sobre sulfato de sodio anhidro. Filtrar y evaporar el éter en una cápsula de porcelana. Agregar 0,5 ml de ácido nítrico fumante y evaporar a sequedad en baño de agua. Agregar 10 ml de acetona y, gota a gota, una solución de hidróxido de potasio en alcohol al 3 %. Debe desarrollarse una intensa coloración violeta.

E - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta de gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetona, agua y amoníaco concentrado (90:7:3).

Solución estándar - Disolver 50 mg de Sulfato de Hiosciamina SR-FA en 9,0 ml de metanol y agregar 1,8 ml de una solución de Bromhidrato de Hioscina SR-FA, preparada disolviendo 15 mg de Bromhidrato de Hioscina SR-FA en 10,0 ml de metanol.

Solución muestra - A 600 mg de Belladona reducida a polvo, agregar 15 ml de ácido sulfúrico 0,05 M y agitar durante 15 minutos y filtrar. Lavar el filtro con ácido sulfúrico 0,05 M hasta obtener 20 ml de filtrado. Agregar 1 ml de hidróxido de amonio concentrado y realizar dos extracciones con 10 ml de éter libre de peróxidos. Dejar separar las fases, por centrifugación si es necesario y reunir las fases etéreas. Secar sobre sulfato de sodio anhidro, filtrar y evaporar la solución resultante hasta sequedad. Disolver el residuo obtenido en 0,5 ml de metanol.

Revelador I - Solución de iodobismutato de potasio (SR).

Revelador II - Nitrito de sodio 0,1 M (SV).

Procedimiento - Aplicar en bandas por separado, 10 µl y 20 µl de la *Solución estándar* y 10 µl y 20 µl de la *Solución muestra*. Desarrollar los cro-

matogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente de solvente y secar entre 100 y 105 °C durante 15 minutos. Pulverizar sobre la placa con *Revelador I*. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se deben observar bandas anaranjadas o pardas sobre fondo amarillo que se corresponden en color y valor de R_f con las de los cromatogramas obtenidos a partir de la *Solución estándar* (hiosciamina en el tercio inferior e hioscina en el tercio superior). El tamaño e intensidad de las bandas obtenidas a partir de la *Solución muestra* no debe ser menor al de las bandas obtenidas con el mismo volumen de la *Solución estándar*. Pueden observarse además bandas débiles secundarias en el centro o cerca del origen en el cromatograma obtenido con la *Solución muestra*. Pulverizar sobre la placa con *Revelador II* hasta decoloración del fondo de la placa. Dejar secar durante 15 minutos y examinar nuevamente la placa. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* deben desaparecer las eventuales bandas secundarias. El color de las bandas correspondientes a hiosciamina en los cromatogramas obtenidos a partir de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, pueden virar del pardo al pardo-rojizo, pero no al azul grisáceo (correspondiente a atropina).

Cenizas insolubles en ácido clorhídrico (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No más de 4 %.

Cenizas totales (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No más de 16 %.

Control higiénico (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de aflatoxinas <110>

Debe cumplir con los requisitos.

Límite de metales pesados <590>

Método I. No más de 0,001 %.

Materia extraña (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe contener no más de 3 % de tallos de diámetro superior a 5 mm.

Pérdida por secado (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe perder más de 10 % de su peso, determinado sobre 2 g de Belladonna reducida a polvo, por secado en estufa a una temperatura comprendida entre 100 y 105 °C durante 4 horas.

Residuos de pesticidas (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

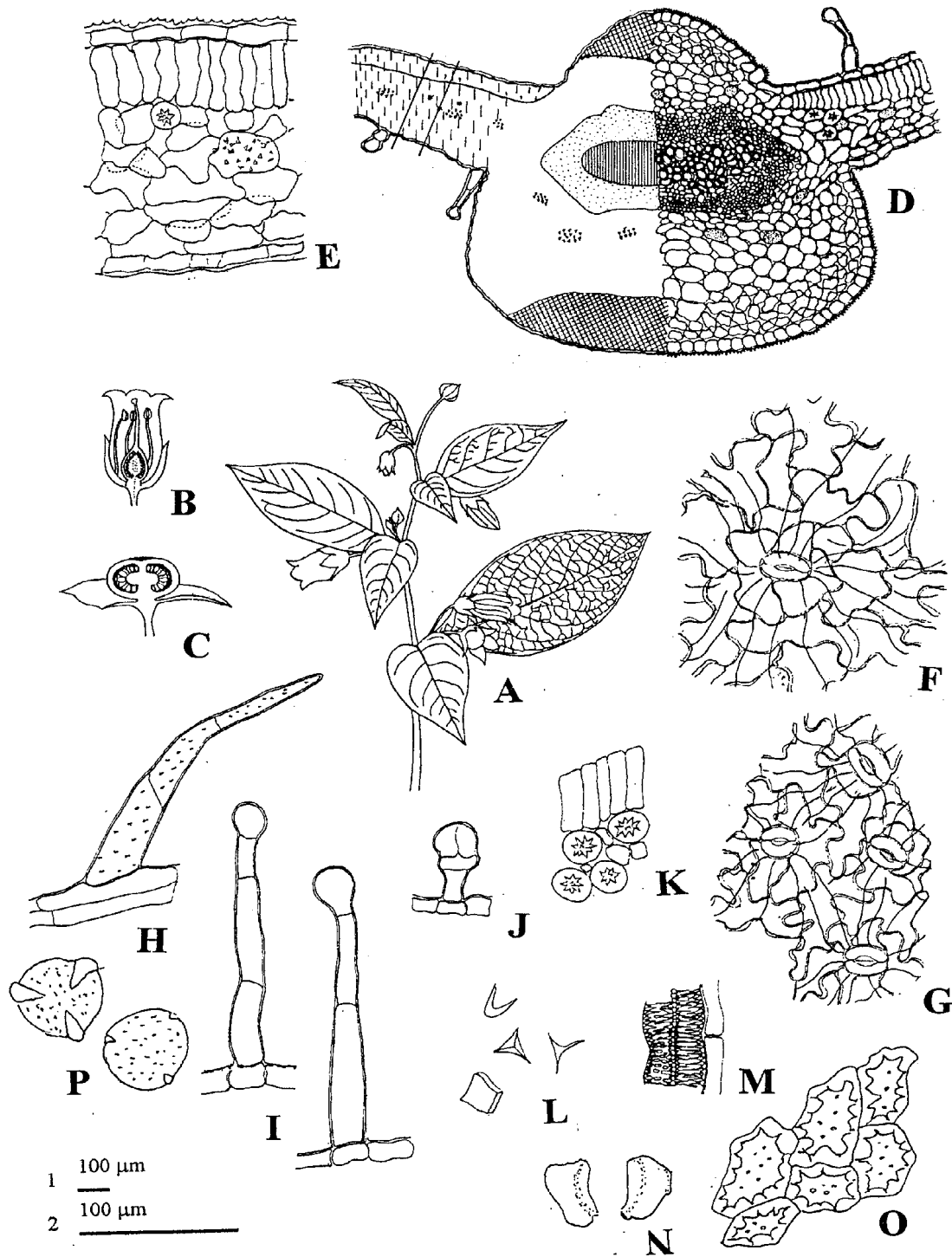
Debe cumplir con los requisitos.

VALORACION

Pesar exactamente alrededor de 10 g de Belladonna, previamente desecados entre 100 y 105 °C y reducida a polvo, transferir a un recipiente apropiado que contenga una mezcla de 5 ml de amoníaco concentrado, 10 ml de alcohol y 30 ml de éter libre de peróxidos y mezclar. Transferir a un percolador con ayuda de solución de extracción si fuera necesario y dejar macerar durante 4 horas. Lixiviar con una mezcla de cloroformo y éter (1:3), hasta extracción completa de los alcaloides [NOTA: evaporar hasta sequedad unos pocos mililitros del líquido eluido del percolador, disolver el residuo obtenido en ácido sulfúrico 0,25 M y comprobar la ausencia de alcaloides con una solución de tetraiodomercuriato de potasio (SR)]. Reducir el volumen del percolado a 50 ml e introducir la mezcla en una ampolla de decantación, enjuagando con éter libre de peróxidos. Al líquido obtenido, agregar al menos 2,1 veces su volumen de éter libre de peróxidos para obtener dos fases. Realizar al menor tres extracciones con 20 ml de ácido sulfúrico 0,25 M cada una. Separar las fases y reunir las fracciones ácidas en una ampolla de decantación. Alcalinizar con amoníaco concentrado y realizar tres extracciones con 30 ml de cloroformo cada una. Reunir las fases clorofórmicas, agregar 4 g de sulfato de sodio anhidro y dejar en contacto durante 30 minutos, agitando periódicamente. Decantar el cloroformo y lavar el sulfato de sodio con tres porciones de 10 ml de cloroformo cada una. Reunir las fases clorofórmicas, evaporar hasta sequedad y calentar el residuo en una estufa entre 100 y 105 °C durante 15 minutos. Disolver el residuo obtenido en unos pocos mililitros de cloroformo, agregar 20 ml de ácido sulfúrico 0,01 M y descartar la fase clorofórmica. Titular el exceso de ácido con hidróxido de sodio 0,02 N (SV) empleando rojo de metilo (SR) como indicador. Calcular la cantidad en porcentaje del contenido de alcaloides totales expresado como Hiosciamina en la porción de Belladonna en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$57,88(20 - n)/P(100 - d)$$

en la cual d es la pérdida por desecación en porcentaje, n es el número de ml de hidróxido de sodio 0,02 M consumidos, y P es peso de la muestra en gramos.



Atropa belladonna L. A-P, A-C: morfología; A, rama con flores; B-C: sección longitudinal: B, flor; C, fruto. D-E: sección transversal de la lámina de la hoja: D, nervio medio, esquema y detalle; E, detalle del semilímbo según lo indicado en D. F-P: droga en polvo: F-G: epidermis en vista superficial: F, superior; G, inferior; H-J: pelos: H, pelo simple pluricelular; I-J: pelos glandulares, I, de pie pluricelular y cabeza unicelular; J, de pie unicelular y cabeza pluricelular; K, porción de células en empalizada y parénquima esponjoso con drusas de oxalato de calcio; M, vasos espiralados y reticulados; N, semillas; O, fragmento de células del tegumento seminal; P, granos tricólpados. Las reglillas corresponden 1 a B; 2 a E y P.

BOLDO, Hoja

Definición - Boldo es la hoja desecada de *Peumus boldus* Mol. (*Boldea boldus* (Mol.) Looser) (Monimiaceae). Contiene no menos de 2,0 por ciento de aceite esencial y no menos de 0,20 por ciento de alcaloides totales, calculados como boldina y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - *Características macroscópicas* - La hoja de Boldo es elíptica u oval elíptica, redondeada en la base, cortamente peciolada, de hasta 6 cm de largo y 4 cm de ancho; de borde entero y ligeramente plegado hacia abajo; gruesa, coriácea, áspera al tacto y quebradiza; cubierta en ambas caras de pelos cortos rígidos estrellados; de color verde grisáceo; con nervadura principal prominente. El haz presenta como característica más relevante numerosas elevaciones puntiformes. El Boldo tiene olor aromático fuerte, semejante al timol, que aumenta cuando se tritura entre los dedos, de sabor amargo y astringente.

B - *Características microscópicas* - La lámina en vista superficial presenta la epidermis adaxial con células poligonales de paredes rectas con cutícula gruesa, lisa sin estomas y con escasos pelos estrellados; la epidermis abaxial presenta células de paredes sinuosas; estomas anomocíticos y numerosos pelos estrellados. El mesófilo está constituido por una hipodermis de 1 a 3 hileras de células de paredes engrosadas; parénquima en empalizada de dos capas de células y parénquima esponjoso dispuesto en varias capas de células. En ambos parénquimas se observan abundantes células secretoras esféricas, más abundantes en el esponjoso.

C - *Droga en polvo* - Polvo verde claro con olor aromático y pungente. Se observan numerosos fragmentos de pelos estrellados; parénquima con abundantes células oleíferas; fragmentos de epidermis con estomas anomocíticos.

D - A 1 g de hoja pulverizada, agregar 10 ml de alcohol al 80 % v/v, calentar a ebullición 15 minutos, enfriar y filtrar. Evaporar en un baño de agua, hasta un volumen aproximado de 1 ml. Agregar una gota de amoníaco y agitar 2 minutos con 5 ml de éter etílico. Filtrar a través de sulfato de sodio anhidro la fase etérea. Evaporar en una cápsula de porcelana y agregar 2 ml de una solución de vaini-

lina al 1 % en ácido clorhídrico: se obtiene una coloración rosa alilada, estable por unos minutos.

E - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno, acetato de etilo y dietilamina (7:2:1).

Solución estándar - Disolver 0,1 g de Boldina en 100 ml de una mezcla de cloroformo y metanol (5:5).

Solución muestra - Agregar 10 ml de ácido sulfúrico 0,1 N a 100 g de Boldo en polvo. Agitar durante 2 minutos y filtrar. Ajustar el filtrado a pH 8 con amoníaco diluido. Realizar cinco extracciones sucesivas con 30 ml de cloroformo. Reunir los extractos clorofórmicos y filtrar a través de sulfato de sodio anhidro. Evaporar a sequedad en baño de agua y disolver el residuo en 0,25 ml de una mezcla de cloroformo y metanol (5:5).

Revelador - Reactivo de Dragendorff.

Procedimiento - Aplicar por separado en bandas, 10 μ l de la *Solución muestra* y 10 μ l de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Dejar secar al aire. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 366 nm. El cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar* debe presentar una zona de fluorescencia azul violeta, correspondiente a boldina a un *Rf* aproximado de 0,27. El cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe presentar dos zonas azul violeta en el valor de *Rf* correspondiente a la boldina en la *Solución estándar*. Pulverizar con *Revelador*. El cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe presentar dos zonas anaranjadas en el valor de *Rf* correspondiente a la boldina en la *Solución estándar* y, por debajo de las mismas, otras dos zonas de alcaloides minoritarios.

Cenizas totales (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No debe contener más de 13 %.

Control higiénico (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de aflatoxinas <110>

Debe cumplir con los requisitos.

Límite de metales pesados <590>

Debe cumplir con los requisitos.

Materia extraña (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No debe contener más de 4 % de ramas y 2 % de otras materias extrañas.

Pérdida por secado (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No debe perder más de 10 %, determinado mediante destilación sobre 20 g de Boldo en polvo.

Residuos de Pesticidas (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Aceites esenciales

Realizar la determinación de aceites esenciales (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*). Pesar 10 g de Boldo en polvo y transferir a un balón de 1 litro. Destilar con 300 ml de agua y recolectar el destilado empleando 0,5 ml de xileno en un tubo graduado, a una velocidad de 2 a 3 ml por minuto durante 2 horas.

Alcaloides

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 304 nm y una columna de 25 cm x 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Solución A - Preparar una mezcla de 99,8 ml de agua y 0,2 ml de dietilamina. Ajustar a pH 3 con ácido fórmico.

Solución B - Preparar una mezcla de 99,8 ml de acetonitrilo y 0,2 ml de dietilamina.

Fase móvil - *Solución A* y *Solución B* (84:16). Filtrar y degasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Preparar una solución de boldina en *Fase móvil* con una concentración de 0,012 mg por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 1 g de Boldo en polvo, agregar 50 ml de ácido clorhídrico, agitar y calentar en un baño de

agua a 80 °C durante 30 minutos. Filtrar, tomar el residuo con 50 ml de ácido clorhídrico, agitar y calentar en un baño de agua a 80 °C durante 30 minutos. Filtrar, y repetir la operación sobre el residuo obtenido. Filtrar, reunir los líquidos filtrados fríos y agitar con 100 ml de una mezcla de acetato de etilo y hexano (5:5). Ajustar la fase acuosa a pH 9,5 con amoníaco diluido. Agitar sucesivamente con 100 ml, 50 ml y 50 ml de cloruro de metileno. Reunir las fases orgánicas y evaporarlas a presión reducida. Transferir el residuo a un matraz aforado de 10 ml y diluir a volumen con *Fase móvil*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos a la boldina deben ser: 0,9 para isoboldina, 1,8 para isocorydina *N*-óxido; 2,2 para laurotetanina; 2,8 para isocorudina y 3,2 para *N*-metillaurtetanina; (pueden aparecer picos adicionales); la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

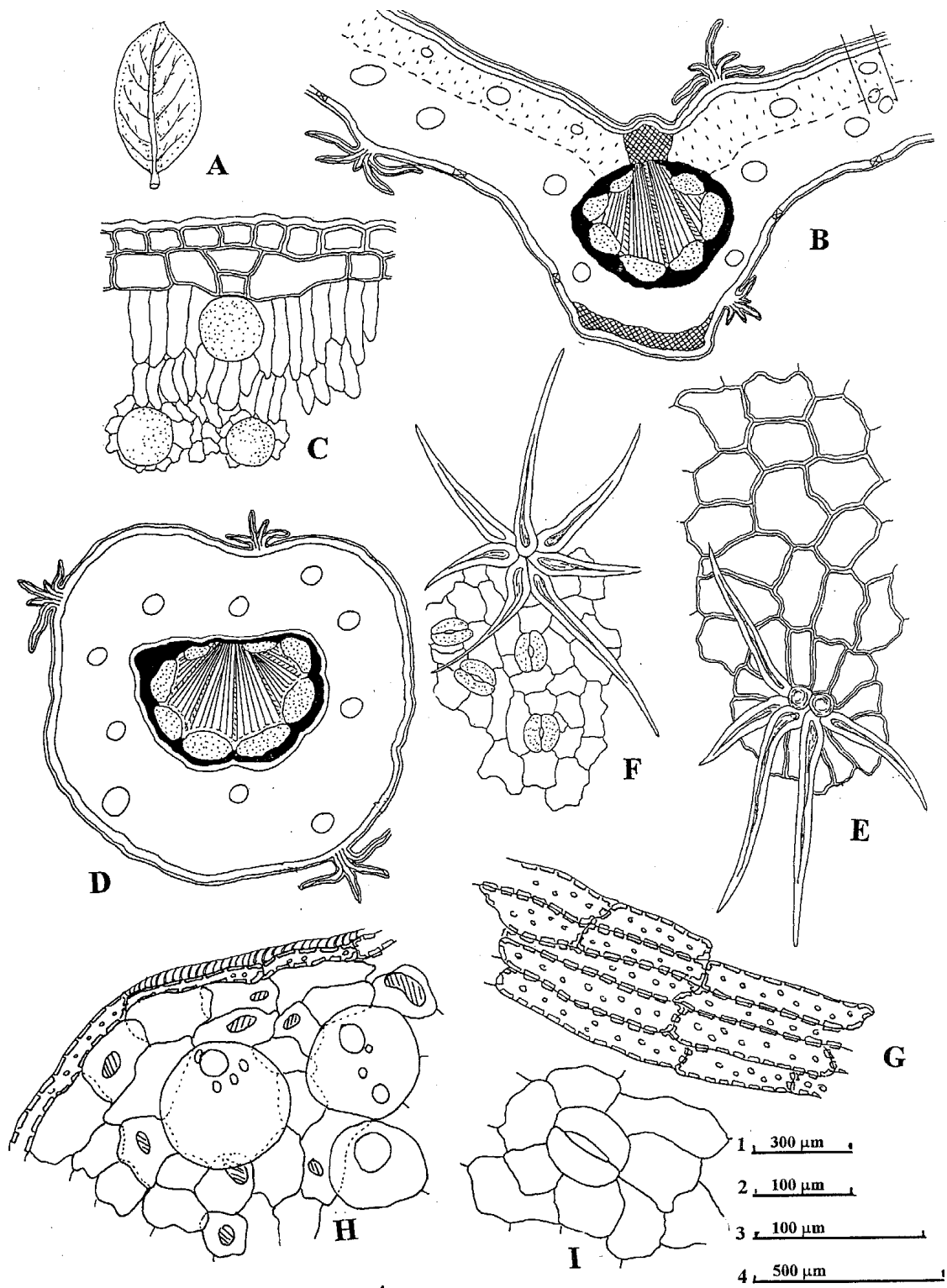
Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo aproximadamente 20 µl de la *Preparación muestra* y 20 µl de la *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos. Calcular el contenido en porcentaje del total de alcaloides, expresado como boldina en la porción de Boldo en ensayo por la fórmula siguiente:

$$(\sum r_i / r_E)(P_E / P_M)$$

en la cual $\sum r_i$ es la suma de las respuestas de los picos correspondiente a los alcaloides identificados en el cromatograma obtenido con la *Preparación muestra*, r_E es la respuesta del pico correspondiente a la boldina en el cromatograma obtenido con la *Preparación estándar*, P_M es el peso de la muestra expresada en mg en la *Preparación muestra* y P_E es el peso de la boldina en mg en la *Preparación estándar*.

ROTULADO

Indicar en el rótulo la denominación oficial, seguida del nombre científico en latín.



Peumus boldus Molina, A-I: A, hoja, exomorfología. B-D sección transversal. B, esquema representativo del limbo. C, detalle de lo indicado en B. D, esquema representativo del pecíolo. E-F vista superficial de la epidermis, mostrando pelos fasciculados. E, superior. F, inferior con estomas. G-I, polvo. G, parénquima axial del xilema de paredes engrosadas. H, porción del parénquima del mesófilo con células oleíferas y un vaso espiralado acompañado de parénquima engrosado. I, fragmento de epidermis con un estoma anomocítico. Las reglillas corresponden a: 1 a B, D; 2 a C, E, F; 3 a H, I; 4 a G.

CALENDULA, flor

Definición - Calendula consiste en las flores liguladas completamente abiertas, separadas del receptáculo, desecadas, enteras o fragmentadas, de los capítulos simples, semidobles de *Calendula officinalis* L. (Asteraceae). Debe contener no menos de 0,4 por ciento de flavonoides totales, calculado como hiperósido sobre la droga desecada y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados, en un sitio fresco y seco.

ENSAYOS

Identificación

A - *Características macroscópicas* - Flores liguladas femeninas de 20 a 30 mm de longitud por 5 a 7 mm de diámetro, de color amarillo o amarillo anaranjado a pardo anaranjado, son pilosas, con tres dientes en el ápice de la lígula; tubo corolino de color pardo amarillento o pardo anaranjado, estilo bifido, ovario de color pardo amarillento a pardo anaranjado, los frutos son aquenios curvados, naviculares, con el dorso cubierto de espinas cortas de color pardo verdoso y sin vilano. Flores tubulosas masculinas con corola de aproximadamente 5 mm de longitud, 5-lobulada, de color amarillo, rojo anaranjado o rojo violáceo, pilosa en la parte inferior.

B - *Características microscópicas* - En el material diafanizado se observan en vista superficial flores liguladas, fragmentos de la corola cuya epidermis interna está compuesta por células elongadas longitudinalmente, con paredes delgadas y cutícula estriada; en el parénquima en el parénquima subyacente se observa gran cantidad de glóbulos oleíferos de color amarillo-anaranjado y en la base de la corola las células epidérmicas muestran las paredes más engrosadas y con diminutos cristales o drusas de oxalato de calcio; la epidermis externa es similar a la interna excepto por presentar escasos estomas de tipo anomocítico. Se observan tricomas simples, presentes en la base de la corola, ellos son biseriados, largos, cónicos con ápice redondeado, con células de paredes ligeramente engrosadas. En la corola y en la pared del ovario se encuentran tricomas glandulares de dos tipos: uniseriados, con un pie de 3 a 5 células, ocasionalmente pueden ser biseriados con 3 a 4 células por serie; los tricomas glandulares del segundo tipo son sésiles y en todos los casos las cabezas son pluricelulares. Se encuentran fragmentos con papilas estigmáticas, cortas y bulbosas, con granos de polen, retenidos, esfé-

ricos de hasta 40 μm de diámetro, con tres poros germinativos y exina con espinas; fragmentos de la pared del ovario, con células poligonales, las que contienen abundantes pigmentos de color marrón; fruto aquenio, de forma navicular con el dorso espinoso, de color pardo oscuro; restos de corolas de las flores tubulosas, abundantes fragmentos de filamentos y anteras y fragmentos de endotecio de las anteras.

C - *Droga en polvo* - El polvo es de color pardo amarillento. Presenta fragmentos de las corolas conteniendo gotitas de aceite de color amarillo claro, algunos con abundantes estomas anomocíticos, grandes, otros conteniendo prismas y drusas de oxalato de calcio; pelos glandulares con un pie uniseriado o biseriado (pluricelular); granos de polen esféricos, de hasta 40 μm de diámetro, con una exina fuertemente espinulosa y tres poros germinativos. Ocasionalmente muestra fragmentos de los estigmas con papilas cortas y bulbosas.

D - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Ácido fórmico, acetato de etilo y agua (80:10:10).

Solución estándar - Disolver 1,0 mg de ácido cafeico, 1,0 mg de ácido clorogénico y 2,5 mg de rutina en 10 ml de metanol.

Solución muestra - Calentar a reflujo durante 10 minutos 1,0 g de droga reducida a polvo con 10,0 ml de metanol. Enfriar y filtrar.

Revelador - Solución al 1 % de difenilborinato de 2-aminoetilo en metanol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 20 μl de la *Solución muestra* y 20 μl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y secar entre 100 y 105 °C. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*, dejar secar al aire y examinar la placa bajo luz ultravioleta a 365 nm. El cromatograma obtenido con la *Solución estándar* debe presentar tres bandas de fluorescencia pardo amarillenta en la parte inferior correspondiente a la rutina, otra celeste en la parte media correspondiente al ácido clorogénico y la tercera también celeste en la parte superior correspondiente al ácido cafeico. El cromatograma obtenido con la *Solución muestra* debe presentar entre otras, una banda de fluorescencia pardo amarillenta con el mismo valor de R_f que la correspondiente a la rutina obtenida a partir de la

Solución estándar. Además debe presentar, una banda de fluorescencia verde amarillenta por debajo de la banda correspondiente a la rutina y otra de fluorescencia celeste por encima de la banda correspondiente al ácido clorogénico obtenida en el cromatograma de la *Solución estándar*; una banda de fluorescencia verde amarillenta por encima y otra de fluorescencia celeste por debajo de la correspondiente al ácido cafeico obtenida en el cromatograma de la *Solución estándar*.

Cenizas totales (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No más de 10,0 %.

Control higiénico (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de aflatoxinas <110>

Debe cumplir con los requisitos.

Límite de metales pesados <590>

Método I. No más de 0,001 %.

Materia extraña (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No debe contener más de 5 % de brácteas y no más de 2,0 % de otros elementos extraños.

Pérdida por secado (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

Secar entre 100 y 105 °C durante 2 horas 1,0 g de droga reducida a polvo: no debe perder más de 12,0 % de su peso.

Residuos de pesticidas (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Preparación muestra - Calentar a reflujo en un balón de 100 ml durante 30 minutos, 0,800 g de la droga reducida a polvo fino, 1,0 ml de la solución al 0,5 % de hexametilentetramina, 20 ml de acetona y

7 ml de ácido clorhídrico. Filtrar a través de algodón absorbente y transferir a un matraz de 100 ml. Agregar el algodón al residuo en el balón y extraer a reflujo con dos porciones de 20 ml de acetona a reflujo durante 10 minutos. Dejar enfriar a temperatura ambiente, filtrar a través de algodón, reunir los extractos y filtrar a través de un papel de filtro y transferir el filtrado al matraz. Completar a volumen con acetona lavando el balón y el filtro. Transferir 20,0 ml de la solución anterior a una ampolla de decantación, agregar 20 ml de agua y extraer con 15, 10, 10 y 10 ml de acetato de etilo. Combinar los extractos en una ampolla de decantación, lavar con dos porciones de 50 ml de agua, filtrar sobre 10 g de sulfato de sodio anhidro y transferir a un matraz aforado de 50 ml. Completar a volumen con acetato de etilo y mezclar.

Solución de cloruro de aluminio - Disolver 2,0 g de cloruro de aluminio en 100 ml de una solución de ácido acético glacial en metanol al 5 % v/v.

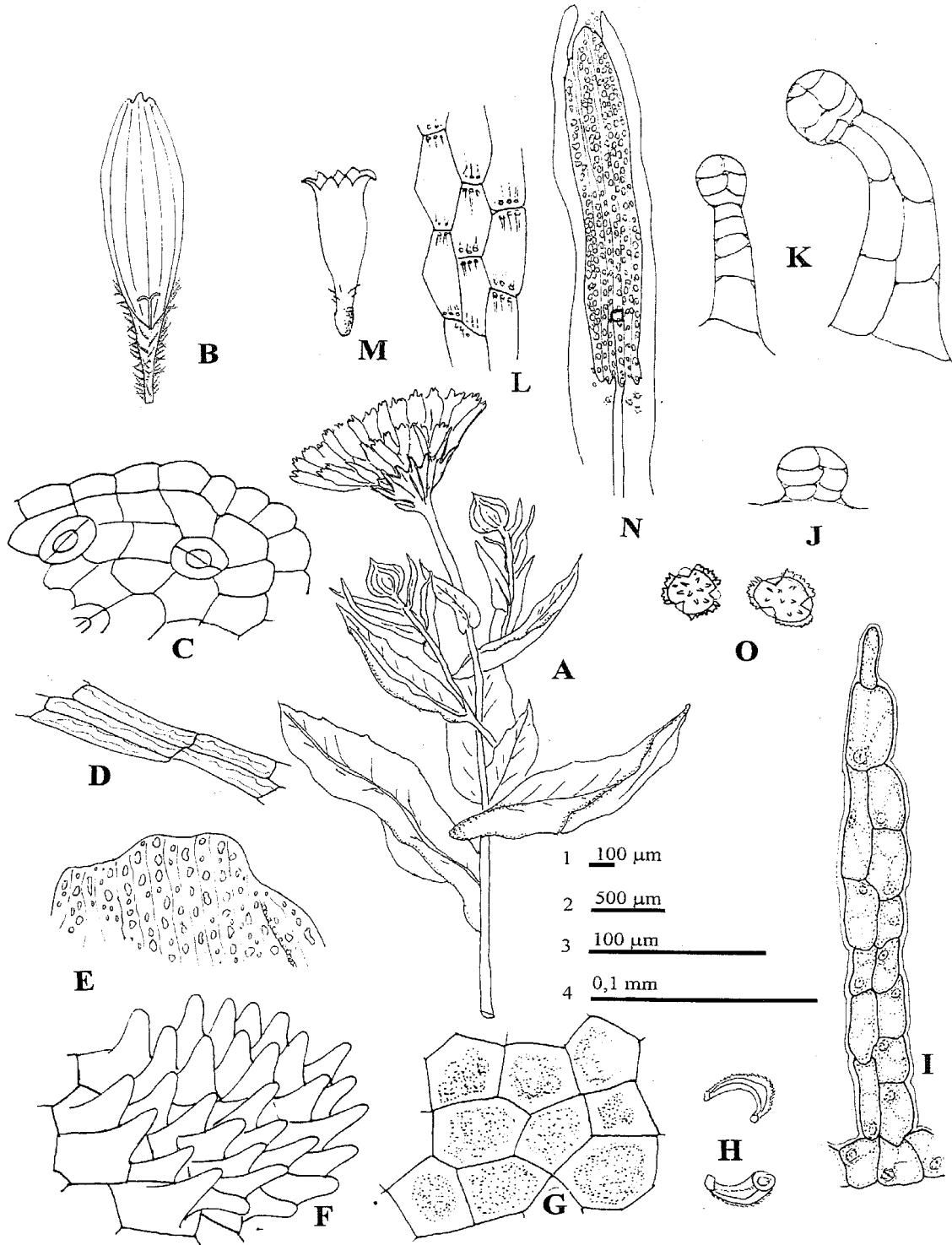
Solución problema - Transferir 10,0 ml de la *Preparación muestra* a un matraz aforado de 25 ml, agregar 1 ml de *Solución de cloruro de aluminio* y completar a volumen con una solución de ácido acético glacial en metanol al 5 % v/v.

Solución de compensación - Transferir 10,0 ml de la *Preparación muestra* a un matraz aforado de 25 ml y completar a volumen con una solución de ácido acético glacial en metanol al 5 % v/v.

Procedimiento - Determinar la absorbancia de la *Solución problema* luego de 30 minutos por comparación con la *Solución de compensación*, a 425 nm. Calcular el porcentaje total de flavonoides como hiperósido, empleando 500 como coeficiente de extinción específica $E (1 \%, 1 \text{ cm})$, por la fórmula siguiente:

$$1,25A/P$$

en la cual A es la absorbancia a 425 nm y P es el peso en g de la droga en polvo empleada para preparar la *Preparación muestra*.



Calendula officinalis L. A-O: A, rama con capítulo. B, flor ligulada; C, porción de epidermis externa de la corola de la flor ligulada, extremo, con estomas anomocíticos; D, epidermis interna de la flor ligulada con cutícula estriada; E, porción del parénquima subyacente con glóbulos oleíferos; F, papilas estigmáticas, G, epidermis de la pared del ovario, cuyas células tienen un pigmento de color pardo; H, frutos; I: tricomas simples, pluricelular biseriado del tubo de la corola; J-K: tricomas glandulares: J, glándula séstil K, con pie de 3-5 células y cabeza pluricelular, presentes en la corola y pared del ovario; L, porción de endotecio; M, flor tubulosa; N, fragmento de filamento y antera de un estambre; O, granos de polen. Las reglillas corresponden a 1 a B; 2 a N; 3 a B, E, H, I, J, K, O y 4 a C, F, G, L, M.

CANELA DE CEILAN, corteza

Definición - La Canela está constituida por la corteza desecada, libre de súber y del parénquima subyacente, de los tallos de *Cinnamomum verum* J.S. Presl. (*Cinnamomum zeylanicum* Nees) (Lauraceae). Debe contener no menos de 1,2 por ciento de aceite esencial.

CONSERVACION

En envases inactivos bien cerrados, en un sitio seco y fresco.

ENSAYOS

Identificación

A - *Características macroscópicas* - Las cortezas se presentan en trozos acanalados, enrollados en sus márgenes, dispuestos unos dentro de otros, de longitud variable y de 0,2 a 0,8 mm de espesor. La superficie externa es lisa, pardo amarillenta, con cicatrices redondeadas que corresponden al punto de inserción de las hojas y brotes axilares y con largas y sinuosas estrías longitudinales. La superficie interna es ligeramente oscura y longitudinalmente estriada. La fractura es corta y fibrosa. Tiene olor característico y aromático.

B - *Características microscópicas* - La sección transversal de la corteza presenta externamente algunas células de parénquima cortical en el que se observa una ancha y continua capa de periciclo esclerenquimático constituido por grupos de esclereidas redondeadas o tangencialmente elongadas, de paredes gruesas con puntuaciones muy ramificadas y ocasionalmente grupos de fibras. El floema está compuesto por tubos cribosos y parénquima. Se observan idioblastos con aceites esenciales y mucílagos. Las fibras del floema con paredes muy engrosadas, se disponen aisladas o en pequeños grupos. El parénquima del floema contiene granos de almidón simples o compuestos de 2 a 4 unidades de 2 a 4 µm de diámetro. Los radios parenquimáticos son de una o dos células de ancho presentando pequeños cristales aciculares de oxalato de calcio.

C - *Droga en polvo* - El polvo es de color pardo o pardo amarillento. Observado al microscopio presenta abundantes granos de almidón simples, céntricos y compuestos, numerosas fibras incoloras con gruesas paredes, braquiesclereidas con puntuaciones, moderadamente engrosadas y pequeños cristales aciculares de oxalato de calcio.

D - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100.

Cromatografía) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloruro de metileno.

Solución estándar - Disolver 50 µl de aldehído cinámico y 10 µl de eugenol en tolueno y diluir a 10,0 ml con el mismo solvente.

Solución muestra - Extraer 100 mg de la droga reducida a polvo con 2 ml de cloruro de metileno durante 15 minutos, con agitación continua. Filtrar y secar el filtrado a presión reducida. Resuspender el residuo en 0,4 ml de tolueno.

Revelador - Floroglucinol (SR).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa, en bandas, 10 µl de la *Solución estándar* y 10 µl de la *Solución muestra*. Desarrollar los cromatogramas hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa y dejar secar al aire. Examinar a 254 nm: el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe presentar una banda atenuada en la parte media (R_f 0,5) que se corresponde con el aldehído cinámico e inmediatamente arriba de ella, una banda de absorción más débil que se corresponde con el eugenol. Examinar la placa a 365 nm, la *Solución muestra* debe presentar una banda de fluorescencia celeste (eugenol) e inmediatamente por debajo otra banda correspondiente al aldehído cinámico. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*: el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe presentar una banda pardo amarillenta y otra banda violeta, que se corresponden con las correspondientes al aldehído cinámico y al eugenol de la *Solución estándar*, respectivamente.

Cenizas totales (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe contener más de 6,0 %.

Control higiénico (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de aflatoxinas <110>

Debe cumplir con los requisitos según el destino.

Límite de metales pesados <590>

Método I. No más de 0,001 %.

Materia extraña (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe contener materia extraña.

Pérdida por secado (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe perder más de 12 % de su peso; determinado sobre 2,0 g de droga reducida a polvo

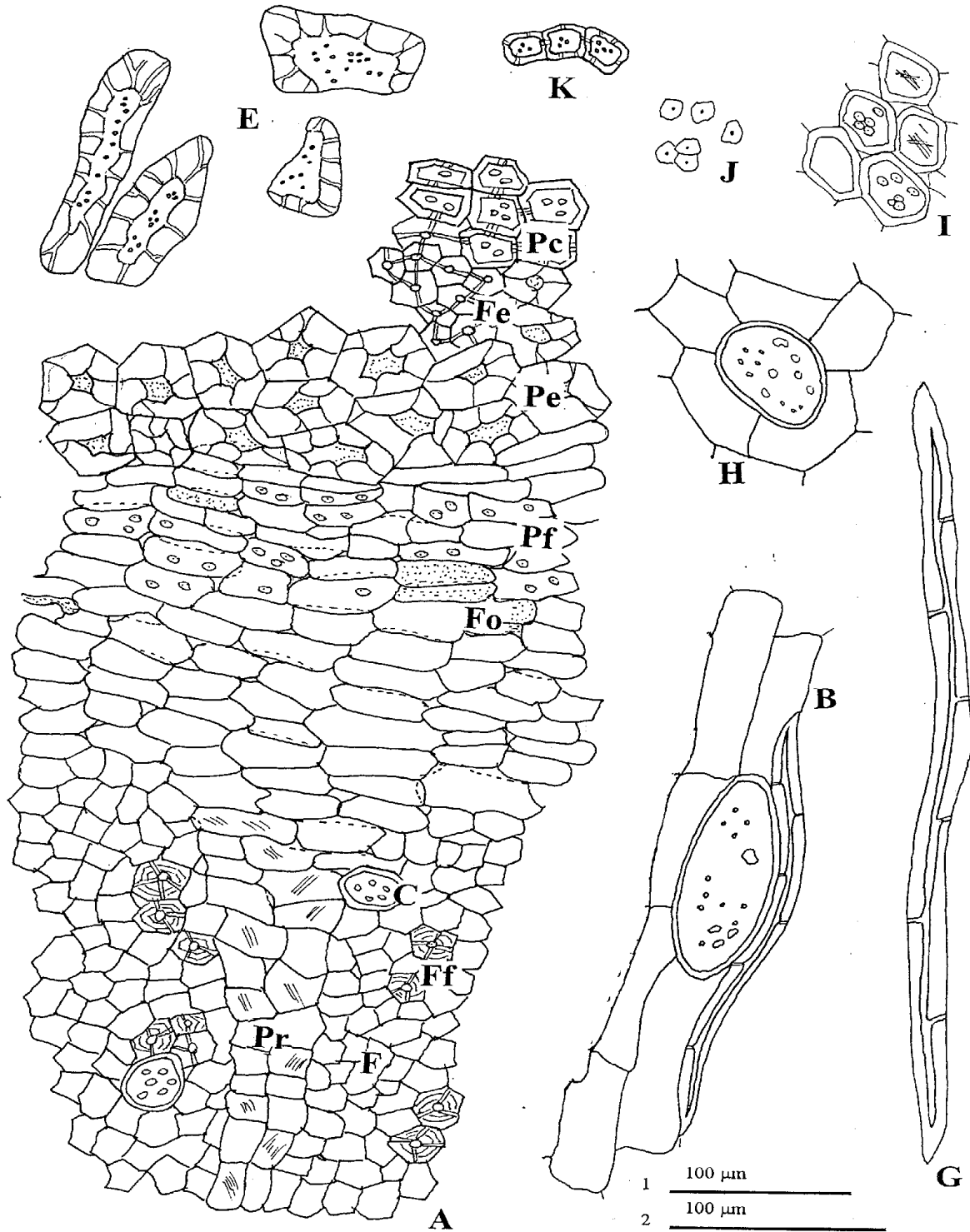
mediante desecación en estufa entre 100 y 105 °C, durante 2 horas.

Residuo de pesticidas (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACION

Efectuar la determinación de aceites esenciales en vegetales (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*). Pesar 20,0 g de la droga reducida a polvo y transferir a un balón de 1 litro. Proceder inmediatamente con la determinación, empleando 200 ml de ácido clorhídrico 0,1 M como líquido de destilación y 0,5 ml de xileno en el tubo graduado. Efectuar la destilación con una velocidad de 2,5 - 3,5 ml por minuto durante 3 horas. Luego de 10 minutos de finalizada la destilación, leer el volumen de líquido colectado en el tubo graduado y restarle el volumen de xileno. Calcular el resultado en ml por cada 100 g de droga.



Cinnamomum verum J.S. Presl. A, detalle de la corteza en sección transversal; Pc, parénquima cortical; Fe; fibras esclerenquimáticas; Pe, periciclo; Pf, parénquima del floema con almidón; Fo, floema obliterado; C, célula oleífera; Ff, fibras del floema; F, floema funcional; Pr, parénquima con rafidios de oxalato de calcio. Droga en polvo: B, células parenquimáticas con célula oleífera; E, esclereidas pericíclicas; G, fibra del floema; H, células parenquimáticas con célula oleífera; I, células parenquimáticas con almidón y rafidios de oxalato de calcio; J, granos de almidón; K, células parenquimáticas. Las reglillas corresponden 1 a A, 2 a B, E, G, H, I, J, K.

CARDO MARIANO, fruto

Definición - Cardo Mariano consiste en el fruto maduro y seco, desprovisto del pappus, de *Silybum marianum* (L.) Gaertner (Asteraceae). Debe contener no menos de 2,0 % de silimarina, calculado como silibina y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Silibina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados, en un sitio seco.

ENSAYOS

Identificación

A - Características macroscópicas - Los frutos (aquenios) son ovoides y alargados, algo curvos y aplanados, de aproximadamente 6 a 7 mm de longitud, hasta 3 mm de diámetro y 1,5 mm de grosor. En el extremo superior se observa una protuberancia anular de color amarillo (resto estilar). El pericarpo es brillante de color negro pardusco o gris pardusco o con líneas de color gris claro. La cubierta seminal envuelve al embrión, que posee dos cotiledones gruesos y aplanados conteniendo gránulos de aleurona, aceite graso y drusas de oxalato de calcio.

B - Características microscópicas - La epidermis del pericarpo está compuesta por una capa de células en empalizada poco coloreadas de cerca de 75 μm de longitud y 8 μm de diámetro, las que poseen las paredes tangenciales externas y radiales fuertemente engrosadas en forma de U invertida. La capa subepidérmica está formada por células parenquimáticas de paredes delgadas, las que alternan con grupos de células pigmentadas. Luego se observa el mesocarpo constituido por 8 capas de células parenquimáticas, alargadas siguiendo el eje longitudinal del fruto. Las células de la capa más interna de la pared del fruto pueden desintegrarse. En la semilla la epidermis de la testa está formada por células grandes, elongadas de 150 μm de longitud, dispuestas en empalizada, de color amarillo limón, de paredes estriadas y con lumen estrecho, algo ampliado en el extremo. Las células subepidérmicas poseen paredes punteadas y lignificadas. Por debajo hay una sola capa de células de paredes gruesas, algo hinchadas y con contenido lipofílico (resto de endosperma). Los cotiledones del embrión presentan células de paredes delgadas que, además de drusas de oxalato de calcio, contienen glóbulos de grasa y aleuronas.

C - Droga en polvo - El polvo es de color pardo amarillento. Se observan fragmentos de pericarpo con células epidérmicas en empalizada, poco coloreadas acompañadas de células pigmentadas y células epidérmicas en vista superficial, células del mesocarpo con paredes engrosadas reticuladas. Fragmentos de color amarillo limón de la testa de la semilla, porciones de cotiledón con células de paredes delgadas, que contienen cristales prismáticos y drusas de oxalato de calcio, sustancias lipofílicas y aleuronas.

D - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, acetona, ácido fórmico anhidro (75:16,5:8,5).

Solución estándar - Preparar una solución de Silibina SR-FA en metanol de aproximadamente 1,0 mg por ml.

Solución muestra - Extraer 1 g de la droga pulverizada (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*) con 50 ml de éter de petróleo, calentando bajo reflujo, durante 30 minutos. Descartar el extracto etéreo y extraer la droga con 10 ml de metanol, calentando bajo reflujo durante 15 minutos. Filtrar y concentrar a 5 ml.

Revelador 1 - Solución de difenilborinato de 2-aminoetilo al 1 % en metanol.

Revelador 2 - Solución de polietilenglicol 4.000 al 5 % en alcohol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 30 μl de la *Solución muestra* y 10 μl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore durante 30 minutos en una corriente de aire frío. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 1*. Dejar secar al aire, pulverizar sobre la placa con *Revelador 2*, dejar secar nuevamente al aire. Examinar el cromatograma bajo luz ultravioleta a 366 nm. El cromatograma de la *Solución estándar* debe presentar una banda de fluorescencia azul verdosa correspondiente a silibina con un valor de R_f de aproximadamente 0,6 y puede presentar una banda de fluorescencia similar correspondiente a silicristina con un valor de R_f de aproximadamente 0,35. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar dos bandas que se corresponden en posición y fluorescencia a las observadas en la *Solución estándar* y debe presentar

una banda anaranjada correspondiente a taxifolina con un valor de R_f de aproximadamente 0,4.

Cenizas insolubles en ácido (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No más de 1 %.

Cenizas totales (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No más de 8 %, determinado sobre 1,0 g de droga finamente pulverizada.

Control higiénico (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de aflatoxinas <110>

Debe cumplir con los requisitos.

Límite de metales pesados <590>

Método I. No más de 0,001 %.

Materia extraña (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No más de 2 %.

Pérdida por secado (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No debe perder más de 8,0 % de su peso.

Residuos de pesticidas (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Solución reactivo - Disolver 1,0 g de 2,4-dinitrofenilhidracina, previamente secada durante 8 horas en un desecador al vacío, en 2 ml de ácido sulfúrico. Diluir con metanol a 100 ml. Preparar esta solución en el momento de su uso.

Preparación estándar - Preparar una solución de Silibina SR-FA en metanol de aproximadamente 2,0 mg por ml.

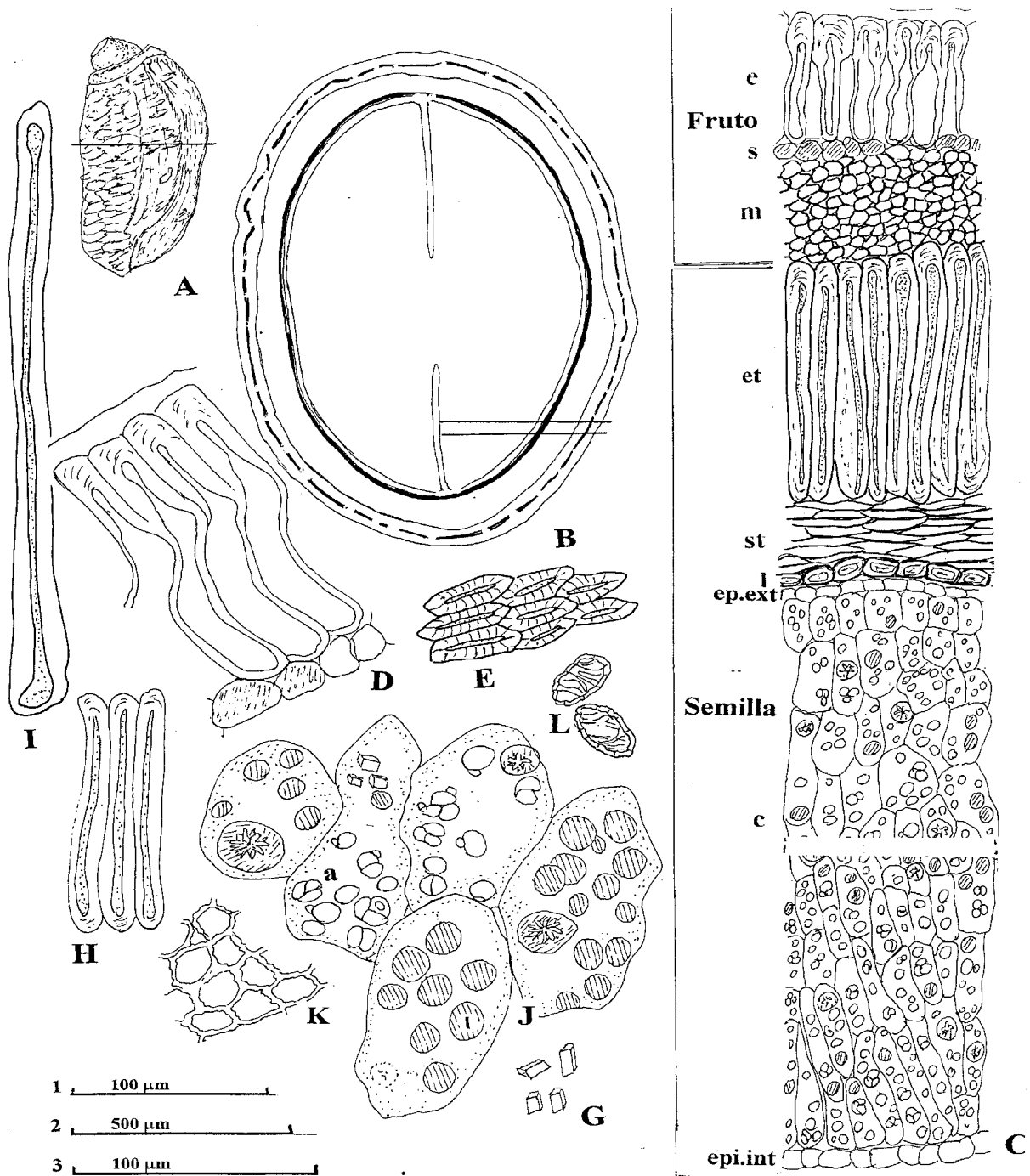
Preparación muestra - Transferir 5,0 g de Cardo Mariano pulverizado (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*) a un cartucho de extracción y cubrir con una torunda de algodón. Colocar el cartucho en un aparato de extracción continua (Soxhlet) equipado con un balón de 250 ml que contenga 150 ml de éter de petróleo. Calentar el balón en un manto calefactor durante 2 horas. Descartar el extracto etéreo y secar el cartucho hasta completa remoción del disolvente. Colocar el cartucho en otro aparato de extracción equipado con un balón de 250 ml que contenga 100 ml de acetato de etilo. Calentar el balón en una camisa calefactora con reflujo lento. Después de 4 horas de extracción, evaporar la solución de acetato de etilo en el balón aproximadamente a 40 °C bajo presión reducida en un evaporador rotatorio. Disolver el residuo en 25 ml de metanol,

transferir a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con metanol y homogeneizar.

Procedimiento - Transferir 1,0 ml de la *Preparación estándar* y 1,0 ml de la *Preparación muestra* a sendos matraces aforados de 10 ml. Agregar 2,0 ml de *Solución reactivo* a cada matraz y homogeneizar. Tapar los matraces y mantener a una temperatura de 50 °C, con agitación suave, durante 50 minutos. Enfriar los matraces, completar a volumen con metanol y mezclar. Transferir 2,0 ml de cada una de las soluciones a dos matraces aforados de 100 ml y agregar 3,0 ml de solución de hidróxido de tetrametilamonio en metanol recientemente preparada. Completar a volumen con metanol, mezclar y dejar en reposo durante 30 minutos. Determinar las absorbancias de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* a 490 nm, empleando metanol como blanco (ver 470. *Espectrofotometría de absorción ultravioleta y visible*). Calcular el contenido de silimarina como silibina en la porción de Cardo Mariano en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$5.000(C/P)(A_M/A_E)$$

en la cual C es la concentración en mg por ml de Silibina en la *Preparación estándar*, P es el peso en mg calculado sobre la sustancia seca de Cardo Mariano en la *Preparación muestra*, y A_M y A_E son las absorbancias de las soluciones obtenidas a partir de la *Preparación muestra* y *Preparación estándar*, respectivamente.



Silybum marianum (L.) Gaertner, A-L: A, fruto, morfología externa. B, sección transversal del fruto, según lo indicado en A, esquema. C, detalle de lo indicado en B. F, fruto. e, epidermis del fruto con células engrosadas en U invertida; s, subepidermis; m, mesocarpio. S, semilla. et, epidermis de la testa constituida por macroescleridas; st, subepidermis de la testa; l, estrato de células con restos lipofílicos (resto del endosperma). c, cotiledón. ep.ext, epidermis externa, ep.int, epidermis interna del cotiledón. D, fragmento de la pared del fruto con células engrosada en U invertida y grupo de células pigmentadas de la subepidermis. E, células de la epidermis del fruto, en vista superficial, con paredes fuertemente engrosadas. G, cristales prismáticos de oxalato de calcio. H, fragmento de la epidermis de la testa de la semilla. I, macroesclerida de la testa. J, fragmento del cotiledón constituido por células parenquimáticas conteniendo glóbulos de grasa, drusas de oxalato de calcio inmersas en una gota de aceite y granos de aleurona. K, células del mesocarpio, en sección transversal, con paredes engrosadas a modo de rosario. L, dos células del mesocarpio, vista en superficie, mostrando el engrosamiento reticulado de sus paredes. a, granos de aleurona; l, lípidos, las reglillas corresponden a: 1 a C; 2 a B; 3 a D-G.

CÁSCARA SAGRADA,

Corteza

Definición - Cáscara Sagrada es la corteza desecada de *Rhamnus purshiana* D.C. (Rhamnaceae), recogida por lo menos un año antes de ser empleada con fines medicinales. Debe contener no menos de 7,0 por ciento de derivados de hidroxiantraceno totales, calculados como cascarósido A, de los cuales no menos de 60 por ciento está constituido por cascarósidos, calculados como cascarósido A y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados, almacenados en un sitio fresco y seco.

ENSAYOS

Identificación

A - Características macroscópicas - Se presenta en piezas aplanadas o transversalmente curvas, ocasionalmente en rollos de longitud variable, con espesor de 1 a 5 mm. La superficie externa es de color pardo o pardo rojizo, con costillas alargadas longitudinales, con o sin placas de líquenes grisáceas o blancuzcas, en ocasiones con lenticelas transversalmente alargadas y eventualmente con musgo adherido. La superficie interna se presenta longitudinalmente estriada y de color pardo amarillento. La fractura es breve con proyecciones de haces de fibras floemáticas en la parte interna.

B - Características microscópicas - El corte transversal de la corteza muestra externamente tejido suberoso de color pardo amarillento a pardo rojizo de 10 o más hileras de células pequeñas; en la región media de la corteza se encuentran grupos de 20 a 50 células pétreas, tangencialmente alargadas, rodeados por una vaina parenquimática con prismas monoclinicos o drusas de oxalato de calcio; radios floemáticos de 1 a 4 células de ancho y 15 a 25 células de longitud, con frecuencia dispuestos en forma diagonal o curvada y convergen en la región del floema externo; fibras floemáticas en haces pequeños, rodeadas por una vaina parenquimática con prismas monoclinicos de oxalato de calcio, ubicados entre los radios del floema. El parénquima, con paredes de color pardo, contiene granos de almidón y cristales de oxalato de calcio.

C - Droga en polvo - Varía entre el color pardo amarillento claro a anaranjado amarillento oscuro. Muestra fibras floemáticas de 950 a 1.100 μm de largo por 16 a 24 μm de ancho que se presentan en haces fragmentados acompañados de vainas paren-

quimáticas, que contienen prismas monoclinicos de oxalato de calcio; células pétreas de paredes gruesas formando pequeños grupos; fragmentos de súber con coloración entre pardo rojizo y amarillo; masas de parénquima y células de radios del floema que se colorean de pardo rojizo a anaranjado al agregar una solución alcalina fuerte; granos de almidón esferoidales, de hasta 8 μm de diámetro; oxalato de calcio en prismas monoclinicos o drusas de 6 a 20 μm de diámetro, ocasionalmente hasta de 45 μm de diámetro.

D - Agregar a 100 mg de Cáscara Sagrada pulverizada 10 ml de agua destilada aproximadamente a 80 °C, agitar la mezcla ocasionalmente hasta que se enfríe. Filtrar. Diluir el filtrado con agua hasta 10 ml y agregar 10 ml de hidróxido de amonio 6 N. Se debe desarrollar color anaranjado o amarillo anaranjado.

E - Preparar una solución de ácido clorhídrico al 25 % empleando 70 g de ácido clorhídrico concentrado y llevando a 100 ml con agua. Calentar en un baño de agua durante 15 minutos 200 mg de Cáscara Sagrada pulverizada con 5 ml de agua. Dejar enfriar y filtrar. A 10 ml del filtrado, agregar 20 ml de ácido clorhídrico y calentar en un baño de agua durante 15 minutos. Dejar enfriar la solución y transferir a una ampolla de decantación; agitar con 3 porciones de 20 ml cada una de éter etílico. Conservar la fase acuosa (*Solución A*). Reunir las tres fases etéreas y agitar con 10 ml de amoníaco diluido. Se debe observar coloración rojo violeta en la fase acuosa. Agregar 5 g de cloruro férrico a la *Solución A* y calentar en un baño de agua durante 30 minutos. Dejar enfriar. Transferir la solución a una ampolla de decantación y agitar con 15 ml de éter etílico. Lavar la fase etérea con 5 ml de amoníaco diluido. Se debe observar color rojo en la fase acuosa.

F - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica:

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo, metanol y agua (100:13,5:10).

Solución estándar - Disolver 5 mg de aloína en 5 ml de alcohol al 70 % v/v.

Solución muestra - Calentar a ebullición 500 mg de polvo de Cáscara Sagrada, con 5 ml de metanol, dejar enfriar y centrifugar. Emplear el sobrenadante dentro de los 30 minutos siguientes.

Revelador 1 - Solución al 1 % de difenilborinato de 2-aminoetilo en metanol.

Revelador 2 - Solución al 5 % de polietilenglicol 4.000 en etanol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa, en bandas, 10 μl de la *Solución muestra* y 5 μl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplica-

ciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 1*. Dejar secar al aire, pulverizar sobre la placa con *Revelador 2*, dejar secar nuevamente al aire. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 366 nm. El cromatograma de la *Solución estándar* presenta una zona fluorescente amarilla correspondiente a barbaloina con un valor de R_f de aproximadamente 0,50. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar dos pares de bandas fluorescentes amarillas, correspondientes a cascarósidos A y B con un valor de R_f entre 0,10 y 0,15 y a cascarósidos C y D con un valor de R_f entre 0,20 y 0,25; una mancha menos intensa y con fluorescencia amarilla similar a la del cromatograma de la *Solución estándar* correspondiente a barbaloina y una banda fluorescente roja a la altura del frente del solvente debida a agliconas. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar, además, muchas zonas fluorescentes azul grisáceas situadas por debajo y encima de la zona que corresponde a la barbaloina con un R_f entre 0,35 y 0,75.

Cenizas totales (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No debe contener más de 7,0 %, determinado sobre 1,0 g de droga finamente pulverizada.

Control higiénico (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de aflatoxinas <110>

Debe cumplir con los requisitos.

Materia extraña (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No debe contener más de 2 %.

Pérdida por secado (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

Secar entre 100 y 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 10,0 % de su peso, determinado sobre 1,0 g de droga pulverizada

VALORACIÓN

[NOTA: llevar a cabo la *Valoración* protegido de la luz.]

Solución muestra - Transferir 1,0 g de Cáscara Sagrada a 100 ml de agua en ebullición y agitar. Mantener a ebullición durante 5 minutos con agitación constante. Dejar enfriar, transferir a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua, agitar y filtrar eliminando los primeros 20 ml de filtrado. Transferir 10 ml del filtrado a una ampolla de decan-

tación, agregar 0,1 ml de solución de ácido clorhídrico 1 N y extraer con dos porciones de 20 ml cada una de una mezcla de hexano y éter etílico (3:1). Reservar la fase acuosa. Reunir las fases orgánicas en otra ampolla de decantación y lavar con 5,0 ml de agua, desechar la fase orgánica y mezclar el agua de lavado con la fase acuosa reservada. Tratar esta solución con 4 porciones de 30 ml cada vez, de acetato de etilo recientemente saturado con agua (a 150 ml de acetato de etilo agregar 15 ml de agua; agitar durante 3 minutos y dejar reposar). Entre cada extracción, dejar reposar hasta que la fase orgánica se observe clara. Reunir las fracciones de acetato de etilo. Emplear la fase acuosa para la valoración de cascarósidos y la orgánica para valoración de heterósidos hidroxiantracénicos no cascarósidos.

Procedimiento -

A - Heterósidos hidroxiantracénicos no cascarósidos

Concentrar la fase orgánica, casi a sequedad, a una temperatura de aproximadamente 80 °C. Disolver el residuo en 0,5 ml de metanol. Transferir la solución a un matraz aforado de 50 ml y lavar el recipiente con 3 porciones de 10 ml de agua a 80 °C aproximadamente; agregar el agua de lavado a la solución metanólica. Dejar enfriar y completar a volumen con agua. Transferir 20 ml de esta solución a un balón de 100 ml, que contenga 2,0 g de cloruro férrico y 12 ml de ácido clorhídrico 1 N; ajustar un refrigerante al balón y someter a reflujo durante 4 horas, en un baño de agua. Dejar enfriar. Transferir la solución a una ampolla de decantación y lavar el balón sucesivamente con porciones de 4 ml de una solución de hidróxido de sodio 1 N y porciones de 4 ml de agua, transferir los líquidos de lavado a la ampolla. Extraer con tres porciones de 30 ml cada una de una mezcla de hexano y éter etílico (3:1). Reunir las fracciones orgánicas en otra ampolla de decantación y lavar con dos porciones de agua de 10 ml cada una y desechar los líquidos de lavado. Colocar la fase orgánica en un matraz aforado de 100 ml y llevar a volumen con la mezcla de hexano y éter etílico (3:1). Evaporar cuidadosamente a sequedad 20 ml de la solución en baño de agua a una temperatura de aproximadamente 60 °C. Disolver el residuo en 10 ml de una solución de acetato de magnesio al 0,5 % p/v en metanol. Medir la absorbancia a 515 y a 440 nm; la diferencia entre la absorbancia determinada a 515 nm y la absorbancia a 440 nm, no debe ser menor a 2,4. Si es menor a 2,4 se debe repetir la valoración empleando metanol como blanco.

Calcular el contenido en porcentaje de heterósidos hidroxiantracénicos, expresados como Cascarósido A, en la porción de Cáscara Sagrada en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$\frac{6.950A}{180p}$$

en la cual A es la absorbancia obtenida a 515 nm, p es el peso de Cáscara Sagrada en mg y 180 es el coeficiente de extinción específica E (1 %, 1 cm) de heterósidos hidroxiantracénicos (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*).

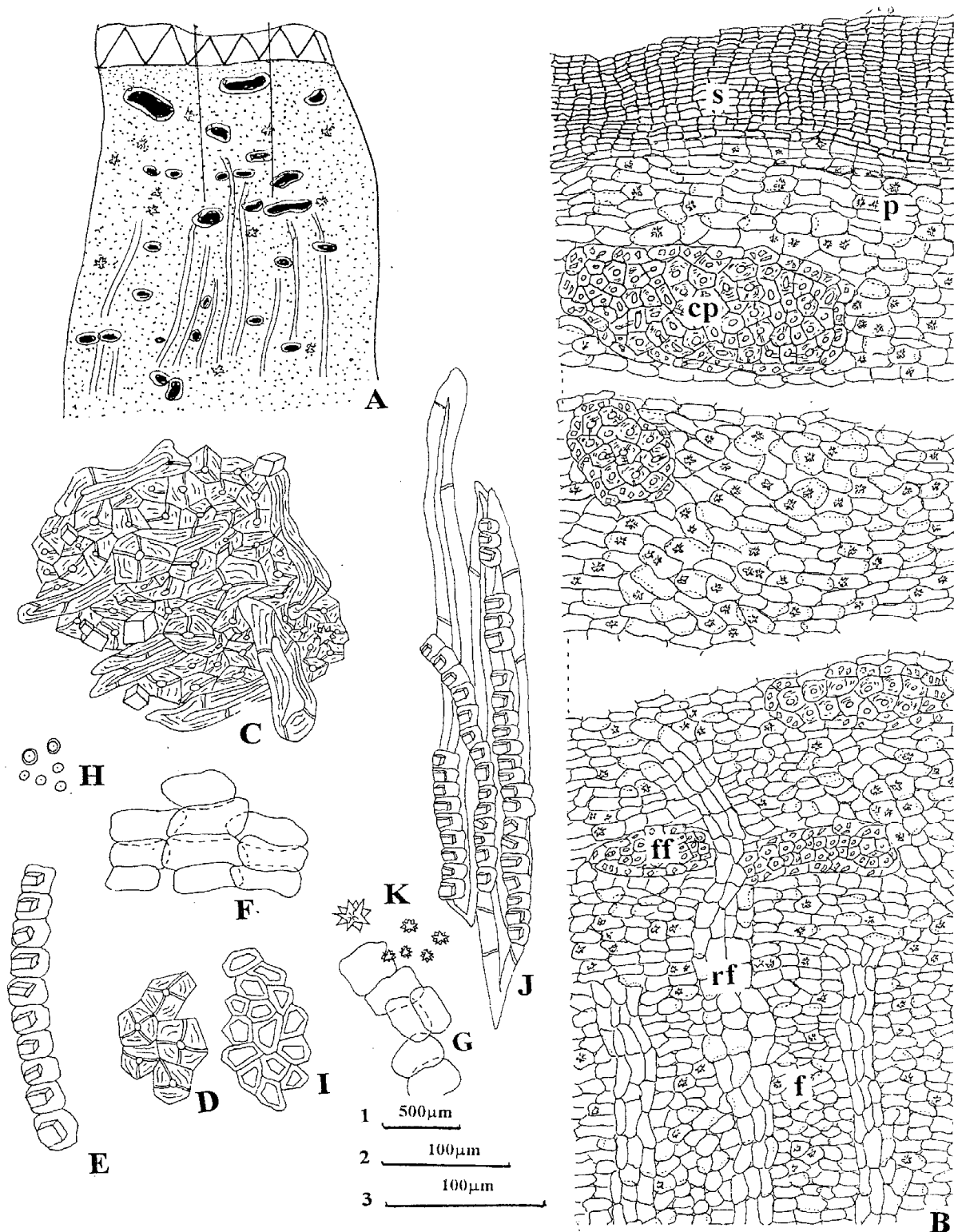
B - Cascarósidos

Transferir la fase acuosa a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con agua y proceder según se indica en *Valoración para Heterósidos hidroxiantracénicos no cascarósidos* comenzando donde dice "Transferir 20 ml de esta solución a un balón ...". Calcular el contenido en porcentaje de

heterósidos hidroxiantracénicos, expresados como cascarósido A, en la porción de Cáscara Sagrada en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$\frac{6.950A}{180p}$$

en la cual A es la absorbancia obtenida a 515 nm; p es el peso de Cáscara Sagrada en mg y 180 es el coeficiente de extinción específica E (1 %, 1 cm) de heterósidos hidroxiantracénicos (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*). Medir la absorbancia de la solución a 440 nm; la diferencia entre la absorbancia determinada a 515 nm y la absorbancia a 440 nm no debe ser menor a 2,7; si es menor la valoración debe repetirse.



Rhamnus prusiana DC, A-K: A, B, sección transversal de la corteza. A, esquema representativo. B, detalle de lo indicado en A. C, D, células pétreas. E, vaina parenquimática cristalífera. F, G, parénquima. H, almidón simple. I, súber. J, fibras floemáticas con vaina. K, oxalato de calcio. s, súber; p, parénquima; cp, células pétreas; ff, fibras floemáticas; f, floema; rf, radios del floema. Las reglillas corresponden a: 1 a A; 2 a B; 3, a C-K.

CASTAÑO DE INDIAS, semilla

Definición - Castaño de Indias está constituido por las semillas maduras y desecadas de *Aesculus hippocastanum* L. (Hippocastanaceae). Debe contener no menos de 3 por ciento de glicósidos triterpénicos calculados como escina y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados, en un sitio seco.

ENSAYOS

Identificación

A - Características macroscópicas - Semillas irregularmente ovoides o subesféricas, de 2 a 4 cm de diámetro. El tegumento de 2 mm de espesor es liso, de color pardo amarillento, generalmente lustroso con una gran mancha blanquecina correspondiente al hilo.

B - Características microscópicas - El tegumento está constituido por una epidermis de color pardo amarillento que en vista superficial presenta células poligonales con paredes engrosadas, que en sección transversal son columnares con paredes engrosadas y cutícula gruesa y lisa, compactas, orientadas radialmente constituyendo una empalizada. Por debajo de ellas se observan cuatro zonas distintas: la primera más externa constituida por varias capas de células de colénquima con paredes muy engrosadas de color pardo; la segunda zona presenta numerosas capas de células esclerenquimáticas, de paredes muy engrosadas, pigmentadas de color pardo amarillento, dispuestas tangencialmente, en esta capa se encuentran los haces vasculares; la tercera zona está constituida por 4 a 5 hileras de grandes células parenquimáticas, que poseen paredes delgadas y dejan amplios espacios intercelulares; la cuarta zona muestra varias hileras de células de paredes engrosadas de color pardo ubicadas tangencialmente. Los cotiledones presentan una epidermis uniestratificada que limita a un parénquima de grandes células que contienen granos de almidón y gotas lipídicas. Los granos de almidón son simples, esféricos, de 5 a 10 µm con hilo puntual o de 10 a 40 µm de diámetro irregulares, piriformes, ovoideos, con hilo estrellado y pocos granos compuestos de 2 a 4 unidades.

C - Droga en polvo - El polvo es de color castaño-amarillento con olor suave. Se observan fragmentos de epidermis con paredes fuertemente engrosadas, porciones de testa que en vista superficial muestran las paredes tangenciales uniformemente engrosadas y gran cantidad de parénquima pertene-

ciente a los cotiledones con granos de almidón característicos y gotas lipídicas.

D - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Emplear la fase superior de una mezcla de *n*-butanol, agua y ácido acético glacial (50:40:10).

Solución estándar - Preparar una solución de aproximadamente 10 mg de escina por ml de metanol.

Solución muestra - Calentar 2 g del polvo obtenido en *Valoración* a reflujo durante 10 minutos con 10 ml de alcohol 70 %, filtrar y evaporar hasta obtener un volumen de aproximadamente 5 ml.

Revelador - Anisaldehído sulfúrico (SR).

Procedimiento - Aplicar por separado en bandas, 10 µl de la *Solución estándar* y entre 25 y 40 µl de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara y dejar secar al aire. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar la placa entre 100 y 105 °C, durante 5 a 10 minutos. Examinar los cromatogramas bajo luz visible: el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe presentar una banda azul violácea correspondiente a escina similar en valor de R_f y color a la banda principal obtenida con la *Solución estándar*. Por encima de esta banda en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se deben observar varias bandas angostas, de color marrón a marrón rojizas menos intensas que la banda correspondiente a escina.

Cenizas totales (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No mayor a 4 %.

Control higiénico (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de aflatoxinas <110>.

Debe cumplir con los requisitos.

Límite de metales pesados <590>

Método I. No más de 0,001 %.

Materia extraña (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe contener más de 2 %.

Pérdida por secado (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe perder más de 10 % de su peso.

Residuo de pesticidas (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Determinación de glicósidos triterpénicos

Solución A - Metanol y agua (65: 35).

Solución B - Emplear la fase inferior de una mezcla de 30 ml de ácido clorhídrico 0,1 N, 20 ml de *n*-propanol y 50 ml de cloroformo.

Reactivo - Disolver 75 mg de cloruro férrico en 50 ml de ácido acético glacial. Agregar 50 ml de ácido sulfúrico mediante agitación. Dejar enfriar. [NOTA: preparar inmediatamente antes de su uso].

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de escina en ácido acético glacial, agitando durante 1 minuto. Hacer las diluciones necesarias hasta obtener soluciones de aproximadamente 0,2; 0,4 y 0,6 mg de escina por ml.

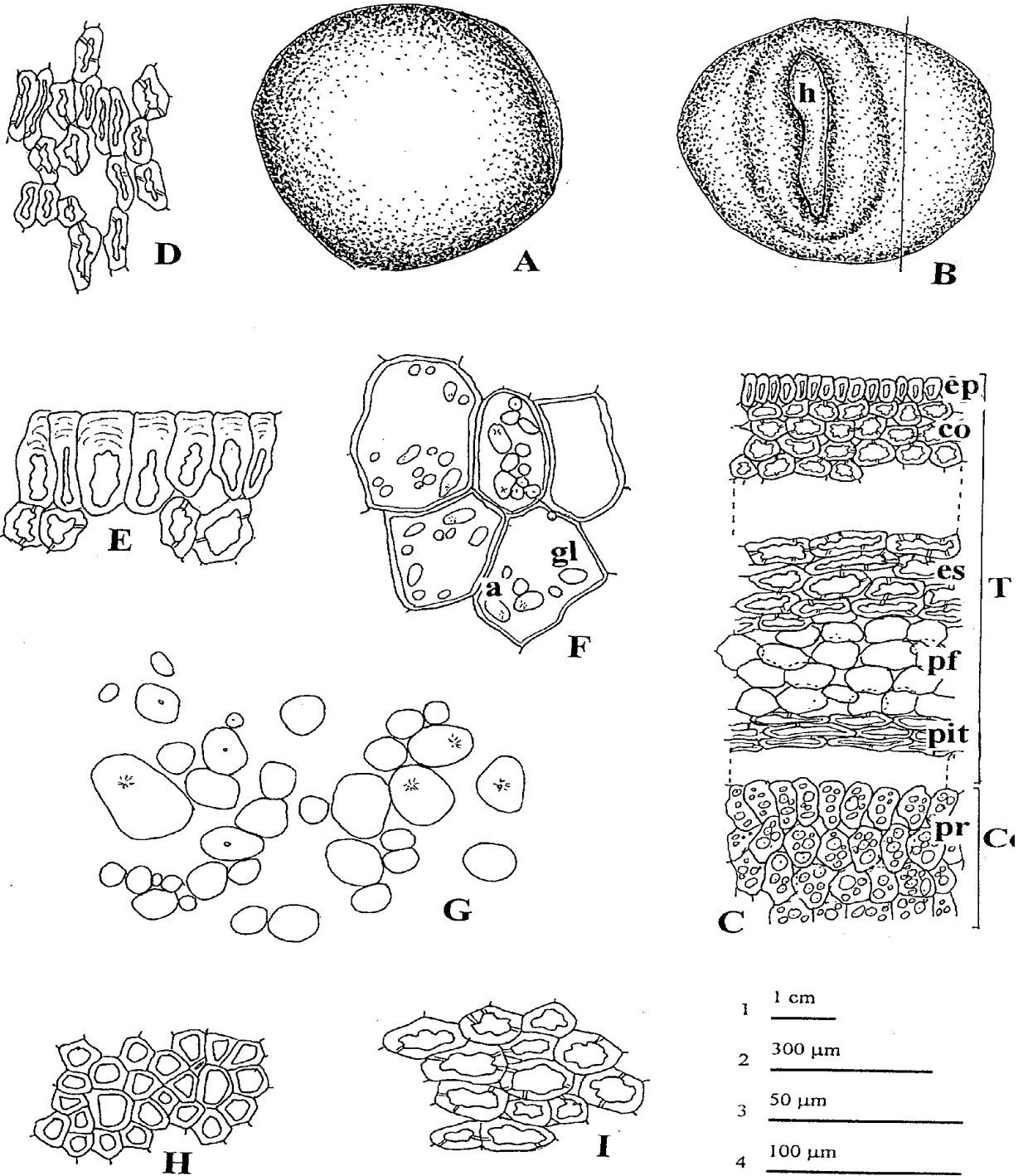
Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Semillas de Castaño de Indias reducidas a polvo y colocar en un balón de 250 ml. Agregar 100 ml de *Solución A*, pesar y llevar a reflujo durante 30 minutos y dejar enfriar. Ajustar al peso inicial mediante el agregado de *Solución A*, si fuera necesario, mezclar y filtrar. Transferir 30,0 ml del filtrado a un balón y evaporar a sequedad a presión reducida. Disolver el residuo con 20 ml de ácido clorhídrico 0,1 N y transferir a una ampolla de decantación de 250 ml, lavando con dos porciones de 5 ml de ácido clorhídrico 0,1 N. Agregar 20 ml de *n*-propanol y 50 ml de cloroformo y agitar durante 2 minutos. Separar la fase clorofórmica. Agregar *Solución B* a la fase superior remanente en la ampolla. Agitar durante 2 minutos

y separar la fase clorofórmica. Combinar las fases clorofórmicas en un balón y evaporar a sequedad. Lavar el residuo con dos porciones de 10 ml de éter, filtrar, lavar el filtro con 10 ml de éter y descartar estos filtrados. Agregar al residuo una alícuota de 10 ml de ácido acético glacial y transferir a través de un filtro previamente usado y secado, a un matraz aforado de 50,0 ml. Repetir dos veces la adición de ácido acético glacial seguida por filtración y combinar los filtrados en el matraz. Lavar el balón con pequeñas cantidades de ácido acético glacial y transferir a través del filtro al matraz. Completar a volumen con ácido acético glacial.

Procedimiento - Transferir 1,0 ml de cada una de las diluciones de la *Preparación estándar*, *Preparación muestra* y ácido acético glacial a tubos de ensayo. Agregar 4,0 ml de *Reactivo* a cada tubo, tapar los tubos, colocar en un baño de agua a 60 °C durante 25 minutos y agitar ocasionalmente. Medir las absorbancias a 540 nm de la *Preparación muestra* y de las diluciones de la *Preparación estándar* empleando el ácido acético glacial como blanco. Graficar las absorbancias obtenidas de las diluciones de *Preparación estándar* versus las concentraciones en mg por ml de escina en la correspondiente dilución de la *Preparación estándar*. Del gráfico así obtenido determinar la concentración *C* en mg por ml de glicósidos triterpénicos como escina en la *Preparación muestra*. Calcular el porcentaje de glicósidos triterpénicos en la porción de Castaño de Indias en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$50/3(C/P)$$

en la cual *C* es la concentración en mg por ml de glicósidos triterpénicos en la *Preparación muestra* y *P* es el peso en g de Castaño de Indias en ensayo.



Aesculus hippocastanum L. – A-B, representación esquemática de la semilla. A, en vista abaxial; B, en vista adaxial mostrando el hilo, h; C, detalle de la sección transversal de la semilla según lo indicado en B, T, tegumento co, colénquima, es, esclerenquima, ep, epidermis, pf parénquima fundamental, pit, parénquima interno del tegumento; Co, cotiledán, pr, parénquima de reserva de los cotiledones. D-I droga en polvo. D, detalle de la epidermis del tegumento en vista superficial; E, detalle de la epidermis del tegumento; F, células parenquimáticas con granos de almidón, a y gotas lipídicas, gl; G, granos de almidón; H, células esclerenquimáticas; I, células colenquimatosas. Las reglillas corresponden 1 a A, B; 2 a C; 3 a G; 4 a D, E, F, H, I.

CEDRÓN, hoja

Definición - Cedrón está constituido por hojas enteras o fragmentadas de *Aloysia citriodora* Palau (Verbenaceae). La droga entera debe contener no menos de 0,20 por ciento de aceite esencial. La droga fragmentada debe contener no menos de 0,15 por ciento de aceite esencial. Cedrón debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos bien cerrados, en sitio fresco y seco.

ENSAYOS

Identificación

A - Características macroscópicas - Hojas enteras, con borde ligeramente aserrado, lanceoladas, de ápice acuminado, de 4 a 12 cm de longitud y 1 a 2,5 cm de ancho, brevemente pecioladas, ásperas al tacto y quebradizas. Cara superior de color verde oliva y cara inferior más clara. Nervadura media prominente en la cara inferior y con numerosas nervaduras secundarias, notablemente paralelas entre sí. Posee aroma cítrico característico y sabor ligeramente dulzaino.

B - Características microscópicas - En vista superficial se observa una epidermis superior con células poliédricas, de paredes anticlinales mas bien rectas, cutícula lisa, y pelos unicelulares, verrucosos, silicificados, cistolíticos, adpresos, rodeados de una roseta de alrededor de 8 células poligonales, las que contienen cada una un cistolito de carbonato de calcio, y de pelos unicelulares de paredes gruesas, verrucosos, en forma de colmillo. Los pelos glandulares pueden ser con una célula basal, una de pie y una cabeza secretora unicelular y pelos glandulares sésiles con cabeza unicelular. La epidermis inferior presenta células de paredes anticlinales sinuosas, con tricomas similares a los descriptos, pero en mayor cantidad, con estomas elevados de tipo anomocítico y cutícula estriada sobre las nervaduras. El corte transversal pone de manifiesto a ambas epidermis uniestratificadas. El mesófilo es dorsiventral con 1 a 2 hileras de parénquima en empalizada y 3 a 4 hileras de parénquima esponjoso. En la región del nervio medio, se observa colénquima angular en relación con ambas epidermis. El haz vascular es colateral, con floema hacia ambas caras.

C - Droga en polvo - Polvo color verde claro. Muestra fragmentos de epidermis superior sin estomas y de epidermis inferior con estomas, pelos con los caracteres ya descriptos y fragmentos de nervaduras.

D - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno y acetato de etilo (96:4).

Solución estándar - Transferir 0,1 ml de citral a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con etanol.

Solución muestra - Transferir 0,1 ml de la porción de aceite esencial obtenida en *Valoración* a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con etanol.

Revelador - Anisaldehído sulfúrico (SR).

Procedimiento- Aplicar por separado 5 µl de la *Solución estándar* y 5 µl de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara y dejar secar a temperatura ambiente. Examinar la placa bajo la luz ultravioleta a 254 nm. La banda mayoritaria en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser similar a la obtenida con la *Solución estándar*, correspondiente al citral. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar entre 5 a 10 minutos a una temperatura comprendida entre 100 y 105 °C. Examinar la placa bajo luz natural. La banda mayoritaria de color violeta grisáceo en el cromatograma obtenido con la *Solución muestra* debe ser similar en valor de R_f y color a la obtenida con la *Solución estándar*.

Cenizas totales (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe contener más de 10 %.

Control higiénico (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de aflatoxinas <110>

Debe cumplir con los requisitos.

Materia extraña (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe contener más de 2 %.

Pérdida por secado (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe perder más de 11 %.

Aceites esenciales y perfil cromatográfico

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de gases con un detector de ionización a la llama, un inyector de flujo dividido (1:100) y una columna capilar de 30 m × 0,25 mm de sílice fundida recubierta con fase estacionaria constituida por polietilenglicol de peso molecular aproximadamente 20.000 y de 0,25 µm de espesor. Mantener la temperatura de columna a 60 °C durante 10 minutos y programar un aumento de 2 C

por minuto hasta alcanzar 180 °C y mantener a esta temperatura durante por lo menos 5 minutos. Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 220 °C. Se debe emplear nitrógeno como gas transportador y la velocidad lineal debe ser aproximadamente 35 cm por segundo.

Solución estándar - Disolver 100 mg de limoneno, 100 mg de eucaliptol, 200 mg de citral y 100 mg de citronelal en 5 ml de ciclohexano.

Solución muestra - Emplear una porción de aceite esencial obtenida en ciclohexano en *Valoración*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos correspondientes a limoneno y eucaliptol no debe ser menor de 1,5 y el número de platos teóricos calculado a partir del pico de limoneno debe ser mayor de 30.000.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 1 µl) de la *Solución estándar* y de la *Solución muestra*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los todos los picos. Determinar los tiempos de retención relativos al pico de geranial y determinar el contenido en porcentaje de cada uno de los constituyentes por el método de normalización porcentual.

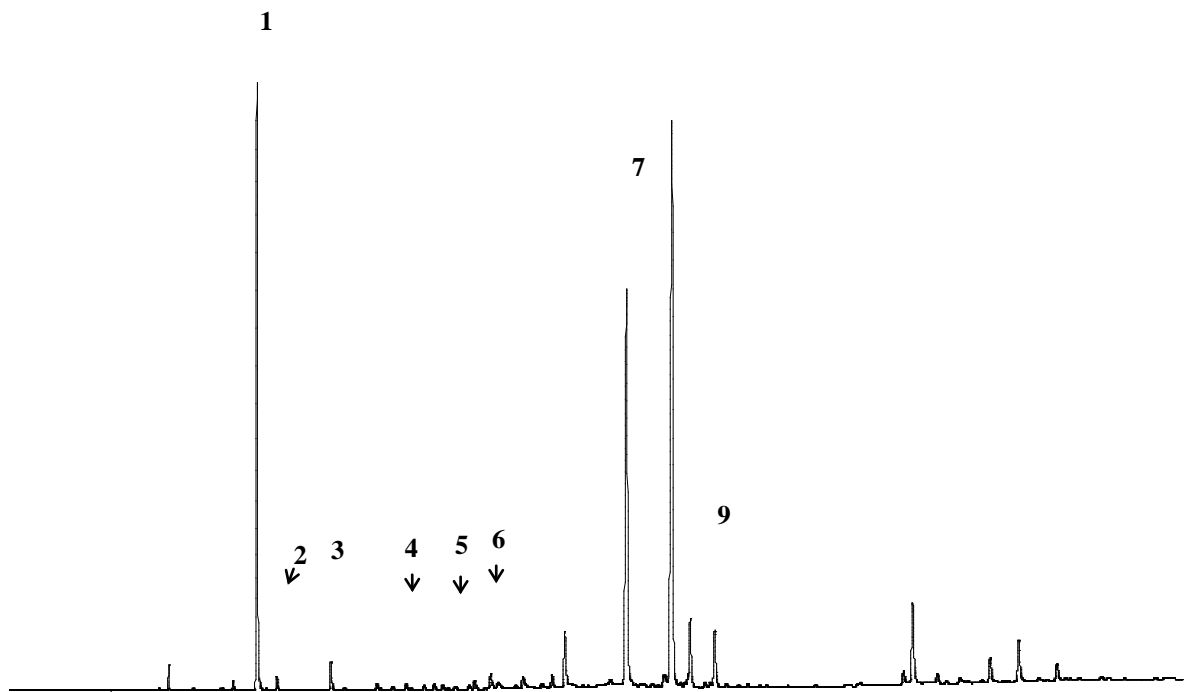
Los contenidos en porcentaje de aceites esenciales son los indicados en la siguiente tabla:

Aceites esenciales	Contenido (%)
Limoneno	Entre 10 y 30 %
Eucaliptol	Menor de 1,0 %
Metil heptenona	Menor de 3,5 %
<i>cis</i> -tuyona + <i>trans</i> -tuyona	Menor de 0,5 %
Citronelal	Menor de 0,5 %
Neral	Entre 14 y 27 %
Geranial	Entre 17 y 36 %
<i>ar</i> -Curcumeno	Mayor de 1,0%

VALORACIÓN

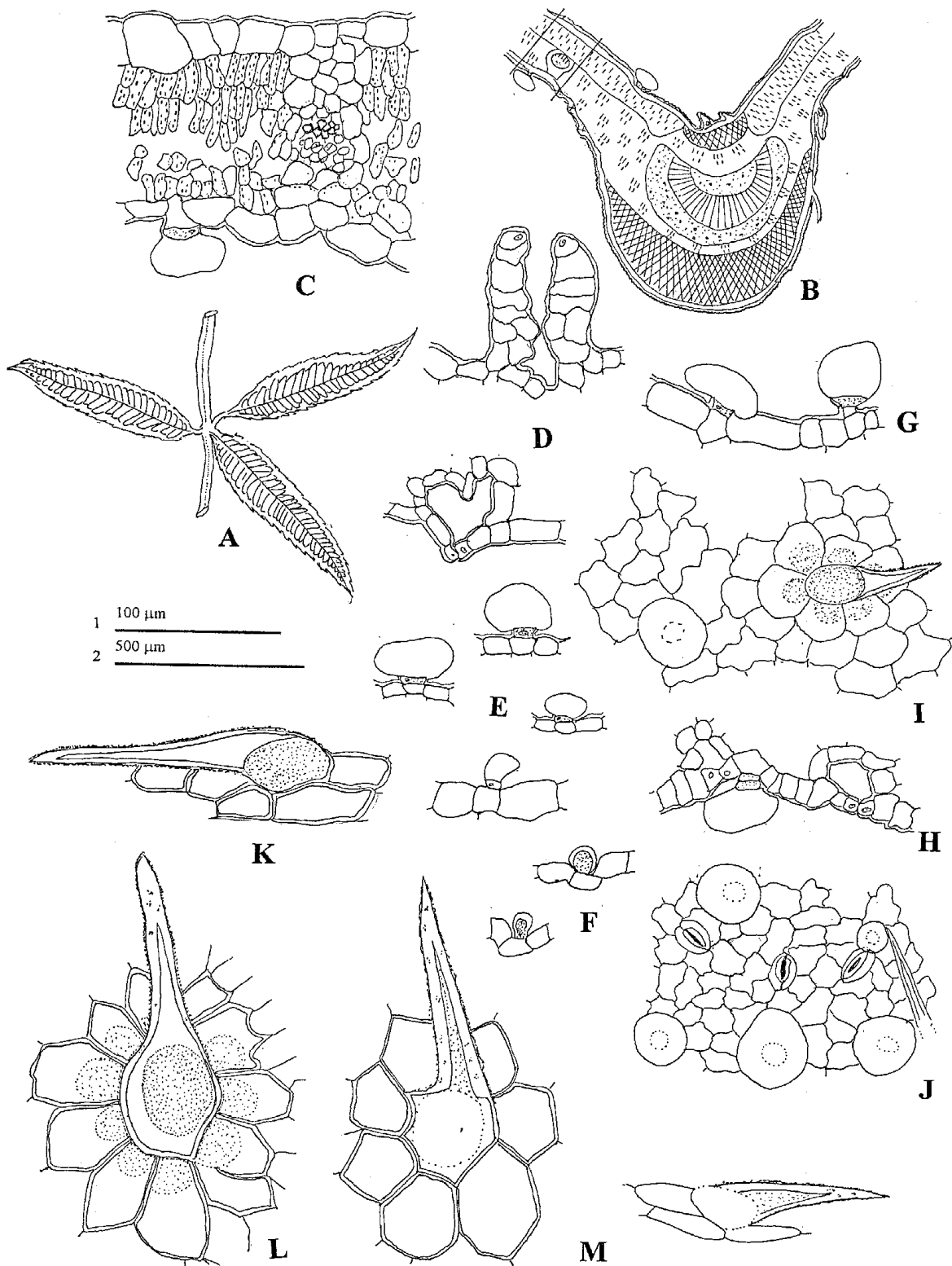
Pesar 25,0 g de Cedrón recientemente reducido a polvo y transferir a un balón de 1 litro. Destilar con 300 ml de agua y 0,5 ml de ciclohexano en el tubo graduado, a una velocidad de 2 a 3 ml por minuto durante 2 horas. (ver *Determinación de aceites esenciales* en 630. *Métodos de farmacognosia*)

8



- | | |
|--------------------------------|--------------------------------|
| 1. Limoneno (0,37) | 6. Citronelal (0,66) |
| 2. Eucaliptol (0,40) | 7. Neral (0,93) |
| 3. Metil heptenona (0,48) | 8. Geranial |
| 4. <i>cis</i> -tuyona (0,60) | 9. <i>ar</i> -Curcumeno (1,06) |
| 5. <i>trans</i> -tuyona (0,62) | |

Perfil cromatográfico tipo del aceite esencial de Cedrón.



Aloysia citriodora Palau, A-M: A, morfología externa del vástago. B-H: sección transversal: B-C: lámina de la hoja; B, nervio medio, esquema; C, detalle del semilimbo según lo indicado en B. D, estomas sobre elevados. E-F: pelos glandulares: E, con una células basal, una de pie y cabeza unicelular; F, sésiles con cabeza unicelular. G-H: epidermis: G, superior; H, inferior. I-M vista superficial: I-J: epidermis, I, superior; J, inferior. K-M: pelos no glandulares: K, cistolítico, simple, punzante, verrucoso, del borde de la lámina; L, cistolítico, simple, verrucoso con una roseta de células basales conteniendo, cada una, un cistolito, presentes en ambas epidermis. M, pelo en forma de colmillo, presente en ambas epidermis.

CENTELLA, hierba

Definición - Centella está constituida por las partes aéreas desecadas de *Centella asiatica* (L.) Urban (*Hydrocotyle asiatica* L.) (Apiaceae). Centella debe contener no menos de 2,0 por ciento de asiaticósido calculado sobre la droga seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados, en un sitio fresco.

ENSAYOS

Identificación

A - *Características macroscópicas.* Planta herbácea, estolonífera, polimorfa. Las hojas son simples, pecioladas, la lámina es ovada a orbicular-reniforme, de 1,5 a 7 cm de ancho y de 1 a 6 cm de largo, palmatinervia con 5 a 9 nervaduras principales que convergen en hidátodos. Ápice redondeado, obtuso a truncado y margen crenado. Pecíolos fistulosos de hasta 15 cm de longitud, ensanchados en la base, con estípulas de color castaño verdoso a castaño rojizo. En la cara superior y en la inferior de la lámina y en el pecíolo de hojas jóvenes presenta una lanosidad de color pardo a rojizo, que se restringe a las nervaduras. Flores pequeñas, de aproximadamente 2 mm, de color blanco a rosado pálido reunidas en umbelas simples, por lo general en número de 3 a 5 con pedúnculo generalmente corto, de color blanco a rosado pálido. Fruto orbicular, diaquenio, tan ancho como largo, comprimido lateralmente, con 7 nervaduras por mericarpo, pericarpo muy grueso, reticulado, de color pardo oscuro. Semillas comprimidas y pequeñas.

B - *Características microscópicas.* En vista superficial la epidermis superior presenta células poligonales de paredes rectas, estomas sobreelevados, de tipo paracítico y en menor proporción anisocítico, cutícula estriada; la epidermis inferior similar a la descripta pero con células de mayor tamaño. Ambas epidermis presentan pelos simples, uniseriados, retorcidos, generalmente con 2 a 3 células, escasos en la epidermis superior. En sección transversal ambas epidermis están constituidas por células rectangulares, tangencialmente aplanadas, alternando con células cuadrangulares papilosas. El mesófilo presenta estructura dorsiventral con 1 a 3 hileras de células en empalizada y 6 a 7 capas de parénquima esponjoso constituido por células alargadas tangencialmente que dejan amplios espacios intercelulares; en ambos parénquimas se observan drusas de oxalato de calcio. El colénquima se presenta en ambas caras reforzando el nervio medio, que está constituido por un haz cola-

teral. Rodeando la nervadura media se distingue un número variable de canales secretores. El pecíolo muestra contorno circular, algo aplanado, con dos aristas opuestas en la cara superior, separadas por una pequeña región levemente cóncava, que le confiere un aspecto canaliculado. La epidermis presenta células cuadrangulares, algo papilosas, con estomas y tricomas similares a los de la epidermis de la lámina, la cutícula es delgada y estriada; en posición subepidérmica se observan 2 a 3 hileras de colénquima y hasta 5 en las aristas, luego clorénquima con 7 haces vasculares colaterales dispuestos en círculo, separados por parénquima en el que se observan drusas de oxalato de calcio, también se observan canales secretores. Cada arista lleva un haz vascular pequeño, reforzado por fibras del lado del floema.

C - *Droga en polvo.* Polvo verde grisáceo, olor levemente aromático y sabor ligeramente amargo. Se observan fragmentos de epidermis con células poligonales, estomas paracíticos, pelos muy delgados, largos y retorcidos; porciones de parénquima con drusas de oxalato de calcio; grupos de fibras y fragmentos de nervadura con vasos leñosos estrechos anillados.

D - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica:

Fase Estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Butanol, 2-propanol, agua, alcohol y amoníaco concentrado (30:30:20:5:1) [NOTA: preparar inmediatamente antes de su uso].

Solución estándar - Disolver 20 mg de asiaticósido en 10 ml de metanol.

Solución muestra - Reducir a polvo fino una porción de Centella, pesar exactamente alrededor de 5 g, transferir a un extractor tipo soxhlet, y extraer con metanol durante 4 horas. Filtrar, transferir el extracto a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con metanol.

Revelador - Anhídrido acético y ácido sulfúrico (9:1).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 μ l y 10 μ l de *Solución muestra* y de *Solución estándar*. Desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar de la cámara, marcar el frente de solvente y secar bajo corriente de aire caliente. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*, calentar en estufa entre 100 y 110 °C durante 20 minutos y examinar a la luz natural. El cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar* debe presentar una mancha de color violeta con un R_f de aproximadamente 0,40. La *Solución muestra* debe pre-

senta dos manchas de color violeta con valor de R_f relativo de 1 y 0,90, de las cuales la de mayor R_f corresponde al asiaticósido.

Cenizas totales (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No más de 12 %.

Control higiénico (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de aflatoxinas <110>

Debe cumplir con los requisitos.

Materia Extraña (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No más de 2 %.

Pérdida por secado (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe perder más de 11 %.

Residuos de pesticidas (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACION

Sistema cromatográfico - Emplear un cromatógrafo de líquidos equipado con detector ultravioleta ajustado a 210 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice porosa de 5 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 0,8 ml por minuto. Programar el cromatógrafo del siguiente modo:

Tiempo (min)	Solución A (%)	Solución B (%)
0	75	25
75	52	48

Solución A - Agua y ácido fosfórico (99,5: 0,5).

Solución B - Acetonitrilo.

Fase móvil - Emplear mezclas variables de *Solución A* y *Solución B* según se indica en *Sistema cromatográfico*. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

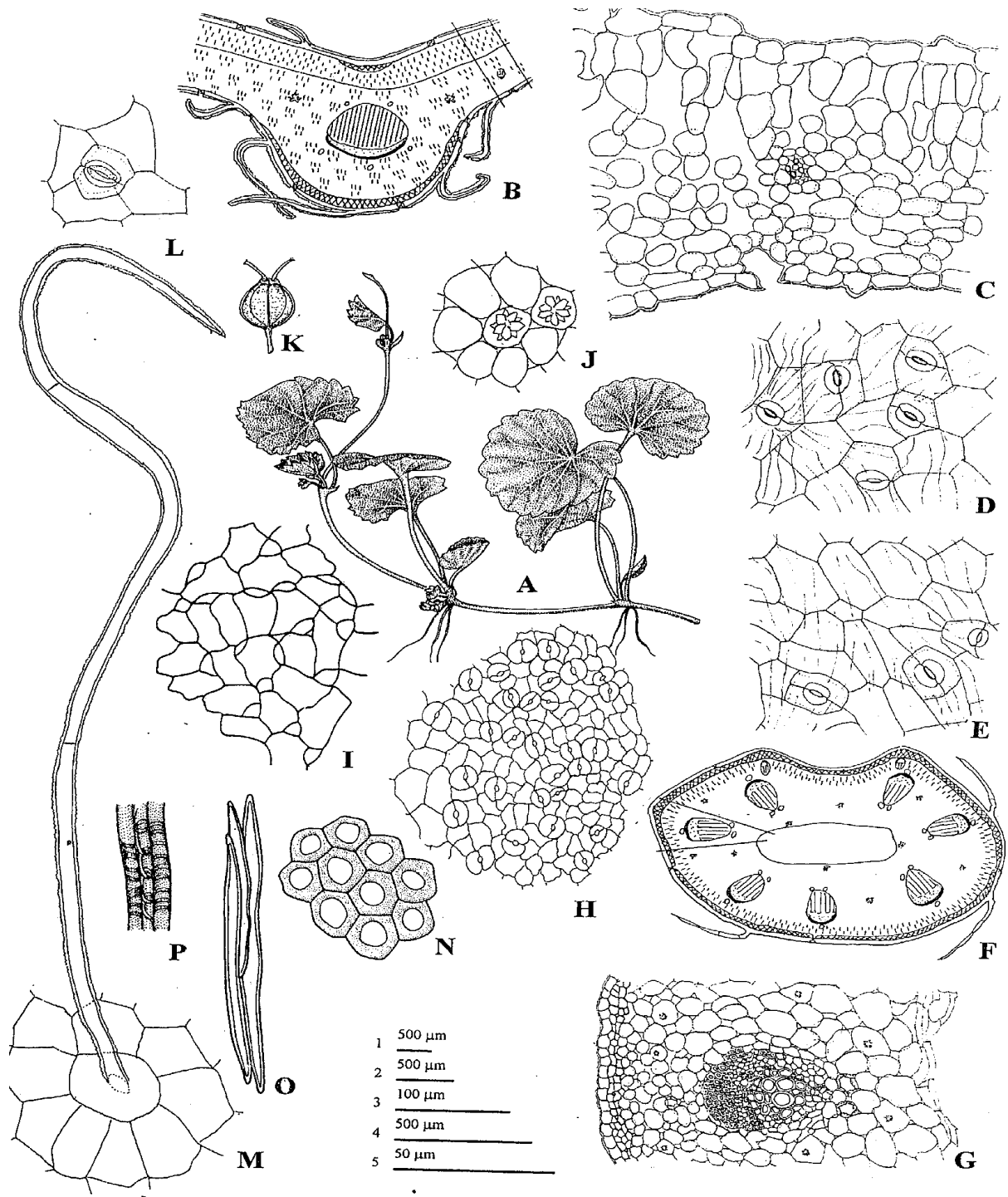
Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de asiaticósido, transferir a un matraz aforado de 10 ml. Agregar 5 ml de metanol, agitar hasta disolver y completar a volumen con el mismo solvente.

Preparación muestra - Reducir aproximadamente 50 g de Centella a polvo fino, pesar exactamente alrededor de 5,0 g y realizar una extracción empleando un extractor tipo soxhlet con 100 ml de metanol durante 4 horas. Filtrar, transferir el extracto obtenido a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con el mismo solvente y filtrar.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 μl) de *Preparación estándar* y de la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir la respuesta de los picos correspondientes a asiaticósido. Calcular la cantidad en porcentaje de asiaticósido en la porción de Centella en ensayo con la fórmula siguiente:

$$1.000(P_E/P_M)(r_M/r_E)$$

en la cual r_M y r_E son las respuestas de los picos de asiaticósido en la *Preparación muestra* y en la *Preparación estándar*, respectivamente, y P_M y P_E son los pesos en g de la porción de Centella en ensayo y de asiaticósido en la *Preparación estándar*, respectivamente.



Centella asiatica (L.) Urban A-P: A, planta, exomorfología. Sección transversal: B-C: lámina foliar, B, esquema de la zona del nervio medio; C, detalle del semilimbo según lo indicado en B. F-G: pecíolo, F, esquema; G, detalle según lo indicado en F. Vista superficial: D-E, epidermis; D, superior; E, inferior. H-M, *Droga en polvo*, H, porción de hoja con hidatodo; I, fragmento de aerénquima; J, grupo de células parenquimáticas con drusas de oxalato de calcio; K, fruto ; L, porción de epidermis con estoma paralítico; M, pelo; *Tallo disociado*: N-O, fibras: N en sección transversal; O, longitudinal; P, vasos anillados. Las reglillas corresponden a 1 a G; 2 a F; 3 a C, D, E, I, J, L, M, N, O, P; 4 a B, H; 5 a L.

COLA, nuez de

Definición - Nuez de Cola es la semilla privada del tegumento, entera o en trozos, desecada, de *Cola nitida* (Vent.) Schott et Endl. (*C. vera* K. Schum.) y de sus variedades, así como de *Cola acuminata* (P. Beauv.) Schott et Endl. (*Sterculia acuminata* P. Beauv.) (Sterculiaceae). Nuez de Cola debe contener no menos de 1,5 por ciento de cafeína, calculado sobre la droga seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos bien cerrados, en un sitio seco.

ENSAYOS

Identificación

A - Características macroscópicas - Semillas oblongas, más o menos obtusas, subtetrágonas, deformadas por presión recíproca en el fruto; de tamaño y peso variable, entre 5 y 15 g. La parte externa es dura, de superficie lisa, de color marrón muy oscuro; la parte interna es de color pardo rojizo. En *C. nitida* y sus variedades, las semillas se hallan divididas en dos partes plano-convexas correspondientes a los cotiledones (media cola). Los cotiledones miden de 3 a 4 cm de largo, de 2 a 2,5 cm de ancho y de 1 a 2 cm de espesor. En *C. acuminata* los cotiledones son de menor tamaño que en *C. nitida*, y se hallan divididos en cuatro a seis partes irregulares (cuartos de cola).

B - Droga en polvo - Polvo pardo claro o pardo amarillento, inodoro, de sabor ligeramente astringente. Presenta numerosos granos de almidón ovoides, esféricos, reniformes o irregulares de 5 a 25 μm (hasta 45 μm) de diámetro, con estrías concéntricas y con hilo en forma de estrella, ligeramente excéntrico; fragmentos del tejido de los cotiledones con células poligonales, de paredes gruesas, rojizas, con granos de almidón; fragmentos de la epidermis de los cotiledones y vasos espiralados y punteados del xilema.

C - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta de gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Agua, acetato de etilo y metanol (10:77:13).

Solución estándar A - Disolver 25 mg de cafeína en 10 ml de alcohol al 60 %.

Solución estándar B - Disolver 50 mg de teobromina en 10 ml de *Fase móvil*.

Solución muestra - Reducir a polvo fino 1,0 g de Nuez de Cola, realizar una extracción con 5,0 ml de alcohol al 60 % a 40 °C, con agitación continua, durante 30 minutos.

Revelador I - Alcohol y ácido clorhídrico concentrado (1:1).

Revelador II - Preparar inmediatamente antes de su uso una solución de 1,0 g de iodo y 1,0 g de ioduro de potasio en 100 ml de alcohol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa, 20 μl de *Solución muestra*, 20 μl de *Solución estándar A* y *B*. Desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente las tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa, marcar el frente de solvente y dejar secar durante 5 minutos en una corriente de aire. Examinar el cromatograma bajo luz ultravioleta a 254 nm. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar dos bandas principales que se corresponden en posición con las bandas observadas en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar A* y la *Solución estándar B*. Pulverizar sobre la placa *Revelador I*, y a continuación *Revelador II*. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar una banda principal pardo rojiza, que se corresponde en posición y color con la banda observada en el cromatograma de la *Solución estándar A*.

Cenizas totales (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No más de 9,0 %.

Control higiénico (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de aflatoxinas <110>

Debe cumplir con los requisitos.

Límite de metales pesados <590>

Método 1. No más de 0,001 %.

Materia extraña (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe contener materias extrañas.

Pérdida por secado (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Secar en estufa entre 100 a 105 °C, durante 2 horas, 2,0 g de Nuez de Cola previamente pulverizada. No debe perder más de 12 %.

Residuo de pesticidas (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 272 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm, con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Agua y metanol (75:25). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 30 mg de *Cafeína* y 15 mg de teobromina, transferir a un matraz de 100 ml, agregar cantidad suficiente de *Fase móvil* y agitar hasta disolver. Completar a volumen con *Fase móvil* y mezclar. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con el mismo solvente.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Nuez de Cola previamente reducida a polvo fino, transferir a un recipiente adecuado y agregar 50 ml de metanol. Calentar a reflujo en baño de agua durante 30 minutos, enfriar a temperatura ambiente y filtrar. Lavar el filtro con 10 ml de metanol y retomar el residuo con 50 ml de metanol y repetir la operación anterior. Reunir los

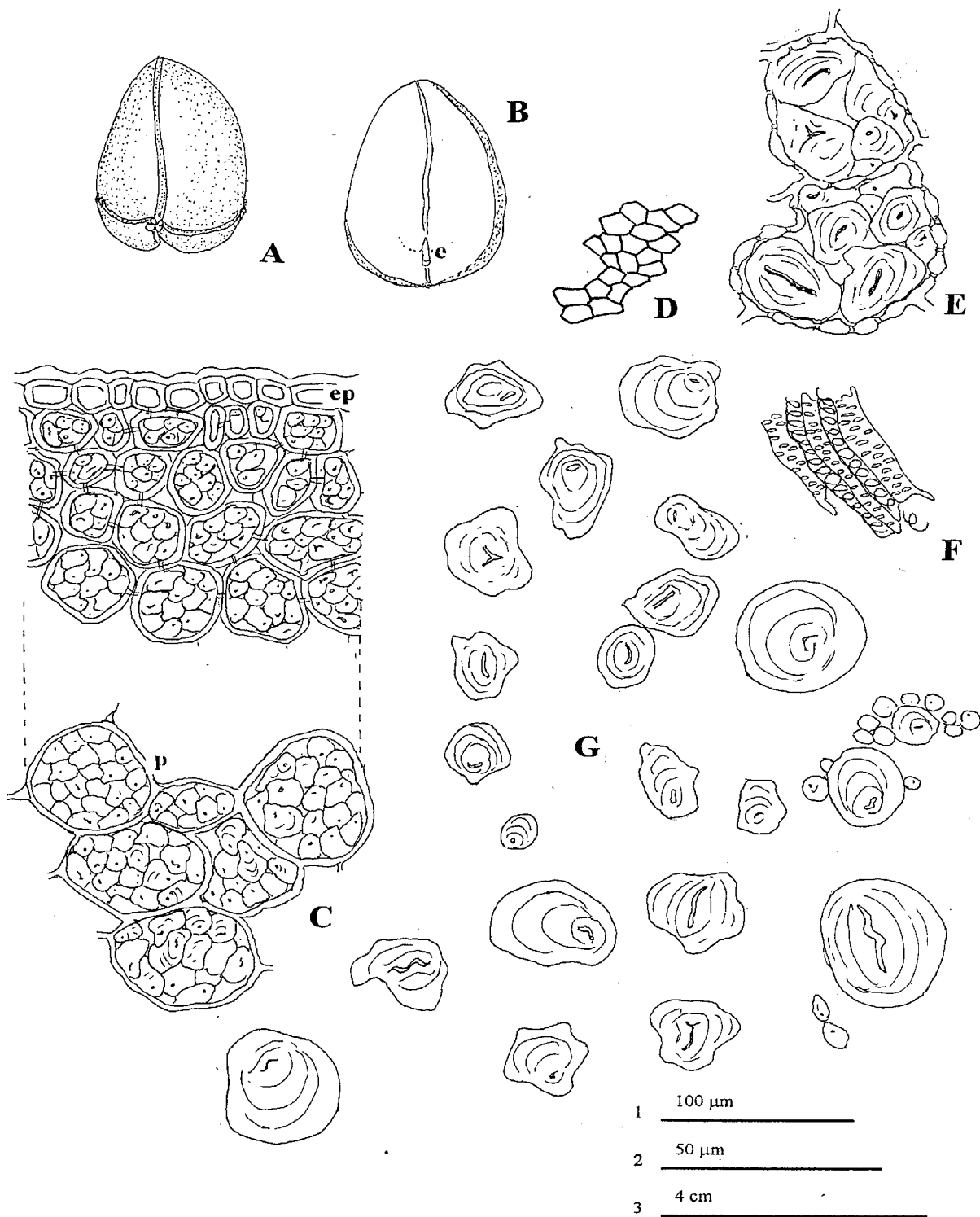
filtrados y las soluciones de lavado en un matraz aforado de 200 ml y completar a volumen con metanol. Transferir 20 ml de esta solución a un balón y evaporar hasta sequedad a presión reducida. Disolver el residuo con *Fase móvil*, transferir a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con *Fase móvil*.

Aptitud del sistema - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de cafeína y teobromina debe ser mayor de 2,5. Si fuera necesario, ajustar el volumen de agua en la proporción de *Fase móvil*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales de *Preparación estándar* y de *Preparación muestra*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos correspondientes a cafeína. Calcular el porcentaje de cafeína en la porción de Nuez de Cola, por la fórmula siguiente:

$$50(P_E/P_M)(r_M/r_E)$$

en la cual r_M y r_E son las respuestas de los picos correspondientes a cafeína en el cromatograma obtenido con la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, respectivamente, P_M es el peso en g de Nuez de Cola en la *Preparación muestra* y P_E es el peso en g de *Cafeína* en la *Preparación estándar*.



Cola nitida (Vent.) Schott et Endl., A-G: A-B, morfología: A, semilla entera; B, la misma cortada longitudinalmente mostrando el embrión. C, sección transversal de una porción del cotiledón. D, vista superficial de la epidermis del cotiledón. E, dos células del parénquima amilífero. F, vasos espiralados y punteados del xilema. G, granos de almidón. e, embrión; ep, epidermis del cotiledón; p, parénquima amilífero. Las reglillas corresponden a: 1 a C, D y F; 2 a E y G; 3 a A y B.

EUCALIPTO, hoja

Definición - Eucalipto consiste en la hoja madura y desecada de *Eucalyptus globulus* Labill. (Myrtaceae). La droga entera debe contener no menos de 20 ml/kg de aceite esencial y la droga trozada no menos de 15 ml/kg, en ambos casos calculado sobre a la droga seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados, en un sitio seco y fresco.

ENSAYOS

Identificación

A - Características macroscópicas. Hojas simples, de aproximadamente 25 cm de largo por 4 cm de ancho, con pecíolo de 1 a 3 cm de longitud, de color marrón claro, ligeramente aplastado, acanalado, casi siempre retorcido. Lámina de color verde pálido a verde grisáceo, lanceolada, falca, coriácea, de borde entero resolutivo, ápice acuminado y base desigualmente obtusa o redondeada; nervio medio bien marcado en la cara inferior con ramificaciones que se anastomosan y terminan formando una nervadura paralela a 1 ó 2 mm del borde del limbo; presenta gran cantidad de cavidades de aceites esenciales que se pueden reconocer como puntos traslúcidos.

B - Características microscópicas. La lámina en vista superficial presenta, en ambas epidermis, células poligonales de paredes rectas, moderadamente gruesas y estomas hundidos, de tipo anocítico, más abundantes en la inferior. La venación es densa. La sección transversal de la lámina es anfiestomática e isolateral. Ambas epidermis son uniestratificadas con cutícula lisa y gruesa. En relación con ambas epidermis se observan de 3 a 4 hileras de parénquima en empalizada de células cortas; parénquima esponjoso, ubicado entre ambas empalizadas, constituido por 3 a 4 hileras de células pequeñas. En el mesófilo aparecen grandes cavidades esquizolisígenas que contienen aceites esenciales. Nervio medio constituido por un haz vascular de forma plano-convexa rodeado por una vaina discontinua de fibras, acompañado en la parte superior, por dos haces vasculares menores. En relación con ambas epidermis aparece colénquima laminar. Los parénquimas presentan drusas de oxalato de calcio y escasos prismas.

C - Droga en polvo. Color verde grisáceo, olor aromático, pungente, característico, sabor astringente, amargo que con el tiempo da sensación de frescura. Al microscopio aparecen fragmentos de epi-

dermis con estomas, células de parénquima con drusas de oxalato de calcio y escasos prismas sueltos, porciones de epidermis superior e inferior y fragmentos de nervaduras.

D - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo y tolueno (1:9).

Solución estándar - Diluir 50 µl de 1,8-cineol en 5,0 ml de tolueno.

Solución muestra - Reducir a polvo fino una porción de Eucalipto, pesar exactamente alrededor de 0,5 g de polvo, agregar 5,0 ml de tolueno y agitar entre 2 y 3 min. Filtrar sobre aproximadamente 2 g de sulfato de sodio anhidro.

Revelador - Anisaldehído sulfúrico (SR).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa, en forma de banda, 10 µl de *Solución muestra* y 10 µl de *Solución estándar*. Desarrollar los cromatogramas hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa, dejar secar y pulverizar sobre la placa con *Revelador*. Calentar la placa entre 100 y 105 °C durante 5 a 10 minutos y observar a la luz. El cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe presentar en la zona media una banda correspondiente al 1,8-cineol que se corresponde en posición y color con la obtenida en la *Solución estándar*. También se debe observar una intensa banda violeta cercana al frente de solvente y pueden observarse otras bandas de coloración tenue.

Cenizas totales (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No más de 6,0 %.

Control higiénico (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de aflatoxinas <110>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de Agua <120>

Destilación azeotrópica. No más de 10 %, determinado sobre 20 g de Eucalipto, previamente reducido a polvo fino.

Límite de metales pesados <590>

Método I. No más de 10 ppm.

Materia extraña (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

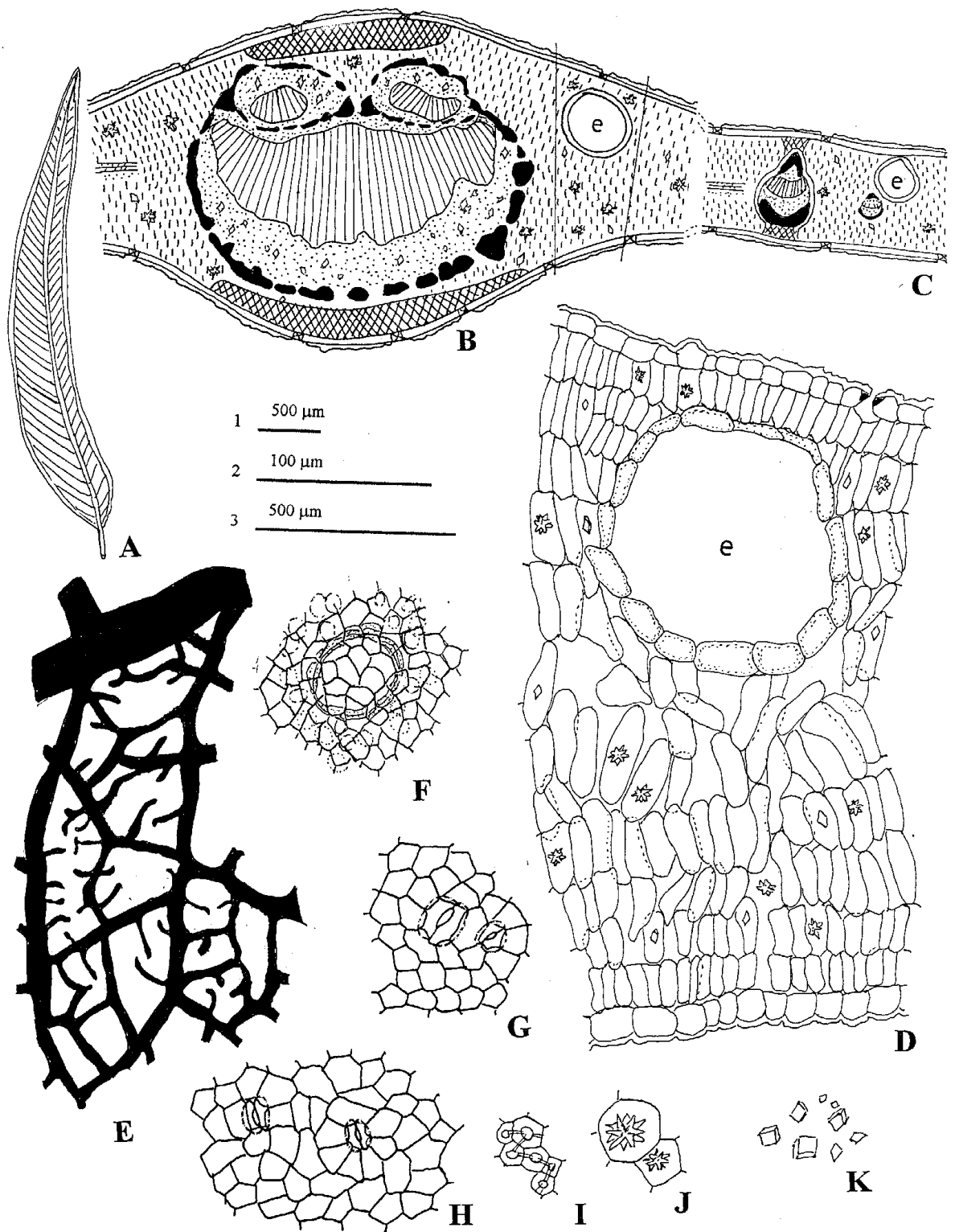
No más de 3 % de hojas oscuras y castañas, no más de 5 % de tallos y no más de 2 % de otra materia extraña. No debe presentar hojas sésiles, cordi-

formes u ovadas de ramas jóvenes, con numerosas glándulas de ambos lados, visibles como puntuaciones translúcidas. Determinar estos valores empleando 30 g de Eucalipto.

VALORACIÓN

Proceder según se indica en *Determinación de aceites esenciales* (ver 630. *Métodos de Farmacog-*

nosia). Pesar exactamente alrededor de 10,0 g de Eucalipto, previamente trozado inmediatamente antes de su uso y transferir a un balón de 500 ml. Agregar 200 ml de agua y 100 ml de glicerina y destilar. Agregar 0,5 ml de xileno en el tubo graduado y destilar a una velocidad entre 2 y 3 ml por minuto durante 2 horas.



Eucalyptus globulus Labill. A-K, A, morfología; B-D: sección transversal de la lámina: B, nervio medio; C, semilímbo; D, detalle de lo indicado en B. E-H: vista superficial del limbo: E, arquitectura foliar; F, epidermis superior; G-H, epidermis: G, superior; H, inferior; I, fibras; J, drusas de oxalato de calcio; K, cristales poliédricos de oxalato de calcio. Las reglillas corresponden a 1 a E; 2 a D, F-J; 3 a B y C.

GINKGO, hoja

Definición - Ginkgo está constituido por la hoja seca de *Ginkgo biloba* L. (Ginkgoaceae). No debe contener menos de 0,5 por ciento de flavonoides calculado como heterósidos flavonoides sobre la droga seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

A - Características macroscópicas - Las hojas, simples, enteras, desecadas se presentan plegadas o fragmentadas, con o sin pecíolo adjunto; su color varía desde verde parduzco hasta pardo verdoso y a menudo son más pardas en el borde apical y más oscuras en la superficie adaxial. La lámina es ampliamente obcuneada (configurada en forma de abanico), de 2 a 12 cm de ancho y de 2 a 9,5 cm de largo desde el pecíolo hasta el margen apical; generalmente es 1,5 a 2 veces más ancha que larga. Los bordes en la base son cóncavos y enteros; los apicales son ondulados, generalmente truncados o con hendidura central y raramente con hendiduras múltiples. La superficie es glabra y de apariencia arrugada por la prominente nerviación. La misma se origina de doce nervios básales que se ramifican dicotómicamente de tres a cinco veces. El pecíolo es de color similar al de la hoja, es surcado en la superficie adaxial y tiene de 2 a 8 cm de longitud.

B - Características microscópicas - Lámina en vista superficial: la epidermis adaxial presenta células rectangulares de paredes onduladas, de $105 \times 30 \mu\text{m}$. La epidermis abaxial con células más pequeñas que miden $35 \times 17 \mu\text{m}$. Los estomas de tipo anomocíticos hundidos son elípticos y miden $53 \times 33 \mu\text{m}$, las células oclusivas de los estomas muestran la pared dorsal fuertemente engrosada; las células subsidiarias se encuentran en número de 4 a 7 y están localizadas por encima de las células oclusivas. En corte transversal presenta estructura dorsiventral e hipoestomática. Las epidermis adaxial y abaxial presentan células papilosas con cutícula conspicua, los estomas se hallan hundidos. Mesófilo con clorénquima en empalizada compuesto por una capa continua de células lobuladas. Clorénquima esponjoso con grandes espacios intercelulares, se halla surcado por haces vasculares colaterales abiertos, en el parénquima de los radios del floema se observan drusas de oxalato de calcio que miden de 14 a 18 μm , cada haz se halla limitado

por una endodermis. En el parénquima esponjoso también se encuentran cavidades esquizógenas de 180 μm de diámetro, que secretan mucílagos; idioblastos con drusas de oxalato de calcio, de 20 a 30 μm , e idioblastos de mucílagos. El parénquima de transfusión está representado por traqueidas reticuladas. Pecíolo en corte transversal: es plano convexo. Presenta epidermis uniestratificada papilosa con cutícula gruesa, estomas hundidos y una gran cámara subestomática; hipodermis discontinua constituida por una o dos capas de células de paredes engrosadas alternando con células de paredes delgadas; el clorénquima es de células isodiamétricas con escasos idioblastos de oxalato de calcio. Se observan cuatro cavidades esquizógenas de 85 μm de diámetro, dispuestas simétricamente, tres de las mismas se ubican en la cara superior plana y la restante en la inferior. Posee dos haces colaterales abiertos, limitados por una endodermis.

C - Droga en polvo - Es de color castaño dorado. Muestra una epidermis adaxial con paredes anticlinales onduladas y la abaxial de células más pequeñas, con numerosos estomas hundidos de tipo anomocítico. Fragmentos de tejido xilemático con traqueidas reticuladas. Parénquima con notables idioblastos de mucílagos. Las drusas de oxalato de calcio pueden medir de 14 a 18 μm y de 20 a 30 μm . Fragmentos de parénquima con cavidades esquizógenas.

D - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo, agua, ácido fórmico anhidro y ácido acético glacial (67,5:17,5:7,5:7,5).

Solución estándar - Emplear una solución de rutina y ácido clorogénico en metanol que contenga aproximadamente 0,6 y 0,2 mg por ml, respectivamente.

Solución muestra - Transferir 2 g de Ginkgo finamente pulverizado a un tubo de ensayo, agregar 10 ml de metanol y calentar en un baño de agua a 65 °C durante 10 minutos. Agitar la mezcla con frecuencia durante el calentamiento. Dejar enfriar a temperatura ambiente, filtrar, concentrar el filtrado a la mitad de su volumen en un baño de agua a una temperatura no superior a 65 °C.

Revelador 1 - Solución al 1 % de difenilborinato de 2-aminoetilo en metanol.

Revelador 2 - Solución al 5 % de polietilenglicol 400 en alcohol.

Procedimiento - Aplicar por separado, en bandas, 20 μl de la *Solución muestra* y 20 μl de la *Solución estándar*. Desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente

tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Pulverizar la placa con *Revelador 1*. Calentar la placa en estufa a 105 °C durante 10 minutos y luego pulverizar con el *Revelador 2*. Dejar enfriar la placa durante 30 minutos y examinar bajo luz ultravioleta a 366 nm. La secuencia de las zonas para la *Solución estándar* y la *Solución muestra* son las indicadas en el cuadro. En el cromatograma de la *Solución muestra* pueden observarse otras zonas menos intensas.

<i>Frente del solvente</i>	
	Banda fluorescente castaño amarillenta
	Banda fluorescente verde
	Dos bandas fluorescentes castaño amarillentas
	Banda fluorescente azul, a veces encimada con un banda fluorescente castaño verdosa.
Ácido clorogénico: banda fluorescente celeste. R_f aproximadamente a 0,5.	
	Banda fluorescente verde
Rutina: banda fluorescente castaño amarillenta R_f aproximadamente a 0,5.	Dos bandas fluorescentes castaño amarillentas.
	Banda fluorescente castaño amarillenta
<i>Solución estándar</i>	<i>Solución muestra</i>

Cenizas totales (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No debe contener más de 11 %.

Control higiénico (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de aflatoxinas <110>

Debe cumplir con los requisitos.

Materia extraña (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No debe contener más de 3,0 % de tallos y no más de 2,0 % de otra materia extraña.

Pérdida por secado (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No debe perder más de 11,0 %, determinado sobre 1,0 g de droga pulverizada secada en estufa entre 100 y 105 °C durante 2 horas.

Residuos de pesticidas (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un cromató-

grafo de líquidos equipado con un detector ultravioleta ajustado a 370 nm y una columna de 12,5 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a sílice porosa de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal debe ser de aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Solvente de extracción - Solución de acetona en agua al 60 % v/v.

Solución de ácido clorhídrico - Transferir 10,0 ml de ácido clorhídrico a un matraz aforado de 50 ml, diluir con agua a volumen y mezclar.

Fase móvil - Solución de ácido cítrico al 0,6 %, acetonitrilo y alcohol isopropílico (100:47:5). Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación madre del estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de quercetina en metanol para obtener una solución de aproximadamente 0,8 mg por ml.

Preparaciones estándar A, B y C - Transferir 3,0; 5,0 y 10,0 ml de *Preparación madre del estándar* a tres matraces aforados de 100 ml, agregar 10 ml de agua y 30 ml de *Solución de ácido clorhídrico* a cada matraz. Diluir el contenido de cada matraz con metanol a volumen y mezclar para obtener las *Preparaciones estándar A, B y C* con concentraciones conocidas de 0,024; 0,04 y 0,08 mg por ml, respectivamente.

Preparación muestra - Transferir aproximadamente 2,5 g de Ginkgo, finamente pulverizado y pesado con exactitud, a un balón apropiado equipado con un refrigerante. Agregar 50 ml de *Solvente de extracción* y calentar en un baño de agua caliente, bajo reflujo, durante 30 minutos. Dejar enfriar, filtrar y recolectar el filtrado en un matraz aforado de 100 ml. Extraer el residuo del filtro una segunda vez de la misma manera, empleando 40 ml de *Solvente de extracción*, y recolectar el filtrado en el mismo matraz aforado de 100 ml. Diluir a volumen el contenido del matraz con *Solvente de extracción* y mezclar. Evaporar 50,0 ml de la solución hasta sequedad y transferir el residuo a un matraz aforado de 50 ml con la ayuda de 30 ml de metanol. Agregar 4,4 ml de *Solución de ácido clorhídrico*, diluir con agua a volumen, mezclar y centrifugar. Transferir 10,0 ml del líquido sobrenadante a un recipiente con tapa de vidrio ámbar y cerrar el mismo. Calentar en un baño de agua hirviendo durante 25 minutos y dejar enfriar a temperatura ambiente.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar A* y registrar las respuestas de los picos según se indica en el *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe mayor de 2,0 %.

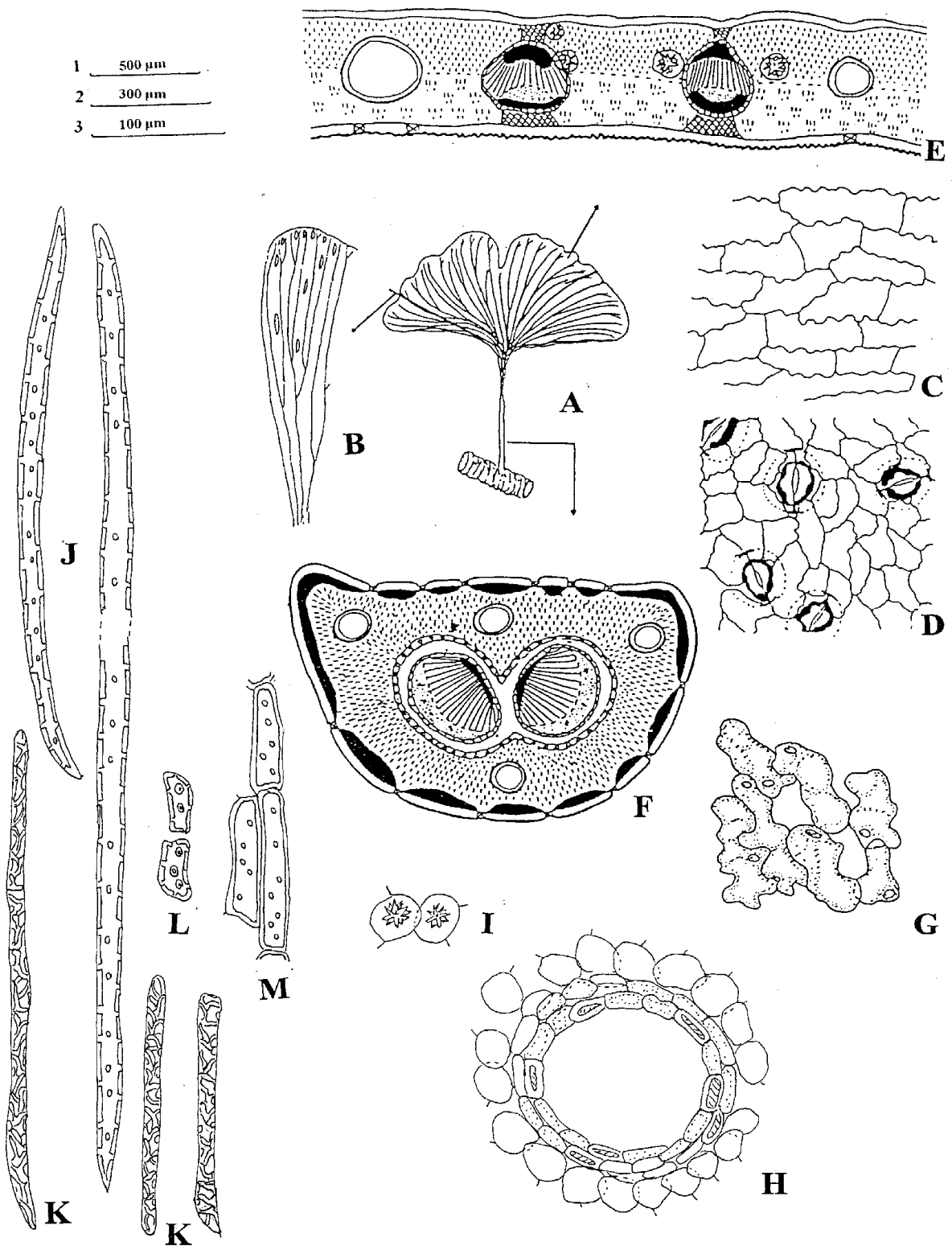
Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente

10 µl) de cada una de las *Soluciones estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas, medir las respuestas de los picos principales y sumar las respuestas de todos los picos principales debidos a la quercetina, canferol e isoramnetina en el cromatograma de la *Preparación muestra*. Los tiempos de retención relativos de los glicósidos de flavonol de interés son aproximadamente 1,0 para quercetina, 1,6 para canferol y 1,7 para isoramnetina. [NOTA: a veces la isoramnetina coeluye con el canferol]. Graficar las respuestas del pico principal de cada una de las *Soluciones estándar* en función de las concentraciones en mg por ml, de quercetina y calcular la ecuación

de la recta que mejor ajuste. A partir de la ecuación obtenida, determinar la concentración en mg por ml, de los glicósidos de flavonol en la *Preparación muestra*. Multiplicar el valor obtenido por un factor promedio de peso molecular de 2,514 y calcular el porcentaje de los glicósidos de flavonol, como 3-O-8(2-O-[6-O-(*p*-hidroxi-*trans*-cinamoil)- β -D-glucosil]- α -L-ramnosil))quercetina, con un peso molecular medio de 756,7.

ROTULADO

Indicar en el rótulo la denominación oficial seguida del nombre científico en latín.



Ginkgo biloba L., A-M. A, hoja, exomorfología. B-D vista superficial. B, arquitectura foliar. C-D epidermis. C, superior. D, inferior. E-I, sección transversal. E, limbo. F, pecíolo. G, parénquima esponjoso. H, cavidad esquizógena. I, idioblastos con oxalato de calcio. J-M macerado, tipos celulares. J, fibras. K, traqueadas. L, traqueadas de transfusión. M, parénquima del radio. Las reglillas corresponden a: 1 a E, y F; 2 a B; 3 a C, D, G-M.

GINSENG ORIENTAL, raíz

Definición - Ginseng Oriental está constituido por las raíces desecadas de *Panax ginseng* C.A. Meyer (Araliaceae). Debe contener no menos de 0,30 por ciento de la combinación de los ginsenósidos Rg₁ y Rb₁, calculados sobre la droga seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados, en un sitio fresco.

ENSAYOS

Identificación

A - Características macroscópicas. Raíces de tipo contráctil, antropomorfas, a veces ramificadas, de 5 a 12 hasta 20 cm de longitud y hasta 2,5 cm de diámetro en la corona, con una o varias cicatrices de tallos; superficie de color amarillo pálido o cremoso, lisa en la parte superior pero con surcos finos y longitudinales y cicatrices radicales en las partes inferiores. Fractura corta con superficie pardo amarillento claro, presentando un anillo de canales secretores en la corteza y un cambium diferenciado de color amarillo pardusco.

B - Características microscópicas. El corte transversal de la raíz presenta súber compuesto por células poligonales de paredes poco engrosadas; parénquima cortical con meatos aeríferos pequeños y poco visibles. Parénquima con canales de secreción que contienen masas anaranjado-parduscas abundantes junto a la peridermis. Zona cambial marcada; vasos xilemáticos en pequeños grupos aislados de la zona cambial; fibras del floema con paredes celulósicas gruesas. Parénquima con gran cantidad de granos de almidón, simples de 5 a 6 µm de diámetro o agrupados en número de 2 a 5. Células con drusas de oxalato de calcio de 27 µm de diámetro en el parénquima cortical y medular.

C - Droga en polvo. Color pardo amarillento pálido y olor algo aromático. Se observan fragmentos de súber con paredes delgadas, parénquima con granos de almidón simples o dos a cinco compuestos y células con drusas de oxalato de calcio; fragmentos de parénquima conteniendo canales secretores con masas de color anaranjado pardusco, vasos xilemáticos reticulados, anulares y escalariformes y fibras floemáticas con paredes celulósicas de extremos irregulares o espatulados.

D - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Emplear la capa superior de una mezcla de alcohol butílico, agua y acetato de etilo (10:5:2,5).

Solución estándar - Preparar una solución de aproximadamente 5 mg de arbutina y 5 mg de escina por ml de metanol.

Solución muestra - Reducir a polvo fino una porción de Ginseng Oriental, pesar exactamente alrededor de 1 g y transferir a un balón de 25 ml. Agregar 10 ml de una mezcla de metanol y agua (7:3) y calentar a reflujo durante 15 minutos. Enfriar, filtrar y diluir el filtrado obtenido con metanol a 10 ml.

Revelador - Anisaldehído sulfúrico (SR).

Procedimiento - Aplicar en bandas por separado sobre la placa, 20 µl de *Solución muestra* y 20 µl de *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara y dejar secar al aire. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar la placa entre 105 y 110 °C, durante aproximadamente 10 minutos. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar* se debe observar, en el tercio superior, una banda parda que corresponde a arbutina y, en el tercio inferior, una banda gris que corresponde a escina. Entre estas dos bandas, en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, se debe observar bandas grises violáceas que corresponden a ginsenósido Rg₁ en la parte superior y a ginsenósido Re en el medio. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, se debe observar una banda gris violácea correspondiente a ginsenósido Rb₁ al mismo valor de R_f de la banda gris correspondiente a escina en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar*. Se pueden observar otras bandas, menos intensas, entre las bandas correspondientes a los ginsenósidos Rb₁ y Re y la banda más cercana al origen correspondientes a ginsenósido Rc. Se pueden observar otras bandas en el tercio inferior del cromatograma.

Cenizas insolubles en ácido (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe contener más de 1,0 %.

Cenizas totales (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe contener más de 8,0 %, determinado sobre 1,0 g de Ginseng Oriental, previamente reducido a polvo fino.

Control higiénico (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de aflatoxinas <110>

Debe cumplir con los requisitos.

Materia extraña (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe contener más de 2,0 %.

Pérdida por secado (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Secar 1,0 g de Ginseng Oriental, previamente reducido a polvo, a 105 °C durante 2 horas: no debe perder más de 12,0 % de su peso.

Residuos de pesticidas (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos equipado con detector ultravioleta ajustado a 203 nm y una columna de 15 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice porosa de 3 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto. El cromatografo se debe programar del siguiente modo:

Tiempo (min)	Solución A (%)	Solución B (%)	Elución
0 – 12	76	24	Isocrática
12 – 28	76 → 65	24 → 35	Gradiente lineal
28 – 52	65 → 57	35 → 43	Gradiente lineal
52 – 53	57 → 0	43 → 100	Gradiente lineal
53 – 65	0 → 76	100 → 24	Gradiente lineal
65 – 77	76	24	Isocrática

Solución A - Agua.

Solución B - Acetonitrilo y agua (8:2). Desgasificar.

[NOTA: este sistema separa los ginsenósidos Rb₁, Re, Rf, Rg₂, Rb₁, Rc, Rb₂ y Rd en orden de elución].

Fase móvil - Emplear mezclas variables de *Solución A* y *Solución B* según se indica en *Sistema cromatográfico* (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - Agua y alcohol (60:40).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 1,5 mg de ginsenósido Rb₁ y 1,5 mg de ginsenósido Rg₁, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver en *Diluyente*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar.

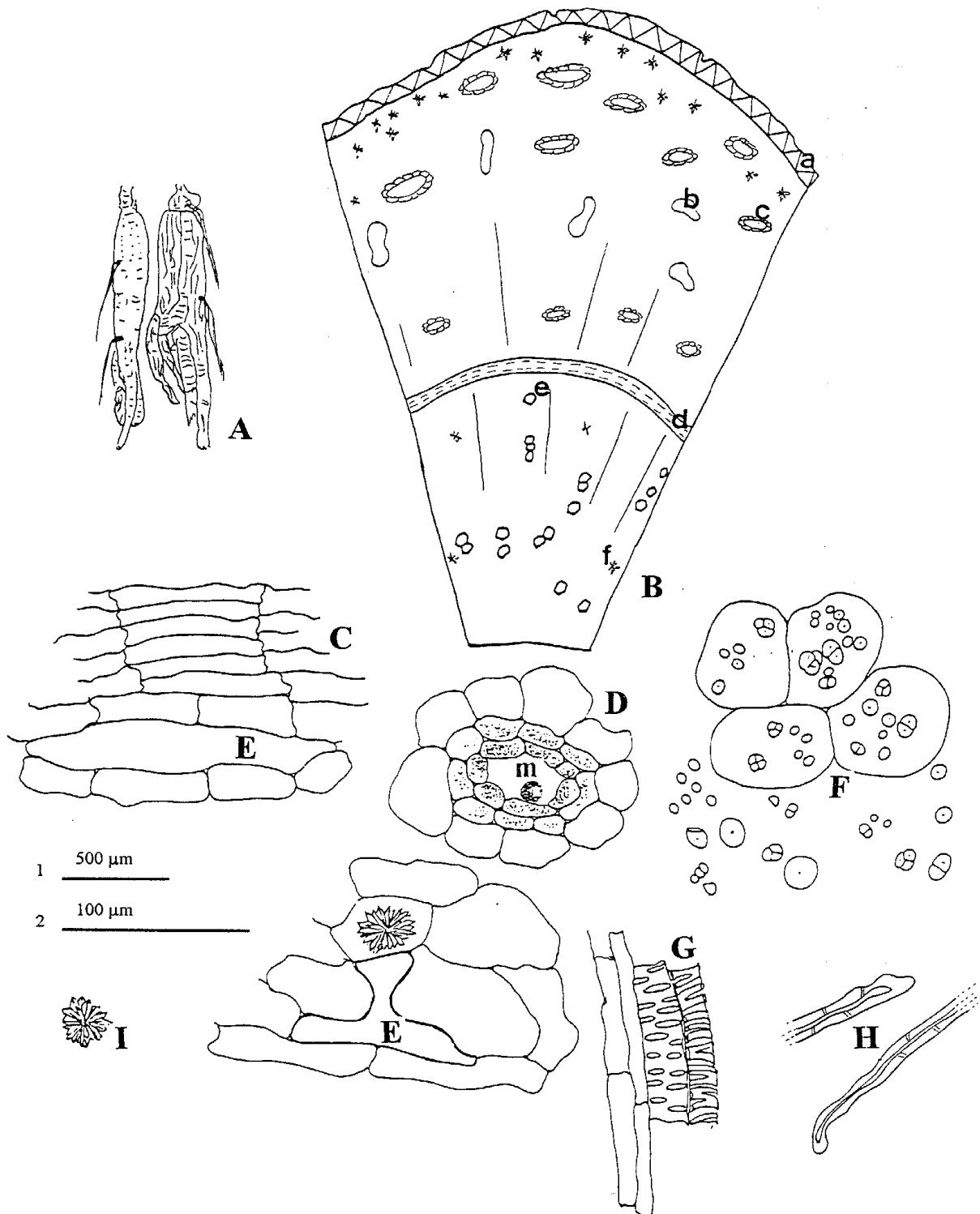
Preparación muestra - Reducir a polvo fino aproximadamente 50 g de Ginseng Oriental, pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Ginseng Oriental en polvo y transferir a un balón de 250 ml. Agregar 70 ml de *Diluyente*, agregar unos trozos de material poroso y calentar a ebullición en un baño de agua a reflujo durante 1 hora. Enfriar, filtrar y recolectar el extracto. Lavar el residuo con 20 ml de *Diluyente* y filtrar a través del mismo filtro. Reunir los extractos y evaporar a sequedad a presión reducida a una temperatura menor de 50° C. Transferir el residuo obtenido a un matraz aforado de 10 ml, disolver con 5 ml *Diluyente*, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. .

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos correspondientes a los ginsenósidos Rb₁ y Rg₁. Calcular la cantidad en porcentaje de ginsenósidos Rb₁ y Rg₁ en la porción de Ginseng Oriental en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$100/P[P_{Rb1}(r_{M1}/r_{E1}) + P_{Rg1}(r_{M2}/r_{E2})]$$

en la cual *P* es el peso en g de la porción de Ginseng Oriental en ensayo, *P_{Rb1}* y *P_{Rg1}* son los pesos en g de ginsenósido Rb₁ y ginsenósido Rg₁ en la *Preparación estándar*; *r_{M1}* y *r_{E1}* son las respuestas de los picos correspondientes a ginsenósido Rb₁ obtenidos a partir de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, respectivamente; y, *r_{M2}* y *r_{E2}* son las respuestas de los picos correspondientes a ginsenósido Rg₁ obtenidos a partir de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, respectivamente.



Panax ginseng C.A. Meyer, A-I: A, morfología externa de la parte usada. B, representación esquemática de la sección transversal de la raíz. C-I: *Droga en polvo*: C, súber. D, canal secretor. E, meato aerífero, F, parénquima amilífero. G, vasos xilemáticos. H, fibras liberianas. I, drusas de oxalato de calcio. a, súber; b, meatos aeríferos; c, canales secretores; d, cambium; e, vasos xilemáticos; f, drusas de oxalato de calcio; m, masas secretoras. Las reglillas corresponden a 1 a B, 2 a C-I.

HAMAMELIS, hoja

Definición - Hamamelis consiste en la hoja desecada de *Hamamelis virginiana* L. (Hamamelidaceae). Debe contener no menos de 3,0 por ciento de taninos, expresados como pirogalol, calculados respecto al material vegetal desecado y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados, en un sitio seco.

ENSAYOS

Identificación

A - Características macroscópicas - La hoja es verde o pardo verdosa, a menudo fragmentada, arrugada y comprimida en masas más o menos compactas. El limbo es generalmente ovado u obovado, de 5 a 12 cm de largo por 3 a 8 cm de ancho; la base es oblicua y asimétrica y el ápice agudo o, raramente, obtuso. Los márgenes del limbo son gruesamente crenados o dentados. La nervadura es pinnada y prominente en la cara abaxial.

B - Características microscópicas - En vista superficial la epidermis superior está compuesta por células ligeramente elongadas con paredes rectas o ligeramente sinuosas y con escasos pelos estrellados sobre las nervaduras. La epidermis inferior presenta células poligonales con paredes más delgadas y más uniformes que la epidermis superior, estomas paracíticos numerosos y tricomas estrellados característicos compuestos por 4 a 12 ramas unicelulares rectas o curvadas de gruesas paredes unidas por sus porciones basales. En la sección transversal se observa la epidermis superior constituida por una única capa de células, parénquima en empalizada uniestratificado, parénquima esponjoso de 3 a 6 capas de células, con esclereidas ramificadas irregulares dispersas; en la nervadura media se observa colénquima angular en relación con ambas epidermis; el nervio medio está constituido por xilema y floema dispuestos en forma circular, acompañado superiormente por un arco de tejido vascular y ambos rodeados por una vaina fibrosa; exteriormente a ésta se disponen células parenquimáticas que contienen prismas y drusas de oxalato de calcio; la epidermis inferior, también uniestratificada, presenta numerosos pelos estrellados.

C - Droga en polvo - El polvo es verde pardusco. Presenta fragmentos de la epidermis superior con células de paredes anticlinales

onduladas; epidermis inferior con estomas principalmente paracíticos; pelos tectores estrellados, enteros o fragmentados, compuestos por 4 a 12 brazos unicelulares; fibras lignificadas, de paredes gruesas, aisladas o en grupos, acompañadas por una vaina de células con cristales prismáticos de oxalato de calcio; células del parénquima en empalizada pequeñas; células irregulares del parénquima esponjoso; esclereidas ramificadas irregulares de 150 a 180 µm de largo, enteras o fragmentadas; fragmentos de vasos espiralados o anillados; prismas aislados y drusas de oxalato de calcio.

D - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta de gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Emplear una mezcla recientemente preparada de formiato de etilo, ácido fórmico anhidro y agua (80:10:10).

Solución estándar A - Disolver 30 mg de ácido tánico en 5,0 ml de alcohol al 60 % v/v.

Solución estándar B - Disolver 5 mg de ácido gálico en 5,0 ml de alcohol al 60 % v/v.

Solución muestra - Reducir a polvo fino una porción de Hamamelis, pesar exactamente alrededor de 1,0 g y transferir a un erlenmeyer. Extraer con 10 ml de alcohol al 60 % v/v, agitar durante 15 minutos y filtrar.

Revelador - Cloruro férrico (SR).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa, en bandas, 10 µl de las *Soluciones estándar A* y *B* y 10 µl de la *Solución muestra*. Desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa, secar a una temperatura entre 100 y 105 °C durante 1 minuto y dejar enfriar. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* hasta que aparezcan bandas azul grisáceas (compuestos fenólicos). El cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe presentar, en su tercio inferior, una banda principal similar en posición a la obtenida con la *Solución estándar A* y en su parte superior, una delgada banda similar en posición a la obtenida con la *Solución estándar B*. El cromatograma obtenido con la *Solución muestra* debe presentar, en la parte central, numerosas bandas ligeramente coloreadas.

Cenizas insolubles en ácido (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe contener más de 2,0 %.

Cenizas totales (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe contener más de 7,0 %.

Control higiénico (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de aflatoxinas <110>

Debe cumplir con los requisitos según el destino.

Límite de metales pesados <590>

Método I. No más de 0,001 %.

Materia extraña (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe contener más de 7 % de tallos ni más de 2 % de materias extrañas; determinado sobre 50 g de Hamamelis.

Pérdida por secado (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Secar 2,0 g de sustancia reducida a polvo entre 100 y 105 °C durante 4 horas: no debe perder más de 10,0 % de su peso.

Residuo de pesticidas (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Determinación de Taninos

[NOTA: efectuar la valoración protegiendo de la luz intensa. Emplear agua libre de dióxido de carbono para todas las operaciones.]

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 0,75 g de Hammelis reducida a polvo (malla 18), transferir a un erlenmeyer y agregar 150 ml de agua libre de dióxido de carbono. Calentar hasta ebullición y mantener en un baño de agua durante 30 minutos. Enfriar bajo corriente de agua. Transferir la mezcla a un matraz aforado de 250 ml y completar a volumen con agua libre de dióxido de carbono. Decantar y filtrar el líquido a través de un papel de filtro. Descartar los primeros 50 ml del filtrado.

Determinación de polifenoles totales

Transferir 5,0 ml de la *Preparación muestra* obtenida en *Determinación de taninos* a un matraz

aforado de 25,0 ml y completar a volumen con agua libre de dióxido de carbono en un matraz aforado. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml y mezclar con 2,0 ml de ácido fosfotúngstico (SR) y completar a volumen con carbonato de sodio (SR). Después de 3 minutos del agregado del último reactivo, medir la absorbancia a 715 nm (A_1), empleando agua como blanco.

Determinación de polifenoles no absorbibles por polvo de cuero

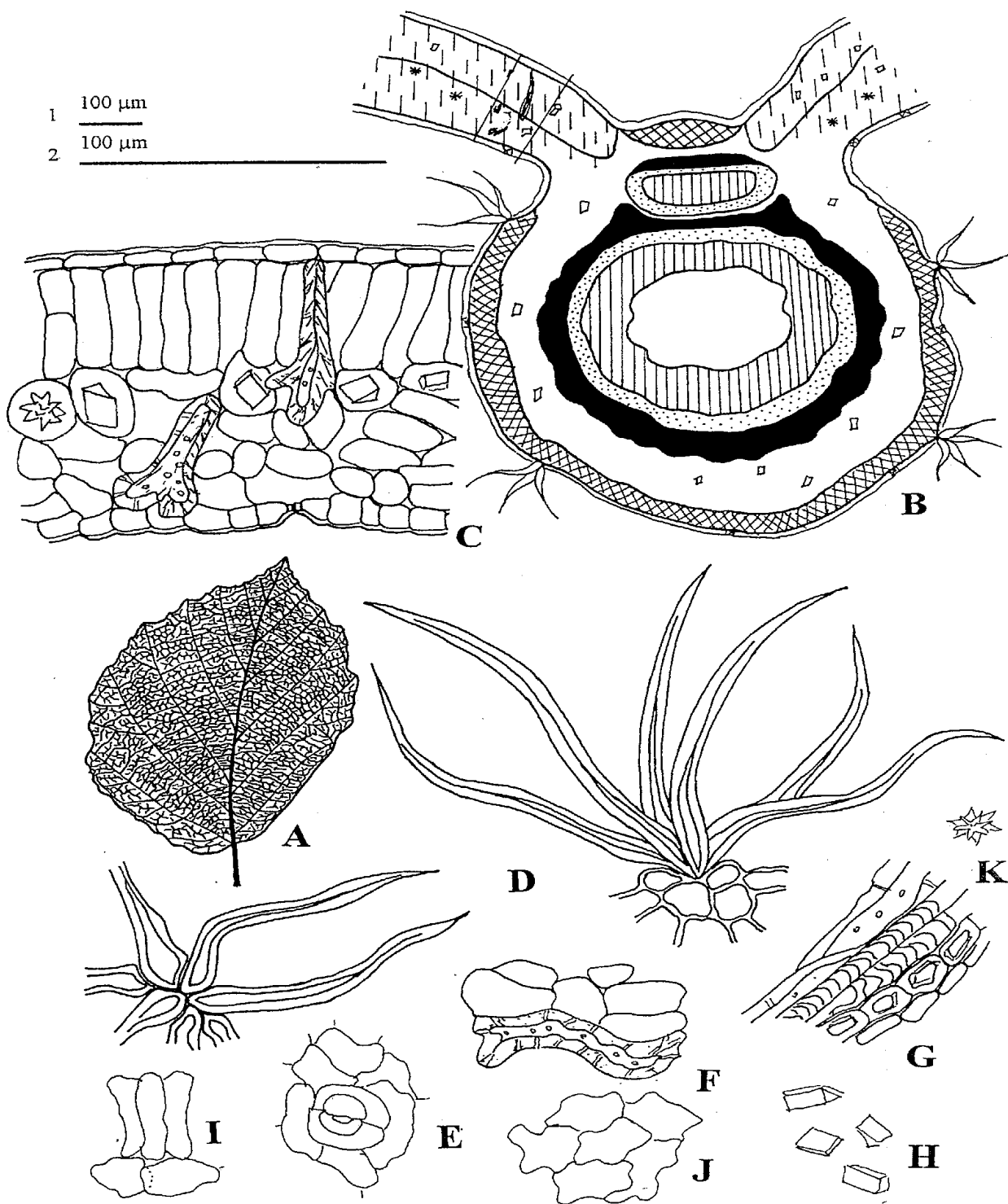
A 20,0 ml de la *Preparación muestra* obtenida en *Determinación de taninos* agregar 200 mg de polvo de cuero, agitar vigorosamente durante 60 minutos y filtrar. Transferir 5,0 ml del filtrado a un matraz aforado de 25,0 ml y completar a volumen con agua libre de dióxido de carbono. Mezclar 5,0 ml de esta solución con 2,0 ml de ácido fosfotúngstico (SR) y diluir hasta 50,0 ml con carbonato de sodio (SR). Después de 3 minutos del agregado del último reactivo, medir la absorbancia a 715 nm (A_2), empleando agua como blanco.

Preparación estándar - Disolver 50,0 mg de pirogalol en agua libre de dióxido de carbono, transferir a un matraz de 100 ml y completar a volumen con agua libre de dióxido de carbono. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua libre de dióxido de carbono. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, mezclar con 2,0 ml de ácido fosfotúngstico (SR) y completar a volumen con carbonato de sodio (SR). Después de 3 minutos del agregado del último reactivo, medir la absorbancia a 715 nm (A_3), empleando agua como blanco.

Calcular la cantidad en porcentaje de taninos, por la fórmula siguiente:

$$\frac{13,12(A_2 - A_1)}{A_3 m}$$

en la cual m es la masa del material vegetal en ensayo, en gramos, y A_1 , A_2 y A_3 son los términos definidos anteriormente.



Hamamelis virginiana L. A-K, A, morfología; B-C: sección transversal de la lámina: B, nervio medio, esquema; C, detalle del semilímbo según lo indicado en B. D-J: droga en polvo: D, pelos estrellado, enteros y fragmentados; E, epidermis superior con estoma paralítico; F, esclereida con extremos algo ensanchados, G, vasos helicados acompañados por fibras de paredes gruesas y parénquima cristalífero; H, cristales prismáticos de oxalato de calcio; I, porción de células en empalizada; J, epidermis superior con paredes anticlinales onduladas; K, drusa de oxalato de calcio. Las reglillas corresponden 1 a B; 2 a C-K.

HIPÉRICO, hierba

Definición - Hipérico está constituido por las partes aéreas superiores incluyendo hojas, botones florales y flor, desecadas, recogidas durante la floración de *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae). Debe contener no menos de 0,06 por ciento de hipericinas totales, calculado como hipericina y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados, en un sitio fresco y seco.

ENSAYOS

Identificación

A - Características macroscópicas - Hojas opuestas, sésiles, oblongo-ovadas, de hasta 3,5 cm de longitud; láminas de bordes lisos, con pelos glandulares oscuros en el margen y puntos translúcidos en toda su superficie. Las flores son pentámeras, numerosas, de color amarillo y pedúnculos cortos que forman cimas compuestas (pleiocasios). Sépalos 5, lanceolados, con puntos negros en el margen. Pétalos 5, de color amarillo oscuro, ovales, oblicuos y con glándulas de color rojo oscuro en el borde. Estambres numerosos, agrupados de 3 a 6 haces (generalmente 3) con glándula conectival apical. Gineceo gamocarpelar con tres estilos. Fruto cápsula tricarpelar de 8-10 × 4-6 mm, ovoide o elipsoide-trígona, dehiscente en el ápice, rodeada por los restantes verticilos marcescentes. La semilla es de 1 a 1,2 mm, cilindroide, foveolada, de color castaño a negro. La droga seca consiste mayormente de flores, incluyendo hojas y yemas sin abrir. Las hojas son de color verde o verde pálido. Se observan los pétalos de las flores de color amarillo a pardo amarillento, también hay alto contenido de fragmentos de inflorescencias. Tanto las hojas como los pétalos se caracterizan por la presencia de numerosas glándulas redondeadas de aproximadamente 0,5 a 1 mm de diámetro, en las hojas se las observan como puntos translúcidos cuando se las ilumina a contraluz y las de los pétalos son de color rojo oscuro y se presentan solamente en los bordes. Los fragmentos de tallos son de color verde pálido, cilíndricos, huecos y con dos costillas longitudinales opuestas.

B - Características microscópicas - El tallo en sección transversal muestra células epidérmicas rectangulares con cutícula conspicua y lisa; la corteza consta de varias capas de colénquima. El floema y el xilema se disponen en un anillo continuo, atravesado por numerosos radios uniseriados; las fibras del xilema son muy engrosadas y se disponen en series radiales. La médula es parenquimática se lisa y ahueca.

Los canales secretores están presentes en la corteza, floema y médula. La hoja en vista superficial presenta la epidermis superior con células poligonales de paredes anticlinales rectas; en la epidermis inferior son más pequeñas, con paredes anticlinales marcadamente sinuosas con estomas frecuentemente paracíticos o a veces anomocíticos; la cutícula es lisa, más gruesa en la epidermis superior. En sección transversal la lámina presenta estructura dorsiventral, con 1 ó 2 hileras de células en empalizada; glándulas oleosas conspicuas en el mesófilo esponjoso. La nervadura central está constituida por un solo haz colateral. La flor tiene los sépalos con características semejantes a las de la hoja, con numerosas glándulas de color rojo en los bordes. Los pétalos presentan la epidermis superior con células de paredes rectas y la epidermis inferior con paredes sinuosas, las glándulas de aceite son visibles, a menudo alargadas con un contenido rojizo o amarillo. Los granos de polen son prolados, de aproximadamente 20 µm de diámetro con 3 colpiros y exina lisa o verrucosa.

C - Droga en polvo - El polvo es de color amarillo claro a pardo verdoso con un olor aromático y balsámico. Los fragmentos de hojas vistos en superficie muestran las células epidérmicas alargadas, poligonales con paredes anticlinales gruesas, en forma de rosario, con estomas paracíticos (ocasionalmente anomocíticos); abundantes fragmentos de hoja, la mayoría conteniendo glándulas, algunas con un contenido rojo cerca del margen, los pétalos muestran las células de la epidermis superior, estrechas, alargadas, con paredes anticlinales delgadas, rectas y sinuosas en la epidermis inferior; se observan glándulas de aceites alargadas con un contenido rojo o amarillo; numerosos granos de polen que tienen entre 20 y 25 µm de diámetro, prolados, tricolporados. Se observan fragmentos de tallos y frutos enteros acompañados por estilos.

D - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo, agua, ácido fórmico y ácido acético glacial (100:26:11:11).

Solución estándar - Preparar una solución de hiperósido y ácido clorogénico al 0,05% para cada uno en metanol.

Solución muestra - Pesar y reducir a polvo fino aproximadamente 5 g de Hipérico y transferir 500 mg de la droga pulverizada a un matraz de 25 ml. Agregar 10 ml de metanol y mezclar. Calentar en un baño de agua a 60°C durante 15 minutos agitando con frecuencia. Filtrar.

Revelador 1 - Solución al 1% de difenilborinato de 2-aminoetilo en metanol.

Revelador 2 - Solución al 5% de polietilenglicol 4.000 en etanol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa cromatográfica, en bandas, 10 µl de la *Solución muestra* y 10 µl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 1*. Dejar secar al aire. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 2*, dejar secar nuevamente al aire. Examinar el cromatograma bajo luz ultravioleta a 366 nm. En el cromatograma se deben observar dos bandas de fluorescencia rojovioláceas debido a la presencia de hipericina con un valor de R_f aproximadamente de 0,85 y pseudohipericina con un valor de R_f aproximadamente de 0,80; varias zonas con una fluorescencia amarillo anaranjada, una de las cuales coincide en valor de R_f y color con la banda de hiperósido con un valor de R_f 0,50 presente en la *Solución estándar*. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar una zona de fluorescencia azul que coincide en posición y color con la banda del ácido clorogénico con un valor de R_f aproximadamente de 0,40 presente en la *Solución estándar*.

Cenizas totales (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de aflatoxinas <110>

Debe cumplir con los requisitos.

Materia extraña (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No debe contener más de 3,0% de tallos con un diámetro superior a 5 mm y no más de 2% de otras materias extrañas.

Pérdida por secado <680>

No debe perder más de 10,0%, determinado sobre 1,0 g de Hipérico pulverizado y secado en estufa entre 100 y 105 °C durante 2 horas.

VALORACIÓN

Preparación muestra - Pesar y reducir a polvo fino 5,0 g de Hipérico y transferir 800 mg del polvo, exactamente pesado, a un balón de 100 ml. Agregar 60 ml de una mezcla de tetrahidrofurano y agua (80:20) y agitar. Calentar la mezcla a ebullición en baño de agua a 70 °C a reflujo durante 30 minutos. Centrifugar durante 2 minutos a 2.000 rpm y transferir el sobrenadante en un matraz de 250 ml. Suspender el residuo con 60 ml de una mezcla de tetrahidrofurano y agua (80:20). Transferir al balón y repetir la operación por 30 minutos más. Centrifugar durante 2 minutos a 2.000 rpm y reunir los sobrenadantes. Evaporar hasta sequedad. Disolver el residuo con 15 ml de metanol ayudándose con ultrasonido y llevar a un matraz aforado de 25 ml. Lavar el matraz de 250 ml con metanol y completar a volumen de 25 ml con el mismo solvente. Filtrar y descartar los primeros 2 ml del filtrado. Transferir 5 ml del filtrado a un matraz aforado de 25 ml y completar a volumen con metanol.

Procedimiento - Medir la absorbancia de la *Preparación muestra* a 590 nm por comparación empleando como blanco metanol. Calcular el contenido en porcentaje de hipericina en la porción de Hipérico en ensayo por la fórmula siguiente:

$$(125/870)(A/P)$$

en la cual A es la absorbancia de la *Solución muestra* a 590 nm; P es el peso de Hipérico en mg y 870 es el coeficiente de extinción específica E (1%, 1 cm) de hipericina (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*).

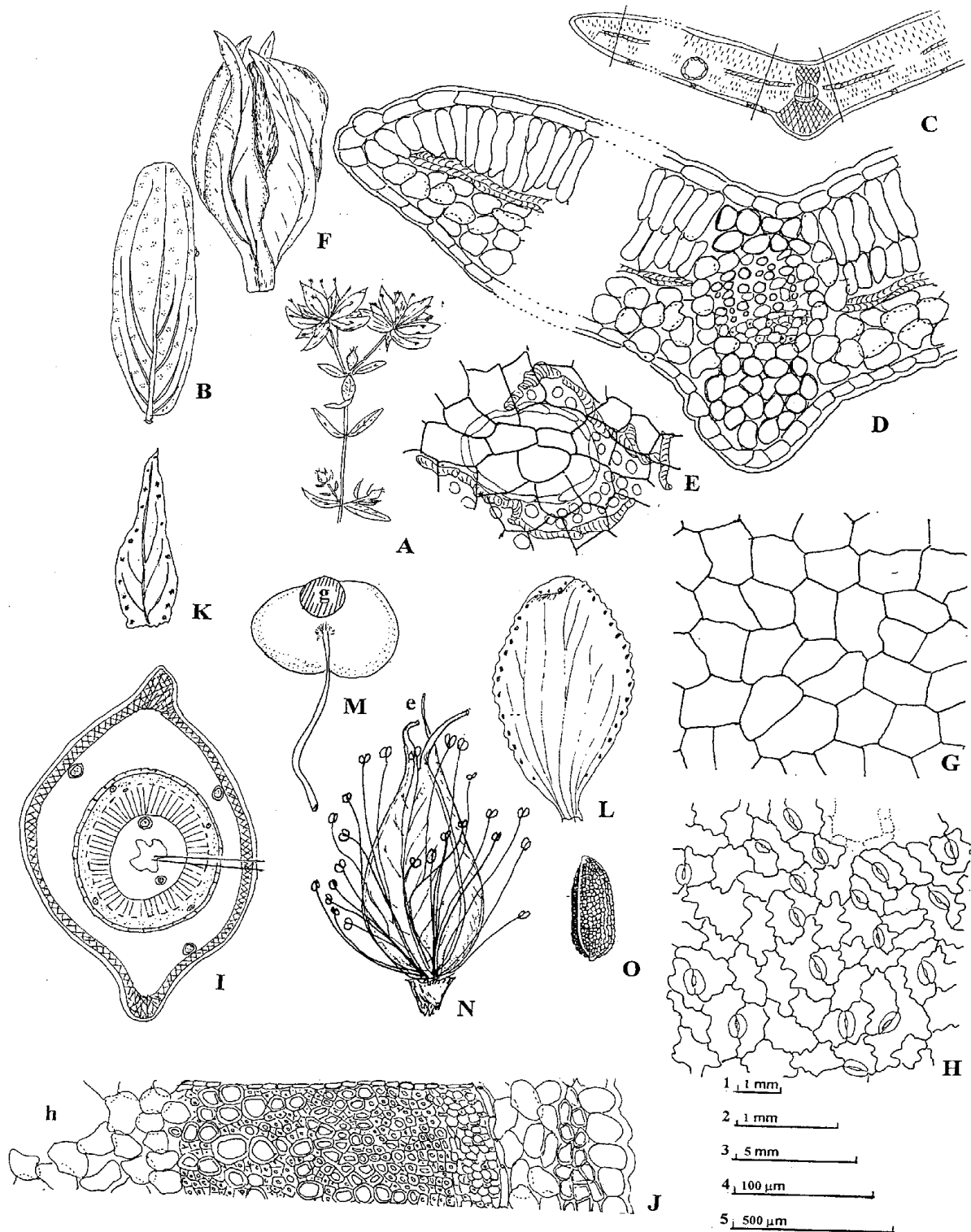


Fig. 1: *Hypericum perforatum* L., A-O: A, planta florida. B-H, hoja. B, morfología externa. C-D, sección transversal. C, limbo, esquema. D, detalle de lo indicado en C. E, G-H en vista superficial. E, detalle de una glándula. G-H, epidermis. G, superior. H, inferior. I-J, tallo en sección transversal. I, tallo hueco con dos costillas, esquema. J, detalle de lo indicado en I. F, K-M, flor, morfología externa. F, botón floral. K, sépalo con glándulas oscuras. L, pétalo con glándula de color negruzco a rojizo. M, estambre con glándula conectival apical, esférica. N, fruto, cápsula septicida con restos florales. O, semilla cilindroide, foveolada. e, estilos; g, glándula conectival del estambre; h, hueco. Las reglillas corresponden a: 1 a K, L; 2 a O; 3 a F, M, N; 4 a D, E, G, H, J; 5 a B, C, I.

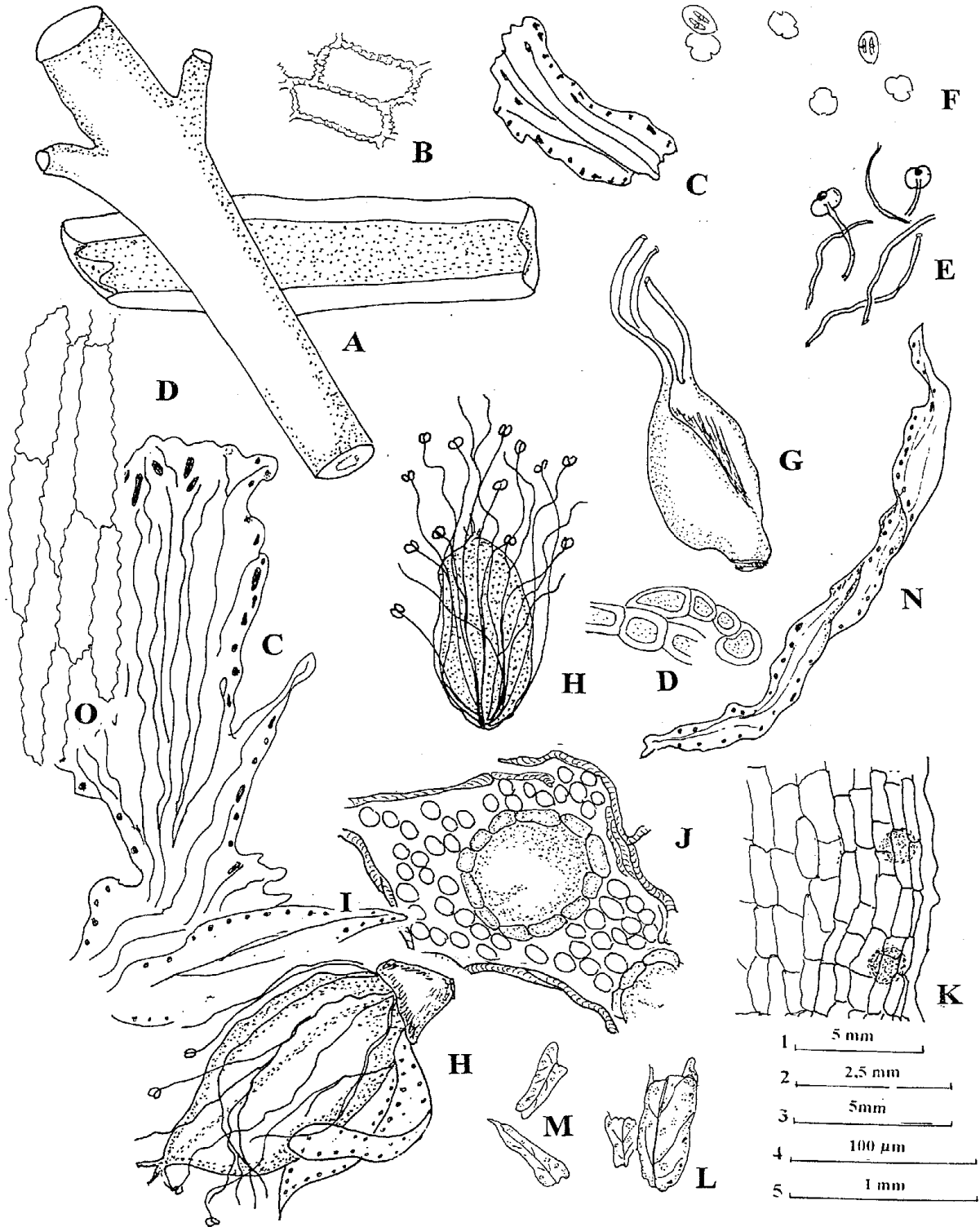


Fig. 2: Polvo *Hypericum perforatum* L., A-O; A, fragmentos de tallos enteros y cortados longitudinalmente huecos. B, fragmento de epidermis superior con paredes engrosadas a modo de rosario. C, porción de pétalos. D, pelo glandular del borde de la hoja. E, estambres. F, granos de polen, prolados, tricolporados. G, fruto con restos de tres estilos. H, gineceo acompañado por restos de piezas florales (sépalos y estambres). I, sépalo. J, porción de hoja mostrando la glándula. K, porción de un pétalo en vista superficial de la cara superior mostrando la epidermis de paredes delgadas y rectas y glándulas de color negruzco a rojizo en el margen. L, fragmentos de hoja. M, fragmentos de sépalos. N, pétalos deshidratados, retorcidos. O, epidermis inferior del pétalo de paredes delgadas y sinuosas. Las reglillas corresponden a: 1 a M, L; 2 a A, C, G, H; 3 a C, I; 4 a B, D, F, J, K, O; 5 a E, N.

IPECACUANA, raíz y rizoma

Definición - Ipecacuana está constituida por el rizoma y las raíces desecadas de *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes (*Cephaelis ipecacuanha* (Brotero) A. Richard) y *Psychotria acuminata* Karsten (Rubiaceae). Debe contener no menos de 2,0 por ciento de alcaloides totales calculados como emetina. El contenido de emetina sumado al contenido de cefelina no debe ser menor a 90,0 por ciento de los alcaloides totales solubles en éter. El contenido de cefelina puede variar de una cantidad igual hasta una cantidad no mayor de 2,5 veces el contenido de emetina y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Clorhidrato de Emetina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados, en un sitio fresco y seco.

ENSAYOS

Identificación

A - Características macroscópicas - Las raíces contráctiles se presentan en segmentos subcilíndricos, éstos son mayormente encorvados y flexuosos, ocasionalmente ramificados, alcanzan hasta 15 cm de largo, generalmente con diámetros entre 3 a 6,5 mm aunque pueden llegar hasta los 9 mm; de color grisáceo, castaño grisáceo o castaño rojizo. Los rizomas también contráctiles aparecen como segmentos cilíndricos de aproximadamente 2 mm de diámetro, muestran algunas cicatrices elípticas dejadas por las raíces al desprenderse. Presenta olor peculiar, el polvo es estornutatorio.

B - Características microscópicas - La sección transversal de la raíz presenta súber de pocas células de espesor. El ancho feloderma consta de células de parénquima redondeadas con gránulos de almidón e idioblastos con rafidios de oxalato de calcio de 30 a 80 μm de largo. Los gránulos de almidón rara vez se encuentran aislados, por lo general se agrupan entre 2 a 4 y pueden llegar a formar grupos de 8. Los gránulos individuales miden hasta 22 μm de diámetro. En el cilindro central el floema constituye una banda estrecha. La médula está ocupada por xilema secundario constituido por vasos y traqueidas presentando radios medulares. El rizoma difiere de la raíz principalmente porque presenta una médula parenquimática desarrollada.

C - Droga en polvo - Polvo de color gris verde

oliva pálido, castaño o amarillo pálido. Presenta células de súber pequeñas de paredes delgadas; gránulos de almidón simples de hasta 22 μm de diámetro o compuestos por 2 a 8 unidades; ráfides de oxalato de calcio de 30 a 80 μm de longitud; miembros de vaso punteados y reticulados, fibrotraqueidas y fibras septadas; parénquima de células ovaladas de paredes delgadas. Las células del parénquima del rizoma son de mayor tamaño que las del parénquima de la raíz.

D - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno, acetato de etilo, metanol y amoníaco concentrado (65:18:15:2).

Solución estándar - Disolver 2,5 mg de Clorhidrato de Emetina SR-FA y 3,0 mg de clorhidrato de cefelina en metanol y diluir hasta 20 ml con el mismo solvente.

Solución muestra - A 100 mg de Ipecacuana pulverizada agregar 0,05 ml de amoníaco concentrado y 5 ml de éter. Agitar enérgicamente. Dejar reposar 30 minutos y filtrar.

Revelador - Solución de yodo al 0,5% en alcohol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μl de la *Solución estándar* y 10 μl de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Dejar secar la placa al aire. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar a 60 °C aproximadamente 10 minutos. Examinar la placa bajo luz visible. Los cromatogramas obtenidos a partir de la *Solución estándar* y a partir de la *Solución muestra* deben presentar una banda de color amarilla en la zona inferior correspondiente a emetina con un valor de R_f de 0,3 y debajo de la misma una banda de color pardo correspondiente a cefelina. Examinar los cromatogramas bajo luz ultravioleta a 366 nm. Las bandas correspondientes a emetina deben presentar una fluorescencia amarilla y las correspondientes a cefelina una fluorescencia azul claro. El cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe presentar además otras bandas fluorescentes débiles.

Con *Psychotria acuminata* las bandas principales en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, deben ser similares en posición, fluorescencia y tamaño a las bandas correspondientes en el cromatograma obtenido con la *Solución estándar*.

Con *P. ipecacuanha* la única diferencia debe ser que la zona que corresponde a la cefelina en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe ser mucho más pequeña que la misma zona corres-

pondiente del cromatograma obtenido con la *Solución estándar*.

Cenizas insolubles en ácido (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No debe contener más de 3%.

Cenizas totales (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No debe contener más de 5%.

Control higiénico (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de aflatoxinas <110>

Debe cumplir con los requisitos.

Materia extraña (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No debe contener más de 2,0 %.

Pérdida por secado (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No debe perder más de 10,0%, determinado sobre 1,0 g de Ipecacuana pulverizada secada en estufa a 105 °C durante 2 horas.

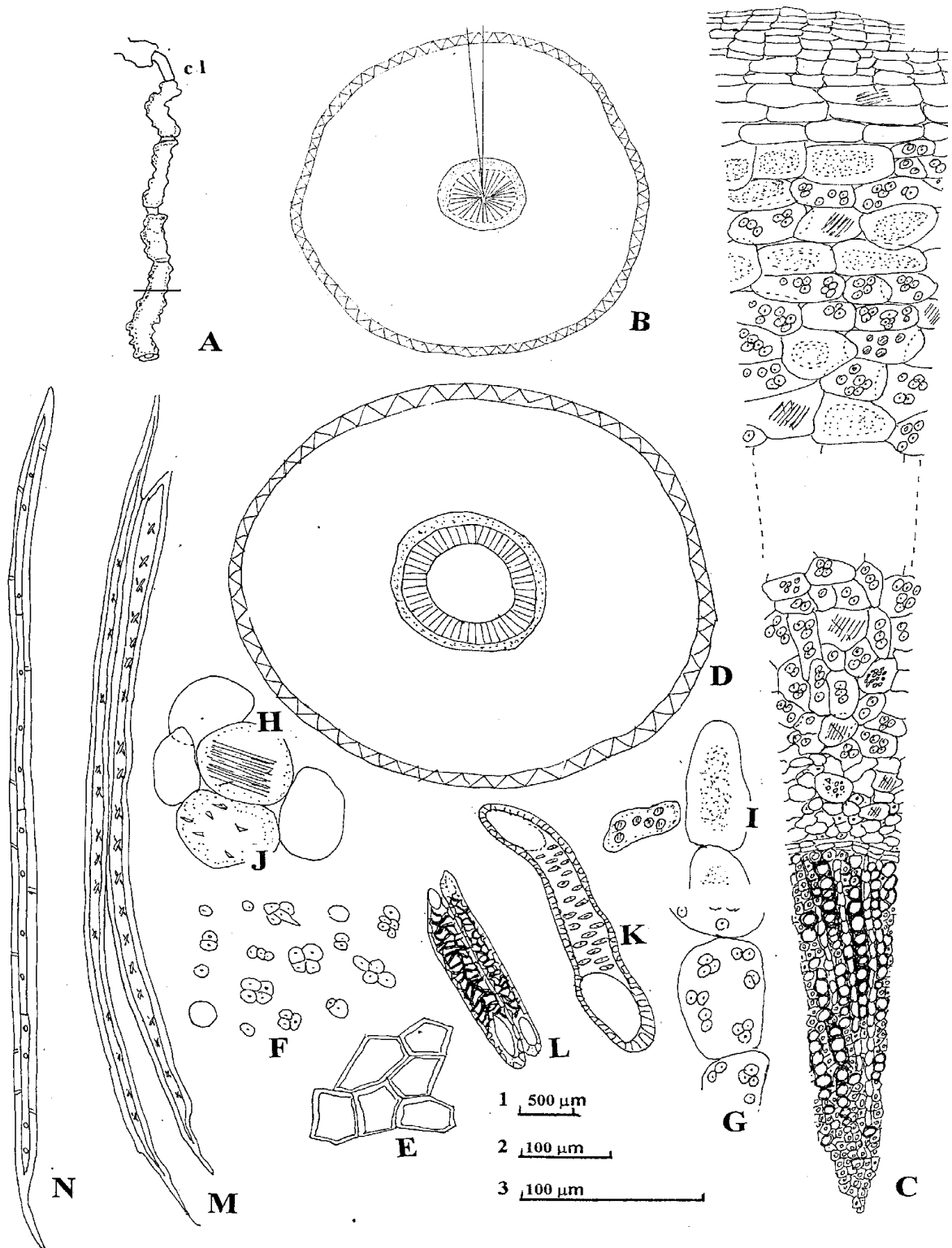
Tallos externos (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

nosia)

No debe contener más de 5 %.

VALORACIÓN

En un matraz aforado, transferir 7,5 g de Ipecacuana pulverizada, agregar 100 ml de éter y agitar durante cinco minutos. Agregar 5 ml de amoníaco diluido y agitar durante una hora. Agregar 5 ml de agua y agitar enérgicamente. Transferir la capa etérea a un matraz aforado empleando algodón como filtro. Lavar el residuo 2 veces con 25 ml de éter y filtrar. Combinar las fases etéreas y evaporar el éter por destilación. Disolver el residuo en 2 ml de alcohol al 90 % v/v. Evaporar hasta sequedad y calentar a 100 °C durante 5 minutos. Disolver el residuo en 5 ml de etanol al 90 % v/v, calentando en un baño de agua, agregar 15,0 ml de ácido clorhídrico 0,1 M. Titular el exceso de ácido con hidróxido de sodio 0,1 M, empleando 0,5 ml de una mezcla de 100 mg de rojo de metilo (SR) y 50 mg de azul de metileno (SR) en 100 ml de alcohol como indicador. Cada ml de ácido clorhídrico 0,1 M equivale a 24,03 mg de alcaloides totales, calculados como emetina.



Psychotria ipecacuanha (Brot.) Stokes, A-N: A, porción de raíz, morfología externa. B-D, sección transversal. B, representación esquemática de raíz. C, detalle de lo indicado en B. D, representación esquemática del rizoma. E, súber en vista superficial. F, almidón. G-J, células parenquimáticas. G, con almidón. H, con rafidos de oxalato de calcio. I, con fino granuloso. J, con microcristales de oxalato de calcio. K-L vasos. K, punteados. L, reticulados. M, fibrotraqueidas. N, fibra septada. cl, cilindro leñoso. Las regrillas corresponden a: 1 a B y D; 2 a C; 3 a E-N.

MANZANILLA, flores

Definición - Manzanilla está constituida por la inflorescencia desecada de *Matricaria recutita* L. (*Matricaria chamomilla* L., *Chamomilla recutita* (L. Rauschert) (Asteraceae). Debe contener no menos de 0,4 por ciento de aceite esencial y no menos de 0,3 por ciento de 7-glucósido de apigenina y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Bisabolol SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados, almacenados en un sitio fresco y seco.

ENSAYOS

Identificación

A- Características macroscópicas - Los capítulos son hemisféricos o cónicos, de aproximadamente 6 mm de diámetro. Constan de unas pocas flores externas liguladas y numerosas flores internas tubulosas sin páleas, dispuestas sobre un receptáculo hueco de 3 a 10 mm de diámetro. Involucro verde, formado por dos o tres series de brácteas oblongo-lanceoladas, glabras, imbricadas, con ápices obtusos y margen hialino. Las flores liguladas son blancas y pistiladas, de 7 a 10 mm de longitud y 2 a 3 mm de ancho; la lígula es tridentada y se encuentra recorrida por cuatro nervios principales ocasionalmente acompañados por uno o dos nervios paralelos más cortos. Las flores tubulosas son amarillas, perfectas, de alrededor de 2 mm de longitud; la corola tubulosa es pentadentada. Los estambres en número de 5 son singenésicos y epipétalos. El ovario es ínfero. El fruto es un aquenio ovoideo entre 3 y 5 estrías longitudinales.

B - Características microscópicas - En el material diafanizado se observan en vista superficial fragmentos de las brácteas del involucro cuya zona marginal está compuesta por células elongadas longitudinalmente con paredes delgadas y cutícula débilmente estriada; los estomas son anomocíticos. La corola de las flores liguladas y tubulosas muestra en superficie células isodiamétricas o alargadas con paredes ligeramente engrosadas y escasos pelos glandulares. La epidermis externa de las flores liguladas presentan células papilosas con cutícula estriada. La base del ovario de las flores liguladas y tubulosas muestra la presencia de un anillo de pequeñas esclereidas rectangulares con paredes moderadamente engrosadas y punteadas y asimismo se observan tricomas glandulares con una cabeza biseñada con 2 a 4 células que se disponen en hileras longitudinales, alternando con células alargadas

conteniendo mucílagos. Las células de la epidermis en el ápice de los estigmas están extendidas en forma de papilas redondeadas. Los fragmentos de filamentos y anteras de los estambres son muy abundantes. Los granos de polen son muy abundantes, poseen un diámetro de aproximadamente 30 μm , son redondeados, con tres poros germinales y una exina espinosa.

C - Aplicar las siguientes técnicas cromatográficas:

Ensayo 1

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo, agua, ácido acético glacial y ácido fórmico (100:26:11:11).

Solución estándar - Pesar exactamente alrededor de 5 mg de 7-O-glucósido apigenina y disolver en 10 ml de metanol.

Solución muestra - Pesar y reducir a polvo fino aproximadamente 5 g de manzanilla y transferir 1 g de la droga pulverizada a un matraz de 25 ml. Agregar 10 ml de metanol y mezclar. Calentar en un baño de agua a 60 °C durante 5 minutos agitando con frecuencia y filtrar.

Revelador 1 - Solución de difenilborinato de 2-aminoetilo al 1 % en metanol.

Revelador 2 - Solución de polietilenglicol 400 al 5 % en alcohol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa, en bandas, 20 μl de la *Solución muestra* y 10 μl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 1*. Dejar secar la placa al aire y luego pulverizar sobre la placa con *Revelador 2*. Examinar la placa, luego de 30 minutos aproximadamente, bajo luz ultravioleta a 366 nm. El cromatograma obtenido con la *Solución muestra* debe presentar tres bandas de fluorescencia amarillo-anaranjadas con un valor de entre 0,55 a 0,75, una de ellas con valor de e intensidad similar a la banda de 7-O-glucósido de apigenina en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar*. La *Solución muestra* presenta de cuatro a seis bandas de color celeste brillante con un valor de entre 0,45 y 0,95 correspondiente a la presencia de cumarinas.

Ensayo 2

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo y tolueno (93:7).

Solución estándar - Preparar una solución de Bisabolol SR-FA en tolueno (1:30).

Solución muestra - Diluir 1 ml del aceite esencial de Manzanilla con 9 ml de tolueno

Revelador - Reactivo vainillina-sulfúrico.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa, en bandas, 3 µl aproximadamente, 100 µg, de la *Solución estándar*, y 5 µl de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*. Calentar la placa a 110 °C durante 5 a 10 minutos. Examinar la placa a la luz visible. El cromatograma obtenido con la *Solución muestra* presenta una banda de color amarillo-verdosa correspondiente al óxido de bisabolol con un valor de R_f de aproximadamente 0,2; dos bandas violetas correspondientes a espatulenol y bisabolol con un valor de R_f de aproximadamente 0,25 y 0,35 que coincide en posición y color con la banda obtenida a partir de la *Solución estándar*. Se observan también dos bandas de color castaño oscuro con un valor de R_f de 0,5 y 0,6; y una banda rojo-violeta con un valor de R_f de 0,95 correspondiente al azuleno y otra de color azul-violeta con un R_f de 0,99 correspondiente al farneseno.

Cenizas totales (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No más de 13,0 %.

Determinación de aceites esenciales (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

Reducir a polvo grueso la Manzanilla, pesar 60,0 g y transferir a un balón de 500 ml. Agregar 0,5 ml de xileno en el tubo graduado y destilar con 300 ml de agua, a una velocidad entre 3 y 4 mm por minuto durante 2 horas.

Control higiénico (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de aflatoxinas <110>

Debe cumplir con los requisitos.

Pérdida por secado (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No más de 10,0 %.

Residuos de pesticidas (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

Sustancia orgánica extraña (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No más de 2,0 %.

VALORACIÓN

Contenido de 7-glucósido de apigenina

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 335 nm y una columna de 12,5 cm × 4 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 3 a 10 µm de diámetro. Programar la fase móvil para obtener una composición variable de *Solución A* y *Solución B* según se indica: en el momento de la inyección la proporción de *Solución B* corresponde al 26 %; mantener ese nivel durante 3 minutos; luego aumentar linealmente durante los siguientes 19 minutos hasta 85 % de *Solución B*; luego disminuir linealmente durante los siguientes 5 minutos a 26 % de *Solución B* y mantener esa composición durante los siguientes 3 minutos antes de la próxima inyección. El caudal debe ser aproximadamente 1 ml por minuto

Ácido fosfórico diluido - Transferir 5,0 ml de ácido fosfórico a un matraz aforado de 100 ml, agregar 50 ml de agua, diluir con agua a volumen y mezclar.

Solución A - Preparar una solución de fosfato monobásico de potasio 0,5 M. Ajustar con *Ácido fosfórico diluido* a un pH de $2,55 \pm 0,05$.

Solución B - Preparar una mezcla de acetónitrilo y metanol (65:35).

Preparación estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de 7-O-glucósido de apigenina y 7-metoxicumarina en metanol y diluir cuantitativamente y en etapas si fuera necesario, con metanol hasta obtener una solución con concentraciones conocidas de aproximadamente 25,0 µg de 7-O-glucósido de apigenina y 10,0 µg de 7-metoxicumarina por ml.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Manzanilla, transferir a un erlenmeyer equipado con un refrigerante y un agitador, agregar 80,0 ml de metanol, y calentar a reflujo la mezcla con agitación durante 1 hora. Enfriar el erlenmeyer a temperatura ambiente, filtrar la solución metanólica a través de un papel de filtro plegado y recoger el filtrado en un matraz aforado de 100 ml. Lavar el matraz con 3 ml de metanol, verter los lavados a través del papel de filtro y agregar el filtrado al matraz aforado. Diluir con metanol a volumen, mezclar y filtrar. Transferir 25,0 ml de la

solución filtrada a un balón equipado con un refrigerante y un agitador, agregar 5,0 ml de solución de hidróxido de sodio, preparada mediante disolución de 0,4 g de hidróxido de sodio en 5,0 ml de agua y calentar a reflujo la mezcla durante 25 minutos. Enfriar el balón y ajustar la solución con ácido clorhídrico a un pH entre 5,0 y 6,2. Transferir cuantitativamente la solución a un matraz aforado de 50 ml, diluir con metanol a volumen, mezclar y filtrar, descartando los primeros 10 ml del filtrado.

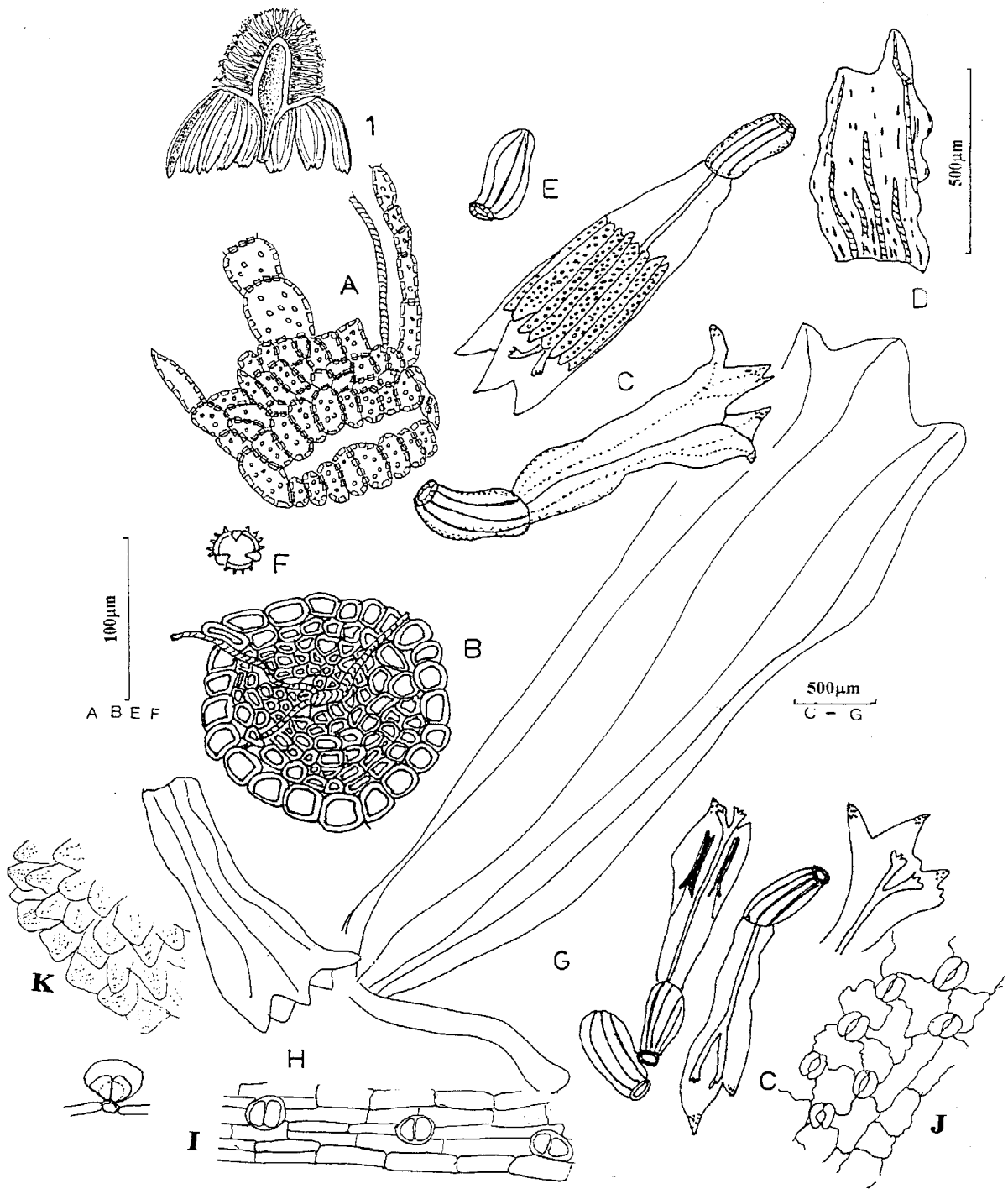
Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar aproximadamente 15 µl de la *Preparación estándar*. Hacer los ajustes necesarios para obtener tiempos de retención relativos de aproximadamente 0,63 y 1,0 para 7-*O*-glucósido de apigenina y 7-metoxicumarina, respectivamente; registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución *R* entre 7-*O*-glucósido de apigenina y 7-metoxicumarina no debe ser menor de 3,5; la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no debe ser mayor de 2,0 %.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 15 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*. Dejar eluir la *Preparación muestra* por lo

menos seis veces el tiempo de retención de 7-*O*-glucósido de apigenina. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos observados en el cromatograma de la *Preparación muestra*. Los tiempos de retención relativos deben ser aproximadamente 0,30; 0,47; 0,66; 0,89 y 1,0 para 7-*O*-glucósido de apigenina, 7-metoxicumarina, apigenina, *trans*-espiroéter y *cis*-espiroéter, respectivamente. Calcular el porcentaje de 7-glucósido de apigenina en la porción de Manzanilla en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$12(C/P)(/)$$

en la cual *C* es la concentración en mg por ml de 7-*O*-glucósido de apigenina en la *Preparación estándar*; *P* es el peso en g de Manzanilla en ensayo para la *Preparación muestra*, y *y* son las respuestas de los picos de 7-*O*-glucósido de apigenina obtenidos a partir de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, respectivamente.



Matricaria recutita L.

A-B: anillo de células engrosadas de la base del ovario; A, en vista lateral, B, vista superficial; C, flores del disco; D, bráctea del involucreo con elementos de conducción y muchas fibras; E, aquenio; F, grano de polen; G, corola de una flor ligulada, tridentata; H, corola de una flor del disco o tubulosa; I, tricomas glandulares; J, estomas anomocíticos de la bráctea del involucreo; K, papilas de las flores liguladas

MENTA, hoja

Definición - Menta está constituida por las hojas desecadas de *Menta x piperita* L. (Lamiaceae). La droga entera y la droga cortada deben contener no menos de 1,2 por ciento y 0,9 por ciento de aceite esencial, respectivamente, sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados almacenados en sitio fresco y seco.

ENSAYOS

Identificación

A - Características macroscópicas - La hoja es de forma ovado - oblonga a oblongo - lanceolada, de 1,5 a 9 cm de longitud, de ápice agudo, base angosta o redondeada y bordes aserrados; de color verde claro a verde oscuro; el haz es prácticamente liso y el envés es pubescente. El pecíolo es de 4 a 15 mm de longitud, pubescente.

La Menta tiene olor aromático característico, sabor penetrante y produce una sensación refrescante en la boca.

B - Características microscópicas - En vista superficial tanto la epidermis superior como la inferior constan de células de paredes onduladas con estomas diacíticos. Presenta pelos glandulares y no glandulares. Los pelos no glandulares son uniseriados, de cutícula papilosa, de hasta ocho células. Los pelos glandulares son de dos tipos: los más grandes se presentan hundidos en depresiones de la epidermis y constan de un pie de una a dos células y una cabeza secretora formada por unas ocho células dispuestas en forma de corona. Los más pequeños constan de un pie de una a dos células con una cabeza secretora de una sola célula.

En sección transversal ambas epidermis constan de una sola capa de células. El mesófilo presenta una sola capa de parénquima en empalizada y 3 a 4 capas de células de parénquima esponjoso. La nervadura central consiste en un haz vascular colateral.

C - Droga en polvo - Es de color verde claro a verde oliva. Presenta fragmentos de la epidermis con las características y elementos mencionados en *Características microscópicas*; fragmentos del mesófilo y fragmentos de las nervaduras.

D - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno y acetato de etilo (95:5).

Solución estándar - Disolver 50 mg de mentol, 20 µl de 1,8-cineol, 10 mg de timol y 10 µl de acetato de mentilo en tolueno y diluir hasta 10 ml con el mismo solvente.

Solución muestra - A 200 mg de Menta recientemente pulverizada agregar 2 ml de diclorometano, agitar durante algunos minutos y filtrar. Evaporar el filtrado aproximadamente a 40°C hasta sequedad, disolver el residuo en 0,1 ml de tolueno.

Revelador - Anisaldehído sulfúrico.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de la *Solución estándar* y 20 µl de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm. El cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe presentar una banda de fluorescencia débil inmediatamente debajo de la banda correspondiente al timol en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar*, correspondiente a pulegona. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar 5 a 10 minutos entre 100 y 105 °C.

Examinar la placa bajo luz visible. El cromatograma obtenido con la *Solución estándar* debe presentar una banda de color azul oscuro a violeta correspondiente al mentol con un valor de R_f aproximadamente de 0,30, una banda de color azul violáceo a pardo correspondiente al 1,8-cineol con un valor de R_f aproximadamente de 0,40, una banda rosa correspondiente al timol con un valor de R_f aproximadamente de 0,48 y una banda violeta azulada correspondiente al acetato de mentilo con un valor de R_f aproximadamente de 0,75. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar una banda intensa correspondiente al mentol y una banda débil correspondiente al 1,8-cineol. Entre las bandas de 1,8-cineol y de mentol puede presentar una banda anaranjada correspondiente a piperitona y por encima de la banda de 1,8-cineol, bandas verde azulada o verde grisáceas correspondientes a pulegona e isomentona y una banda violeta rojiza intensa correspondiente a hidrocarburos cerca del frente del solvente.

Cenizas insolubles en ácido (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No más de 1,5 %.

Cenizas totales (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

No más de 15 %.

Control higiénico (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de aflatoxinas <110>

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de agua <120>

No debe contener más de 11 %, determinado sobre 20 g de Menta por destilación.

Impurezas orgánicas volátiles <520>

Debe cumplir con los requisitos.

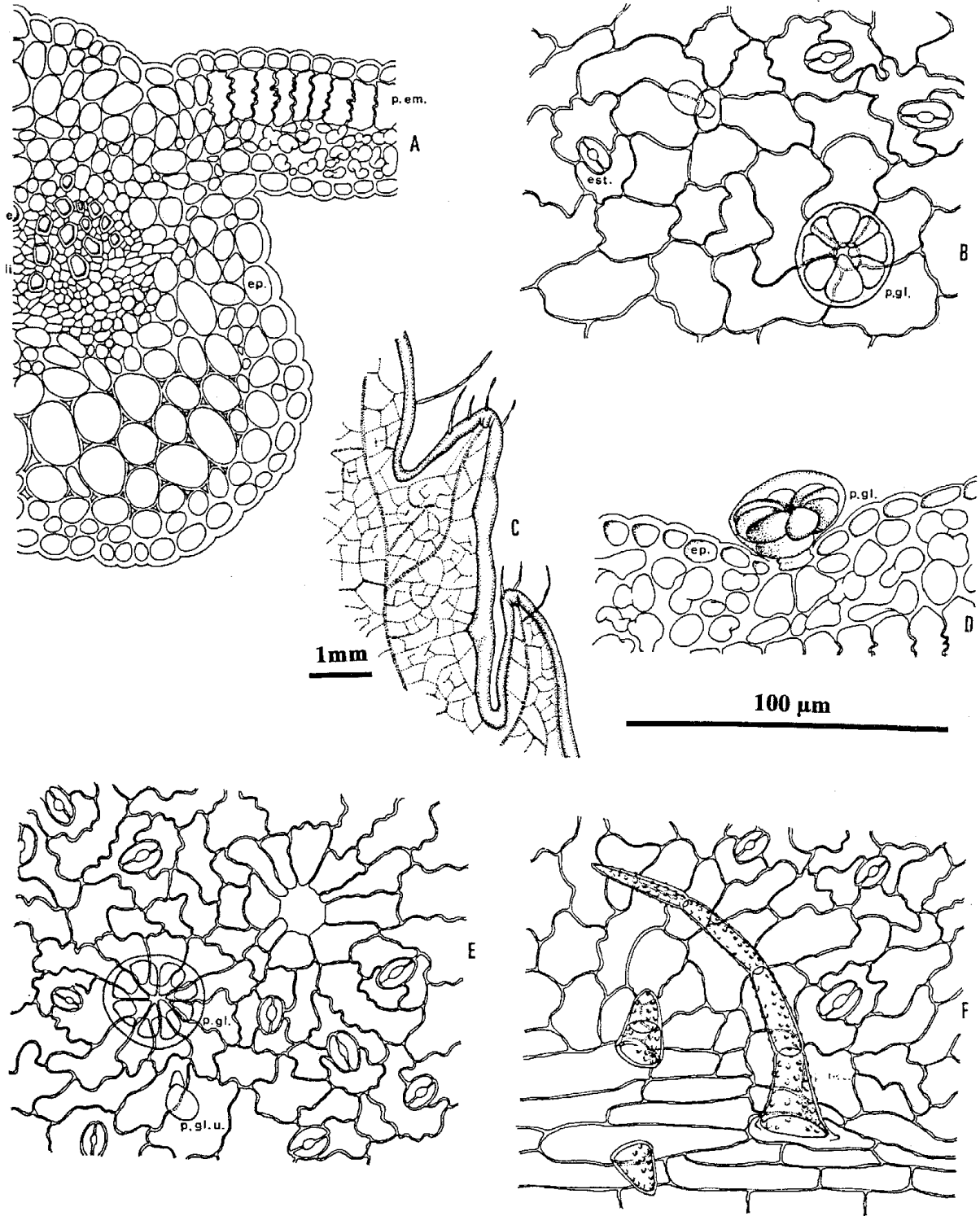
Tallos de menta u otras materias extrañas (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*)

La cantidad de tallos de Menta no debe ser mayor de 5 %; el diámetro de los tallos no debe ser mayor de 1,5 mm; no debe contener más de 2 % de otras materias extrañas y la cantidad de hojas que presenten bandas pardas de *Puccinia menthae* no debe ser mayor de 8 %.

VALORACIÓN

Realizar la determinación de aceites esenciales (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*). Pesar 20,0 g de Menta triturada y transferir a un matraz de 500 ml.

Destilar con 200 ml de agua y 0,5 ml de xileno en el tubo graduado, a una velocidad de 3 a 4 ml por minuto durante 2 horas.



Mentha x piperita L.

Hoja A: sección transversal, B: vista superficial de la epidermis superior, C: detalle de inervación y margen foliar, D: pelo glandular, E vista superficial de la epidermis inferior, F: pelo no glandular

PODÓFILO, RESINA DE

Sinonimia - Podofilina.

Definición - Resina de Podófilo es una mezcla pulverizada de resinas extraídas de *Podophyllum peltatum* Linneo (Berberidaceae), mediante percolación del material vegetal con alcohol y precipitación posterior del percolado concentrado por el agregado de agua acidificada. Debe contener no menos de 40,0 por ciento y no más de 50,0 por ciento de materia insoluble en hexano y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Podofilotoxina SR-FA.

Precaución - La Resina de Podófilo es altamente irritante a los ojos y a las mucosas.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos de cierre perfecto.

ENSAYOS

Identificación

A - La Resina de Podófilo debe ser soluble en hidróxido de potasio 1 N o en hidróxido de sodio 1 N, produciendo un líquido amarillo, que se torna gradualmente más oscuro en reposo y que produce un precipitado por agregado de ácido clorhídrico.

B - Una solución acuosa caliente de Resina de Podófilo debe dejar depositar por enfriamiento la mayor parte de sus solutos. Si se filtra el líquido enfriado, el filtrado se torna pardo al agregar gotas de cloruro férrico (SR).

C - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo y metanol (25:1).

Solución estándar - Disolver 50 mg de Podofilotoxina SR-FA en 10 ml de etanol.

Solución muestra - Transferir 1 g de Resina de Podófilo a un matraz aforado de 100 ml. Disolver en 30 ml de etanol y completar a volumen con el mismo solvente.

Revelador - Metanol y ácido sulfúrico al 50 %.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa, en bandas, 10 µl de la *Solución muestra* y

10 µl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar que el solvente se evapore. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y secar en estufa a 130 °C durante 10 minutos. El cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe presentar una banda correspondiente en valor de R_f y color a la banda principal obtenida con la *Solución estándar* y no debe presentar bandas grisáceas en el tercio medio del cromatograma pero si pueden estar presentes otras bandas coloreadas.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 1,5 %.

Diferencia con la Resina de Podófilo de la India (*Podophyllum hexandrum* Royle)

A - Agregar 400 mg de Resina de Podófilo a 3 ml de alcohol al 60 %, agregar 0,5 ml de hidróxido de potasio 1 N, agitar la mezcla suavemente y dejar en reposo durante 2 horas: no debe gelatinizar.

B - A 5 ml de una solución de Resina de Podófilo al 0,5 % en alcohol, agregar 0,5 ml de una solución de acetato de cobre al 0,5 %: se debe producir color verde brillante, sin precipitado [NOTA: con el Podófilo de la India se produce un precipitado pardo].

VALORACIÓN

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Resina de Podófilo, transferir a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con alcohol. Transferir 10 ml de esta solución a una ampolla de decantación y agregar 90 ml de agua. Extraer la mezcla con seis porciones de diclorometano, combinar las fases orgánicas y extraer con 10 ml de hidróxido de sodio 0,2 N y luego con cinco porciones de 10 ml de agua. Lavar por separado las seis porciones de 20 ml de diclorometano, combinar las fases orgánicas y filtrar.

Procedimiento - Evaporar hasta sequedad el filtrado y disolver el residuo en 100 ml de alcohol. Diluir 10 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente y medir la absorbancia (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) a 292 nm. Calcular el contenido de ariltetralin lignanos expresados como podofilotoxina, empleando como coeficiente de extinción específica $E(1\%, 1\text{ cm})$ 105,4.

REGALIZ, raíz

Definición - Regaliz está constituido por las raíces y los rizomas desecados de *Glycyrrhiza glabra* L. (Fabaceae). Debe contener no menos de 2,5 por ciento de ácido glicirrónico calculado sobre la droga seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados, en sitio fresco y seco.

ENSAYOS

Identificación

A - Características macroscópicas - Las raíces y rizomas se presentan en piezas cilíndricas de una longitud de 14 a 20 cm o más y un diámetro de 5 a 20 mm; externamente la corteza presenta color pardo amarillento o pardo oscuro, es longitudinalmente rugosa o estriada. Los rizomas más delgados presentan yemas de posición alterna y cicatrices de raíces pequeñas; éstas se originan sobre el rizoma en proximidad de las yemas. La fractura de la raíz y del rizoma es fibrosa. La corteza es delgada; la región del floema secundario es gruesa y ligeramente amarilla con estrías radiales. El xilema, amarillo, cilíndrico, es compacto con estructura radial. El rizoma posee una médula central pequeña, la que está ausente en la raíz.

B - Características microscópicas - El corte transversal del rizoma muestra una peridermis angosta, el súber constituido por varias hileras de células suberosas poligonales de paredes delgadas con contenido de color pardo rojizo. Le continúa el cilindro cortical con células colenquimatosas, algunas de ellas con cristales simples de oxalato de calcio. Le sigue un parénquima cortical, algunas de cuyas células contienen granos de almidón ovalados y prismas de oxalato de calcio. El floema de color amarillo se dispone en anchas regiones en forma radial y separadas entre sí por radios parenquimáticos de 1 a 8 células de ancho. Cada región del floema está constituida por haces de fibras amarillas de gruesas paredes rodeadas de una vaina parenquimática, donde en cada célula se observa un cristal simple de oxalato de calcio. Los elementos de conducción del floema, acompañados por fibras floemáticas muy largas, de gruesas paredes con lumen angosto, se hallan próximas al cambium pluriestratificado. El xilema amarillo se dispone en forma radiada, las zonas del xilema se hallan separadas unas de otras por radios parenquimáticos que se conectan con los radios del floema. El xilema está constituido por anchas tráqueas rodeadas por

traqueidas amarillas, grupos compactos de gruesas fibras que están parcialmente rodeadas de vainas parenquimáticas cristalíferas, cada célula contiene prismas simples de oxalato de calcio y parénquima leñoso, el que contiene almidón y cristales. La médula del rizoma es parenquimatosa, contiene almidón y prismas simples de oxalato de calcio.

C - Droga en polvo - El polvo es de color ligeramente amarillo parduzco a débilmente grisáceo, muestra fragmentos de fibras con gruesas paredes amarillas de 700 a 1.200 μm de largo y 10 a 20 μm de ancho, con un lumen puntiforme, a menudo acompañado por una vaina cristalina conteniendo cristales de oxalato de calcio de 10 a 35 μm de largo y 2 a 5 μm de ancho. Los vasos de color amarillo miden de 100 a 160 μm de longitud y 30 a 70 μm de diámetro, tienen numerosas puntuaciones rebordeadas ovales con forma de hendidura; las traqueidas miden entre 100 a 140 μm de longitud y 10 a 14 μm de diámetro. Los fragmentos de corteza consisten en células de paredes delgadas y se observan prismas de oxalato de calcio aislados, así como fragmentos de tejido parenquimatoso. El polvo muestra gránulos de almidón simples, redondos u ovales con hilo semilunar o lineal de 3 a 12 μm pudiendo llegar hasta 20 μm de diámetro.

D - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Butanol, agua y ácido acético glicólico (70:20:10).

Solución estándar - Disolver 5 mg de ácido glicirrónico en 1 ml de una mezcla de alcohol y agua (70:30).

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 2,0 g de Regaliz, previamente reducido a polvo fino y transferir a un recipiente apropiado. Agregar 10 ml de una mezcla de alcohol y agua (70:30), calentar en un baño de agua durante 5 minutos con agitación, enfriar y filtrar.

Procedimiento - Aplicar por separado 2 μl de la *Solución muestra* y 2 μl de la *Solución estándar*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la placa. Retirar de la cámara, dejar secar y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm. El cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, entre otras, debe presentar una mancha púrpura oscura, correspondiente al ácido glicirrónico, similar en valor de (aproximadamente 0,4) a la mancha principal obtenida con la *Solución estándar*.

Cenizas totales (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No mayor de 7,0 %.

Control higiénico (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de aflatoxinas <110>

Debe cumplir con los requisitos.

Límite de metales pesados <590>

Método I. No más de 0,003 %.

Materia extraña (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe contener más de 2 %.

Pérdida por secado (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Secar a 105 °C durante 6 horas. No debe perder más de 12 % de su peso, determinado sobre 1 ó 2 g de Regaliz reducido a polvo fino.

Residuo de pesticidas (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACION

Sistema cromatográfico - un equipo para cromatografía de líquidos equipado con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm y una columna de 15 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 0,6 ml por minuto.

Solución A - Ácido acético y agua (1:15).

Fase móvil - *Solución A* y acetonitrilo (3:2).

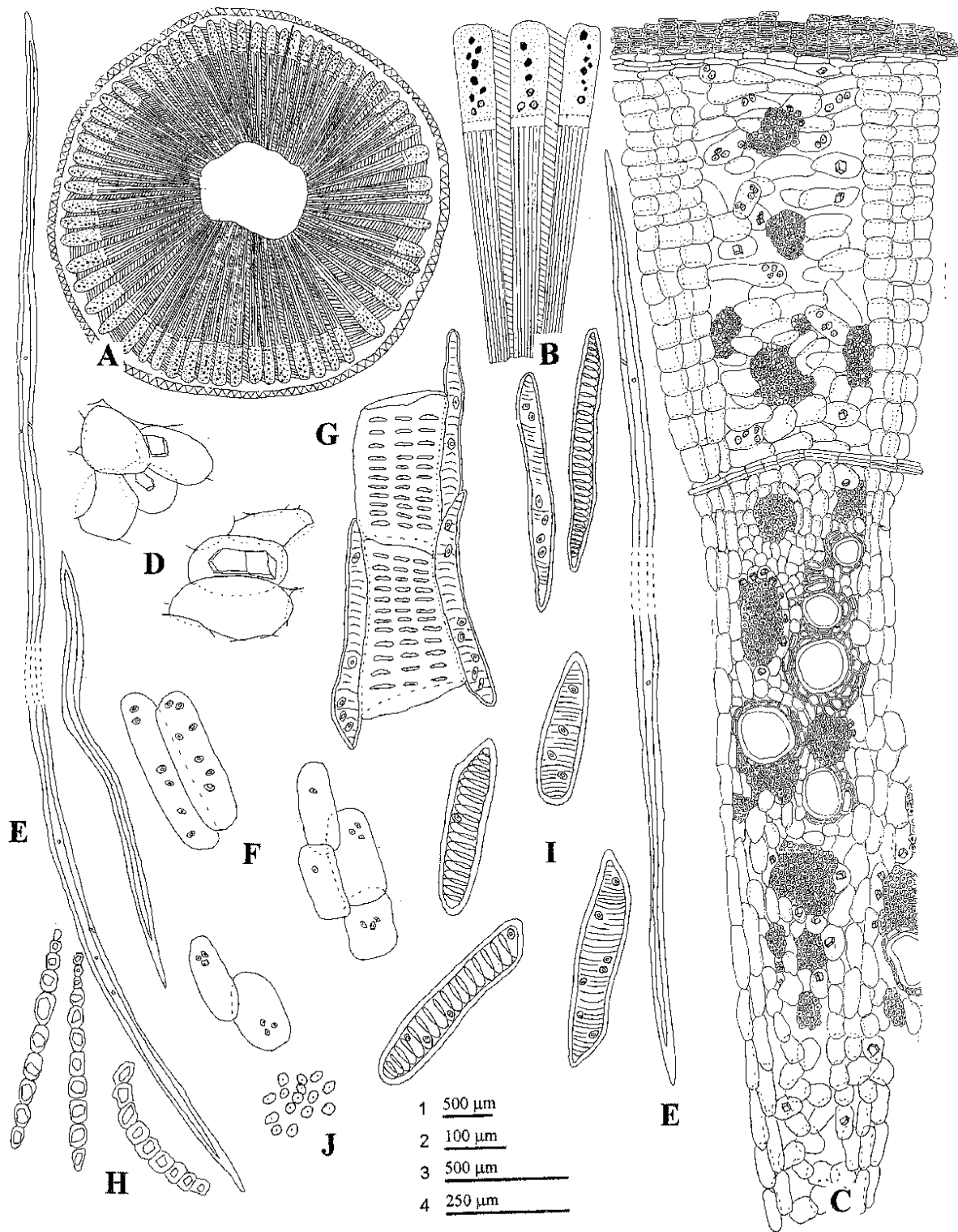
Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 25,0 mg de ácido glicirrónico, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 30 ml de una mezcla de agua y alcohol (50:50) y agitar hasta disolución total. Completar a volumen con el mismo solvente.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Regaliz reducido a polvo fino y transferir a un erlenmeyer de 125 ml. Agregar 70 ml de una mezcla de agua y alcohol (50:50), agitar durante 15 minutos, centrifugar y transferir el sobrenadante a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 25 ml del mismo solvente al residuo obtenido, agitar durante 15 minutos y centrifugar. Transferir el sobrenadante obtenido al matraz anteriormente empleado y completar a volumen con la mezcla de agua y alcohol (50:50).

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y de la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas correspondientes al ácido glicirrónico. Calcular el contenido en porcentaje de ácido glicirrónico en la porción de Regaliz en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$100(\prime)(\prime)$$

en la cual es el peso en gramos del ácido glicirrónico en la *Preparación estándar*, es el peso en gramos de la porción de la muestra en ensayo, y y son las respuestas de los picos del ácido glicirrónico en la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, respectivamente.



Glycyrrhiza glabra L. A, B, representación esquemática de la sección transversal del rizoma; C detalle de lo indicado en B; D, células parenquimáticas conteniendo cristales monoclinos de oxalato de calcio; F, fibras del floema; F, células parenquimáticas conteniendo granos de almidón simples; G, vasos o tráqueas acompañados por traqueidas anilladas; H, vaina de células parenquimáticas cristalíferas; I, traqueidas, anilladas y helicadas; J, granos de almidón simples. Las reglillas corresponden 1 a A, 2 a C, 3 a B, 4 a D-J.

SEN, hoja

Definición - El Sen está constituido por los folíolos desecados de *Senna alexandrina* P. Miller (Caesalpinaceae ex Fabaceae) (*Cassia acutifolia* Del. *C. angustifolia* Vahl). Debe contener no menos de 2,5 por ciento de glicósidos hidroxiantracénicos calculados como sennósido B sobre la sustancia seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Extracto de Sen SR-FA.

CONSERVACION

Conservar protegido de la luz y de la humedad.

ENSAYOS

Identificación

A - Características macroscópicas - Se presenta como folíolos desigualmente lanceolados u oval-lanceolados, frecuentemente rotos, de 1,5 cm a 5 cm de largo por 5 mm a 15 mm de ancho, desiguales en la base, con pecíolos gruesos muy cortos. Los folíolos tienen ápice agudo y son enteros, quebradizos y subcoriáceos, con pelos cortos y algo aplastados, escasos en la cara superior, más numerosos en la cara inferior, donde aparecen en la nervadura media. Su color varía de amarillo pálido a verde grisáceo claro y verde oliva pálido. Presenta olor característico.

B - Características microscópicas - Presenta en vista superficial células epidérmicas poligonales con paredes rectas y contenido mucilaginoso; estomas numerosos mayoritariamente parasíticos, de 20 a 35 μm de longitud. Los pelos son unicelulares, cónicos, a menudo curvos, con paredes gruesas, papilosas, de 100 a 350 μm de longitud. En sección transversal muestra un mesófilo isobilateral con una sola capa de células en empalizada. La nervadura central está constituida por un haz colateral rodeado por una vaina de células parenquimáticas que contienen cristales prismáticos de oxalato de calcio, reforzado por casquetes de fibras tanto hacia el lado adaxial como hacia el abaxial. El oxalato de calcio aparece en agregados en forma de roseta en el parénquima esponjoso y en prismas de seis a ocho lados en las vainas con cristales, que se encuentran en la superficie exterior de cada grupo de fibras.

C - Droga en polvo - Color amarillo verdoso a verde oliva pardo a la luz, presenta fragmentos de nervaduras con vasos, traqueidas, fibras y vainas parenquimáticas con cristales prismáticos de oxalato de calcio, pelos unicelulares, fragmentos de mesófilo que contienen drusas de oxalato de calcio y de epidermis con estomas.

Previa hidrólisis alcalina - Mezclar 500 mg de Sen con 10 ml de una solución 1 en 10 de hidróxido de potasio en alcohol, calentar hasta ebullición durante aproximadamente 2 minutos, diluir con 10 ml de agua y filtrar. Acidificar el filtrado con ácido clorhídrico, agitar con éter, retirar la capa etérea y agitarla con 5 ml de hidróxido de amonio 6 N. Esta se debe tornar de color rojo anaranjado.

Previa hidrólisis ácida - Transferir a un erlenmeyer 25 mg de droga pulverizada (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*) y agregar 50 ml de agua y 2 ml de ácido clorhídrico. Calentar en un baño de agua durante 15 minutos, enfriar y agitar con 40 ml de éter. Separar la capa etérea y desecar sobre sulfato de sodio anhidro, evaporar 5 ml a sequedad y al residuo frío agregar 5 ml de amoníaco diluido. Debe aparecer una coloración amarilla o anaranjada. Calentar en un baño de agua durante 2 minutos. Se debe desarrollar una coloración rojo-violeta.

D - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta de gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo, propanol, agua, ácido acético glacial (40:40:30:1).

Solución estándar - Disolver 10 mg de Extracto de Sen SR-FA en 1 ml de una mezcla de volúmenes iguales de alcohol y agua.

Solución muestra - Agregar a 0,5 g de la droga pulverizada (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*), 5 ml de una mezcla de volúmenes iguales de alcohol y agua. Calentar hasta ebullición. Centrifugar y emplear el líquido sobrenadante.

Revelador 1 - Solución de ácido nítrico al 20 por ciento v/v.

Revelador 2 - Solución al 5 % de hidróxido de potasio en alcohol al 50 por ciento.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 μl de cada solución en bandas de 20 mm por 2 mm. Desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Dejar secar al aire, pulverizar sobre la placa con **Revelador 1** y calentar a 102 °C durante 10 minutos. Dejar enfriar y pulverizar con **Revelador 2** hasta que las bandas aparezcan. Las bandas principales del cromatograma obtenido con la **Solución muestra** son similares en posición (sennósidos B, A, D y C por orden creciente de *R_f*), coloración y tamaño a las bandas principales del cromatograma obtenido con la **Solución estándar**. Entre las bandas correspondientes a los sennósidos D y C puede aparecer una banda roja correspondiente a la reina - 8 - glucósido.

Cenizas insolubles en ácido (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe contener más de 3,0 %.

Cenizas totales (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe contener más de 12,0 %.

Materia extraña (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe contener más de 3 % de órganos extraños y no más de 1 % de elementos extraños.

Pérdida por secado (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe contener más de 12,0 %, determinado sobre 1,000 g de droga pulverizada secada en estufa a 100 - 105 °C durante 2 horas.

Raíces de sen, vainas u otras materias extrañas (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

La cantidad de raíces de Sen no debe exceder de 8,0 % y la cantidad de vainas de Sen u otra materia extraña no debe exceder de 2,0 %.

VALORACIÓN

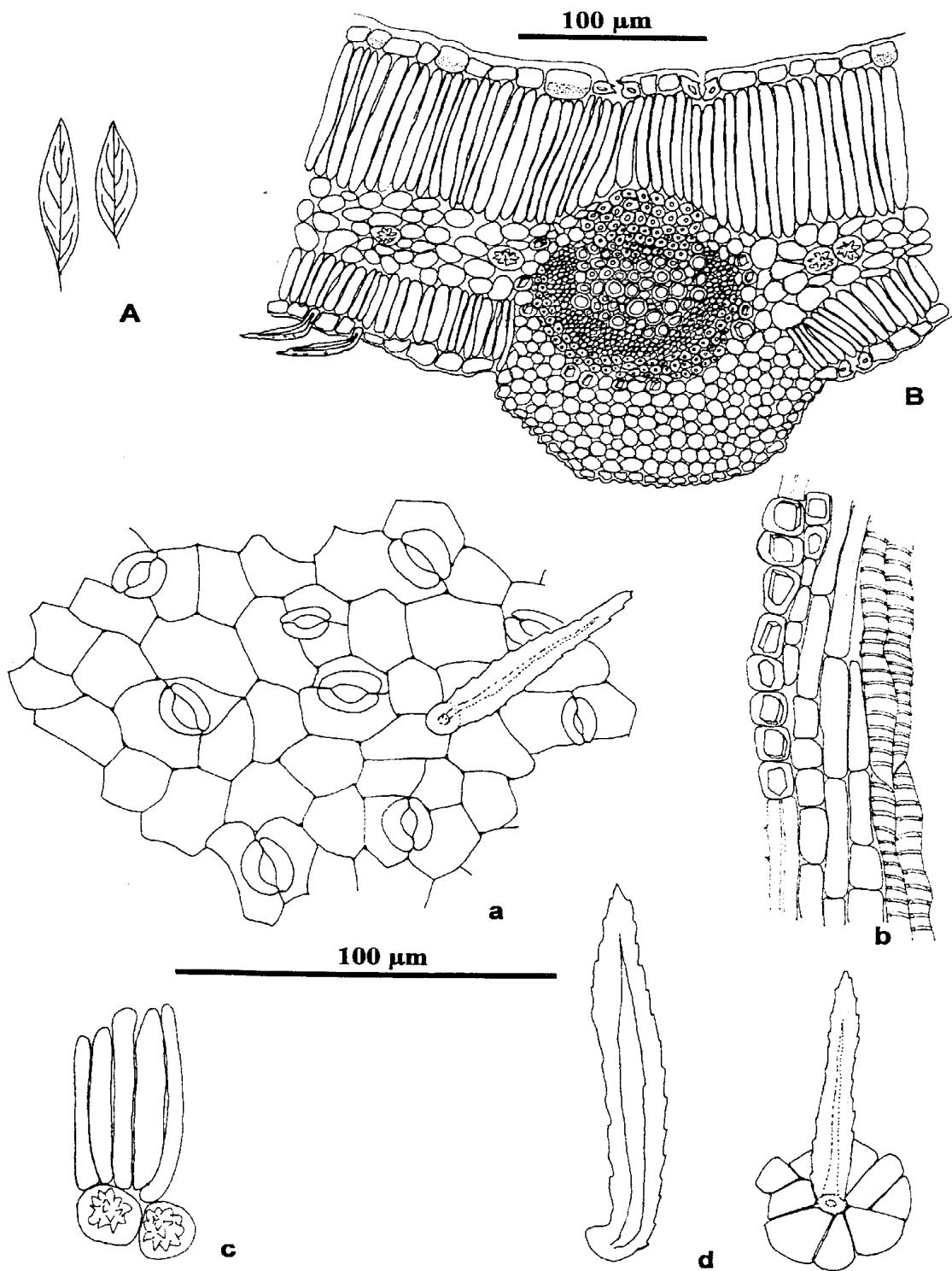
[NOTA: Llevar a cabo la valoración protegida de la luz intensa].

En un matraz aforado de 100 ml transferir 150 mg de la droga pulverizada (ver 630. *Métodos de Farmacognosia*) y agregar 30,0 ml de agua. Mezclar, pesar y colocar en un baño de agua. Calentar a reflujo durante 15 minutos. Dejar enfriar, pesar y restablecer el peso original con agua. Centrifugar y colocar 20,0 ml del líquido sobrenadante en una ampolla de decanta-

ción de 150 ml. Agregar 0,1 ml de ácido clorhídrico diluido al 10 % y agitar tres veces con 15 ml de clorofórmico cada vez. Dejar separar y eliminar la capa clorofórmica. Agregar 100 mg de bicarbonato de sodio y agitar durante 3 minutos. Centrifugar y colocar 10,0 ml del líquido sobrenadante en un matraz aforado de 100 ml con tapón esmerilado. Agregar 20 ml de solución de cloruro férrico y mezclar. Calentar a reflujo durante 20 minutos en un baño de agua, de manera que el nivel de agua quede más alto que el del líquido del matraz. Agregar 1 ml de ácido clorhídrico y calentar durante 20 minutos más, agitando frecuentemente hasta disolver el precipitado. Enfriar, colocar la mezcla en una ampolla de decantación y agitar tres veces con 25 ml cada vez del éter empleado previamente para lavar el matraz. Reunir las tres capas etéreas y lavar dos veces con 15 ml de agua cada vez. Transferir las capas etéreas a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con éter. Evaporar 10,0 ml cuidadosamente a sequedad y disolver el residuo en 10,0 ml de una solución de acetato de magnesio de 5 g por litro en metanol. Medir la absorbancia de la solución a 515 nm, empleando metanol como blanco. Calcular el contenido en porcentaje de sennósido B en la porción de Sen en ensayo por la fórmula siguiente:

$$1,25A/m$$

en la cual A es la absorbancia a 515 nm y m es la masa de la sustancia a examinar en gramos. Emplear como coeficiente de extinción específica $E(1\%, 1\text{ cm})$ de sennósido B un valor de 240.



Senna alexandrina P. Millar (Fabaceae)

Foliolos A, Sección transversal B.

Droga en polvo:

a: Vista superficial de la epidermis con estomas y pelos no glandulares; b: fragmentos de nervadura; c: drusas; d: pelos no glandulares

UVA URSI, hoja

Definición - Uva Ursi consiste en la hoja entera y desecada de *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng (Ericaceae). Debe contener no menos de 7,0 por ciento de arbutina, calculado sobre el material desecado.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados, en un sitio seco y fresco.

ENSAYOS

Identificación

A - Características macroscópicas - La hoja es brillante y verde oscura en la cara superior y más clara, verde amarillenta, en la cara inferior, de 7 a 30 mm de largo y 5 a 12 mm de ancho. Lámina obovada, espatulada, ápice obtuso, base aguda y angosta, margen entero y ligeramente revoluto. En las hojas jóvenes ambas caras son glabras y finamente reticuladas. La textura es coriácea, la fractura breve, el olor ligeramente aromático y sabor astringente y amargo. El pecíolo es aproximadamente de 3 mm de largo, ligeramente pubescente.

B - Características microscópicas - La vista superficial de la epidermis presenta la epidermis superior con células poligonales de paredes rectas, sin estomas. La epidermis inferior está constituida por células isodiamétricas de paredes rectas; presenta estomas anomocíticos, con apertura circular. La sección transversal de la lámina presenta una epidermis uniestratificada, la cutícula de ambas epidermis es muy gruesa. Las hojas jóvenes presentan pelos unicelulares cónicos. El mesófilo es dorsiventral con 3 a 4 hileras de células en empalizada y 8 a 9 capas de parénquima esponjoso que contiene una materia pigmentada de color pardo amarillento. Las células parenquimáticas, que rodean a las angostas fibras asociadas al haz vascular, contienen cristales de oxalato de calcio. En la región del nervio medio, que está constituido por un solo haz vascular colateral de forma plano-convexa, se observa colénquima de tipo laminar en relación con ambas epidermis. El pecíolo en sección transversal es plano convexo. La epidermis es similar a la descrita para la lámina; en posición subepidérmica se observa colénquima laminar dispuesto de manera continua y un haz vascular cóncavo convexo.

C - Droga en polvo - Polvo verde amarillento. Se observan fragmentos de células epidérmicas poligonales con estomas anomocíticos; fragmentos de fibras lignificadas asociadas con parénquima que

contiene prismas de oxalato de calcio y numerosas células de parénquima conteniendo resina amarilla. Ocasionalmente se observan tricomas cónicos, unicelulares.

D - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica:

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta de gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo, agua y ácido fórmico anhidro (88:6:6).

Solución estándar - Disolver 25 mg de arbutina, 25 mg de ácido gálico y 25 mg de hidroquinona en 10 ml de metanol.

Solución muestra - Calentar a reflujo durante 10 minutos, 500 mg de Uva Ursi reducido a polvo con 5,0 ml de una mezcla de metanol y agua (1:1). Filtrar en caliente, lavar el recipiente y el filtro con el mismo solvente. Transferir a un matraz de 5,0 ml y llevar a volumen con el solvente de extracción.

Revelador 1 - Solución de dicloroquinonclorimida en metanol al 1,0 %.

Revelador 2 - Solución de carbonato de sodio anhidro al 2,0 %.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de la *Solución estándar* y 20 µl de la *Solución muestra*. Desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa, secar a una temperatura entre 105 y 110 °C y pulverizar sobre la placa con *Revelador 1* y luego con *Revelador 2*. El cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar* presenta dos bandas en la zona superior, la de mayor R_f de color azul, corresponde a hidroquinona e inmediatamente por debajo de ella, la otra banda de color pardo, correspondiente al ácido gálico. La zona inferior presenta una banda celeste correspondiente a arbutina. El cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, además de las bandas mencionadas para la *Solución estándar*, puede presentar otras bandas de color azul o gris-pardo.

Cenizas totales (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe contener más de 5,0 %.

Control higiénico (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de aflatoxinas <110>

Debe cumplir con los requisitos según el destino.

Límite de metales pesados <590>

No más de 0,001 %.

Materia extraña (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe contener más de 5 % de tallos ni más de 3 % de otras materias extrañas.

Pérdida por secado (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe perder más de 10 % de su peso.

Residuo de pesticidas (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema Cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm de diámetro, con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice porosa de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser de aproximadamente 1,2 ml por minuto.

Fase móvil - Agua y metanol (90:10). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*)

Preparación estándar - Transferir 10,0 mg de arbutina, exactamente pesados, a un matraz aforado de 10,0 ml y agregar 5,0 ml de *Fase móvil*. Sonicar

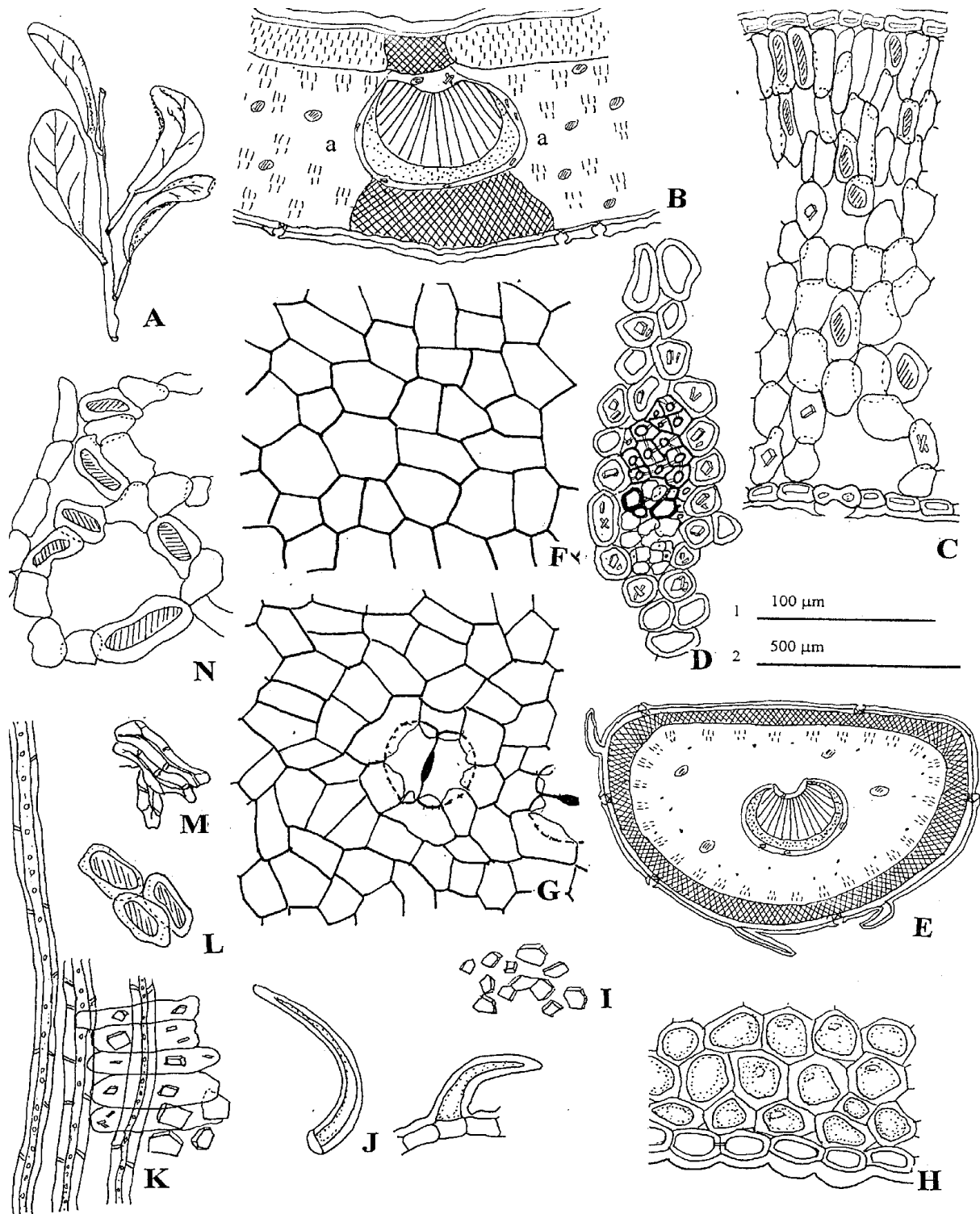
hasta disolución total y completar a volumen con *Fase móvil*.

Preparación muestra - Reducir a polvo una porción de Uva Ursi, pesar exactamente alrededor de 0,80 g y extraer con 20 ml de agua, calentando a reflujo en un baño de agua durante 30 minutos. Dejar enfriar y filtrar el líquido a través de un torunda de algodón absorbente. Agregar el algodón absorbente al residuo del recipiente utilizado y extraer con 20 ml de agua a reflujo en un baño de agua durante 30 minutos. Dejar enfriar y filtrar a través de papel de filtro. Combinar los filtrados y transferir a un matraz aforado de 50 ml con agua. Filtrar a través de papel de filtro. Descartar los primeros 10 ml del filtrado.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales de la *Preparación estándar* y de la *Preparación muestra*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. Calcular el porcentaje de arbutina en la porción de Uva Ursi en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$100(P_E/P_M)(r_M/r_E)$$

en la cual P_M es el peso en gramos de Uva Ursi en ensayo, P_E es el peso en gramos de arbutina en la *Preparación estándar*, y r_M y r_E son las respuestas de los picos correspondientes a arbutina en la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, respectivamente.



Arctostaphylos uva-ursi (L.) Spreng. A-N: A, vástago; B-E sección transversal ; B-D, lámina foliar; B, zona del nervio medio, esquema; C, detalle del semilimbo según lo indicado en B; C, detalle de un nervio secundario. E, pecíolo, esquema. F-G, vista superficial, epidermis: F, superior, G, inferior. H-N: *Droga en polvo*: H, porción de colénquima laminar; I, cristales de oxalato de calcio; J, pelos simples del pecíolo; K, fragmento de un grupo de fibras con células parenquimáticas asociadas que contiene cristales de oxalato de calcio; L, grupo de células parenquimáticas con contenido de color amarillo. Las reglillas corresponden 1 a C, D, F-N; 2 a B y E.

VALERIANA, raíz y rizoma

Definición - Valeriana está constituida por las raíces y rizomas de *Valeriana officinalis* L. (Valerianaceae) desecados cuidadosamente a menos de 40 °C. Debe contener no menos de 0,17 por ciento de ácido valerénico calculado sobre la droga seca y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos bien cerrados, en sitio fresco.

ENSAYOS

Identificación

A - *Características macroscópicas*. Rizomas color gris-amarillento a gris pardusco, verticales, de 2 a 4 cm de longitud y 1 a 2,5 cm de ancho, pueden aparecer enteros o partidos. En el corte longitudinal, la médula presenta una cavidad central con tabiques transversales. Las raíces, blanquecinas o amarillentas en su interior, de hasta 10 cm de longitud y 2 mm de diámetro, cilíndricas, más o menos enredadas y rotas, a veces envuelven casi completamente al rizoma o están casi completamente separadas de él. Fractura corta y córnea. Olor característico y sabor canforáceo y ligeramente amargo.

B - *Características microscópicas*. El corte transversal del rizoma presenta una peridermis delgada, una amplia zona cortical parenquimatosas rica en almidón y una endodermis que contiene glóbulos de aceite esencial. Rodeada por un anillo de haces vasculares colaterales, existe una amplia médula que contiene grupos dispersos de esclereidas rectangulares. El corte transversal de la raíz permite observar una epidermis con células papilosas y pelos radicales, una exodermis de una u ocasionalmente dos hileras de células grandes y paredes suberizadas que contienen glóbulos de aceite esencial. La corteza externa de 2 a 4 hileras de células con paredes finas o colenquimatosas, algunas veces suberizadas conteniendo resinas. La corteza interna y el parénquima de la médula, ésta última bien desarrollada en las raíces viejas, contienen almidón, en granos simples o compuestos de 2 a 4 unidades que miden de 3 a 20 μm de diámetro. En ambos parénquimas se observan microcristales de oxalato de calcio e idioblastos con resinas.

C - *Droga en polvo*. Color pardo amarillento. Presenta fragmentos de súber, esclereidas rectangulares aisladas y células parenquimáticas que contienen granos de almidón simples o compuestos como los descriptos. Se observan células que contienen glóbulos de aceite esencial, también miembros de vasos espiralados, escaleriformes y punteados,

células con resinas de color pardo claro, rizodermis con papilas y pelos

D - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía, de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Hexano, acetato de etilo y ácido acético glacial (65:35:0,5).

Solución estándar - Disolver 5,0 mg de *Fluoresceína* y 5,0 mg de Sudán III en 20 ml de metanol.

Solución muestra - Reducir a polvo fino una porción de Valeriana, pesar exactamente alrededor de 1,0 g de polvo, transferir a un recipiente apropiado y agregar 6 ml de metanol. Agitar durante 15 minutos y filtrar. Lavar el filtro con metanol para obtener 5 ml de filtrado. Evaporar el filtrado hasta obtener 2 ml y agregar 3 ml de una solución de hidróxido de potasio al 10 % p/v. Transferir a una ampolla de decantación y extraer con dos porciones de 5 ml cada una de cloruro de metileno. Descartar la fase inferior y calentar la fase acuosa en un baño de agua a 40 °C durante 10 minutos. Enfriar y agregar ácido clorhídrico diluido hasta obtener reacción ácida. Agitar con dos porciones de 5 ml de cloruro de metileno. Filtrar a través de sulfato de sodio anhidro y evaporar hasta sequedad. Disolver el residuo obtenido en 1 ml de cloruro de metileno.

Revelador - Anisaldehído-sulfúrico (SR).

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 20 μl de la *Solución estándar* y 20 μl de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara y dejar secar al aire. Examinar bajo luz natural. El cromatograma obtenido con la *Solución estándar* debe presentar una banda roja correspondiente a Sudán III con un valor de R_f de aproximadamente 0,45 y una banda amarillenta correspondiente a fluoresceína con un valor de R_f de aproximadamente 0,18. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar entre 100 y 105 °C durante 5 a 10 minutos. El cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe presentar una banda azul-violeta, correspondiente al ácido hidroxivalerénico, con el mismo valor de R_f que la fluoresceína y una banda violeta, correspondiente al ácido valerénico, con el mismo valor de R_f que el Sudán III en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar*. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar además otras bandas azul violeta en la parte superior del cromatograma.

Cenizas insolubles en ácido (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe contener más de 5 %.

Cenizas totales (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe contener más de 12 %.

Control higiénico (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de aflatoxinas <110>

Debe cumplir con los requisitos.

Materia extraña (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe contener más de 2 %.

Pérdida por secado (ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No debe perder más de 12 % de su peso.

VALORACION

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 220 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto. Programar el cromatógrafo del siguiente modo:

Tiempo (min)	Solución A (%)	Solución B (%)	Elución
0 - 5	55	45	Isocrática
5 - 18	55 → 20	45 → 80	Gradiente lineal
18 - 20	20	80	Isocrática
20 - 22	20 → 55	80 → 45	Gradiente lineal

Solución A - Ácido fosfórico al 0,5 % p/v y acetonitrilo (80:20).

Solución B - Acetonitrilo y Ácido fosfórico al 0,5 % p/v (80:20).

Fase móvil - Emplear mezclas variables de *Solución A* y *Solución B* según se indica en *Sistema cromatográfico*. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*)

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 30 mg de dantrón, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver en metanol y completar a volumen con el mismo solvente. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con metanol. [NOTA: preparar la solución inmediatamente antes de su uso, en envase inactivo].

Preparación muestra - Reducir a polvo fino una porción de Valeriana, pesar exactamente alrededor de 1,5 g de polvo y transferir a un recipiente apropiado. Agregar 20 ml de metanol, mezclar y calentar a reflujo durante 30 minutos. Dejar enfriar y filtrar. Conservar el filtrado y repetir esta operación con el residuo retenido en el filtro calentando a reflujo durante 15 minutos. Dejar enfriar y filtrar. Reunir los filtrados en un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con metanol, lavando el balón y el filtro.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Preparación estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos al pico de dantrón deben ser aproximadamente 0,7 para el ácido acetoxivalerénico y 1,2 para el ácido valerénico.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el porcentaje de ácido acetoxivalerénico en la *Preparación muestra*, por la fórmula siguiente:

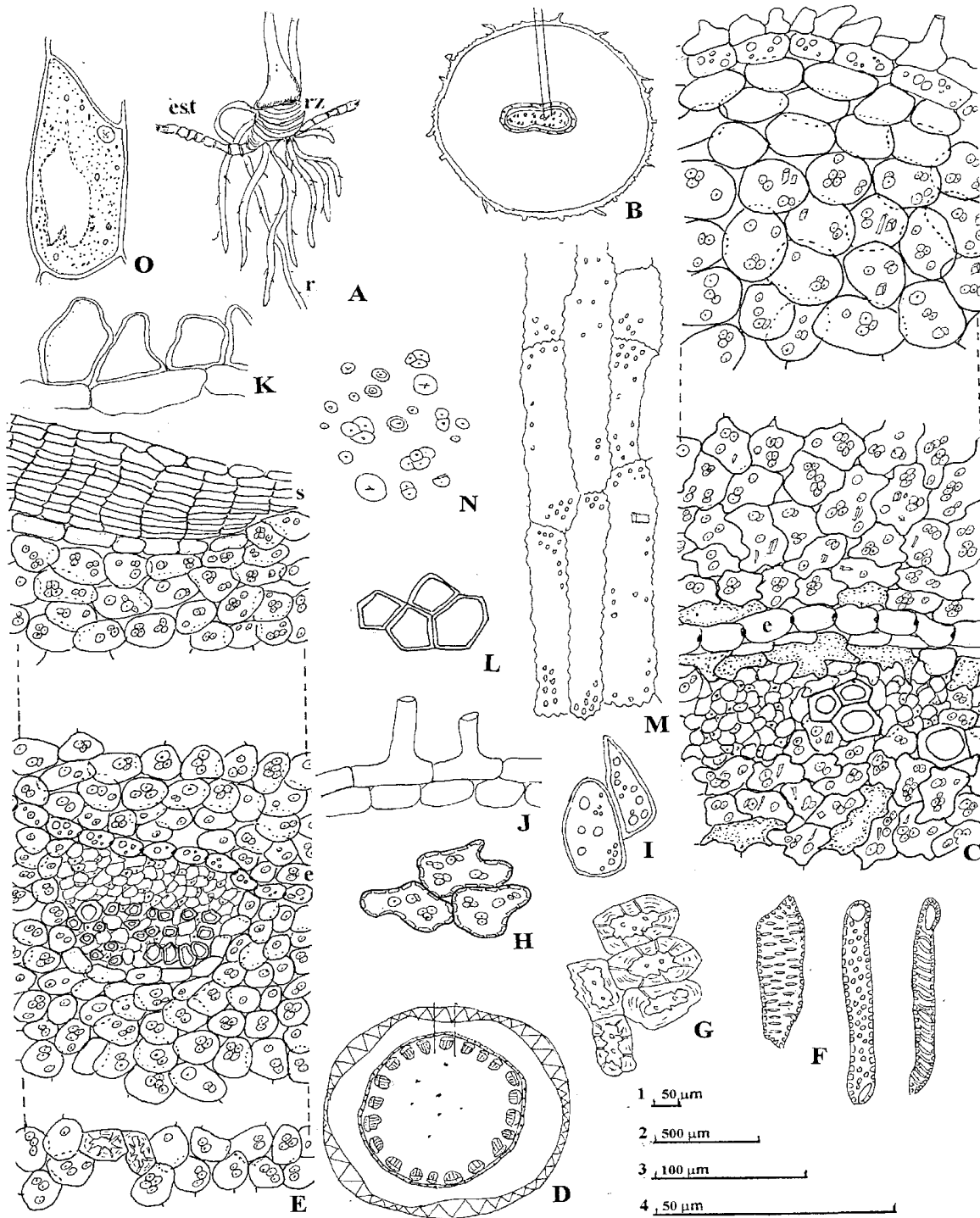
$$11,51(r_V/r_E)(P_E/P_M)$$

en la cual r_V es la respuesta del pico correspondiente a ácido acetoxivalerénico en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra*; r_E es la respuesta del pico correspondiente a dantrón en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación estándar*; P_E es la masa de dantrón en gramos empleada para preparar la *Preparación estándar*; y P_M es la masa de la droga analizada en gramos empleada para preparar la *Preparación muestra*.

Calcular el porcentaje de ácido valerénico en la *Preparación muestra*, por la fórmula siguiente:

$$8,09(r_A/r_E)(P_E/P_M)$$

en la cual r_A es la respuesta del pico correspondiente a ácido valerénico en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* y los demás términos son los anteriormente descriptos.



Valeriana officinalis L., A-O: A, morfología externa de la parte usada. B, representación esquemática de la sección transversal de la raíz. C, detalle de lo indicado en B. D, representación esquemática de la sección transversal del rizoma, E, detalle de lo indicado en D. F, vasos escalariformes, espiralados y punteados. G, macroesclereidas de la médula del rizoma adulto. H-I, células parenquimáticas. H, con almidón. I, con aceites. J-K, rizodermis. J, con pelos radicales rotos. K, risodermis de células papilosas. L, fragmento del súber del rizoma en vista superficial. M, endodermis del rizoma en vista longitudinal tangencial. N, grano de almidón. O, idioblasto. e, endodermis; est, estolón; h, hipodermis; i, idioblasto; r, raíz; rz, rizoma. Las reglillas corresponden a: 1 a B; 2 a D; 3 a F-I; 4 a J-O.

YERBA MATE, hoja y tallo

Definición - Yerba Mate está constituida por hojas y tallos jóvenes procesados, desecados y fragmentados de *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. var. *paraguariensis* (Aquifoliaceae). Debe contener no menos de 0,8 por ciento de cafeína, calculado sobre la sustancia seca, y no más del 10,0 por ciento de tallos. Yerba Mate debe cumplir con las siguientes especificaciones.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos bien cerrados, en un sitio seco.

ENSAYOS

Identificación

A - Características macroscópicas - La hoja de Yerba Mate es cortamente peciolada, oval cuneiforme, atenuada hacia el pecíolo, con borde aserrado, de 10 cm de largo y 4 cm de ancho. Nervadura media prominente en la cara inferior y con 5 ó 6 nervaduras secundarias en cada semilimbo. Tallos con corteza lisa de color grisáceo.

B - Características microscópicas - La lámina en vista superficial presenta la epidermis superior con células de contornos rectos con cutícula gruesa, ornamentada, sin estomas; la epidermis inferior con células de paredes levemente onduladas; estomas ciclocíticos y abundantes hidatodes. En ambas epidermis se observan escasos pelos tectores unicelulares, simples. En corte transversal el mesófilo está constituido por parénquima en empalizada, con células dispuestas en 3 capas, y por parénquima esponjoso bractiforme. En ambos parénquimas se observan células con drusas de oxalato de calcio.

El sistema vascular de la nervadura principal presenta un haz anfibasal rodeado por una vaina completa de fibras esclerenquimáticas.

Índice de estomas: 6.89 (10.13) 15.50

Índice de empalizada: 2.50 (3.00) 4.50

Los tallos en corte transversal presentan un parénquima cortical, con drusas de oxalato de calcio, una vaina de fibras esclerenquimáticas que rodea al floema y al xilema, y un parénquima medular en el que se observan células con cristales simples y drusas de oxalato de calcio.

C - Droga en polvo - Polvo verde claro a oscuro. Se observan numerosos fragmentos de epidermis superior, sin estomas, e inferior, con numerosos estomas e hidatodes, y células del parénquima en empalizada y esponjoso bractiforme, con drusas de oxalato de calcio. Fibras

esclerenquimáticas, células pétreas, vasos anillados y punteados, cristales simples y drusas de oxalato de calcio y fragmentos de súber provenientes del tallo.

D - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. Cromatografía) recubierta de gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo, agua, ácido acético y ácido fórmico (100:26:11:11) [NOTA: preparar inmediatamente antes de su uso].

Solución estándar - Disolver 2 mg de ácido clorogénico y 2 mg de rutina en 10 ml de metanol.

Solución muestra - A 1 g de Yerba Mate reducida a polvo fino, agregar 10 ml de metanol, calentar en baño de agua a 60° C durante 5 minutos y filtrar.

Revelador - Reactivo de Productos naturales-polietilenglicol.

Procedimiento - Aplicar por separado, en bandas, 5 µl de la *Solución estándar* y 20 y 40 µl de la *Solución muestra*. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente las tres cuartas partes de la placa. Retirar la placa de la cámara y dejar secar. Pulverizar con *Revelador* y dejar secar. Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 365 nm. El cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar* debe presentar una banda de fluorescencia anaranjada correspondiente a rutina con un valor de R_f de 0,40 y otra banda de fluorescencia celeste correspondiente al ácido clorogénico con un valor de R_f de 0,47. El cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* debe presentar dos bandas que se correspondan en posición y fluorescencia a las obtenidas con la *Solución estándar*. El cromatograma de la *Solución muestra* puede presentar una banda anaranjada con un valor de R_f de 0,62 y bandas de fluorescencia celeste verdosa con valores de R_f de 0,52 y 0,80.

Cenizas totales (Ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

No más de 9 %.

Control higiénico (Ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

Materia extraña (Ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe contener no más de 1% de materias extrañas.

Pérdida por secado (Ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe perder no más de 9,5 % determinado sobre 2,0 g de droga por desecación en estufa a una temperatura comprendida entre 100 y 105 °C durante 2 horas.

Residuo de pesticidas (Ver 630. *Métodos de farmacognosia*)

Debe cumplir con los requisitos.

Determinación de aflatoxinas <110>

Debe cumplir con los requisitos.

Límites de metales pesados <590>

Método I. No más de 0,001 %.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un cromatógrafo de líquidos equipado con un detector ultravioleta ajustado a 273 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice porosa de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto. Programar el cromatógrafo del siguiente modo:

Tiempo (min)	Solución A (%)	Solución B (%)
0-10	83 → 80	17 → 20
10-15	80	20
15-25	80 → 77	20 → 23
25-30	77 → 0	23 → 100

Solución A - Agua y ácido acético (98:2).

Solución B - Metanol y ácido acético (98:2).

Preparación estándar - Pesar exactamente alrededor de 10 mg de *Cafeína*, transferir a un

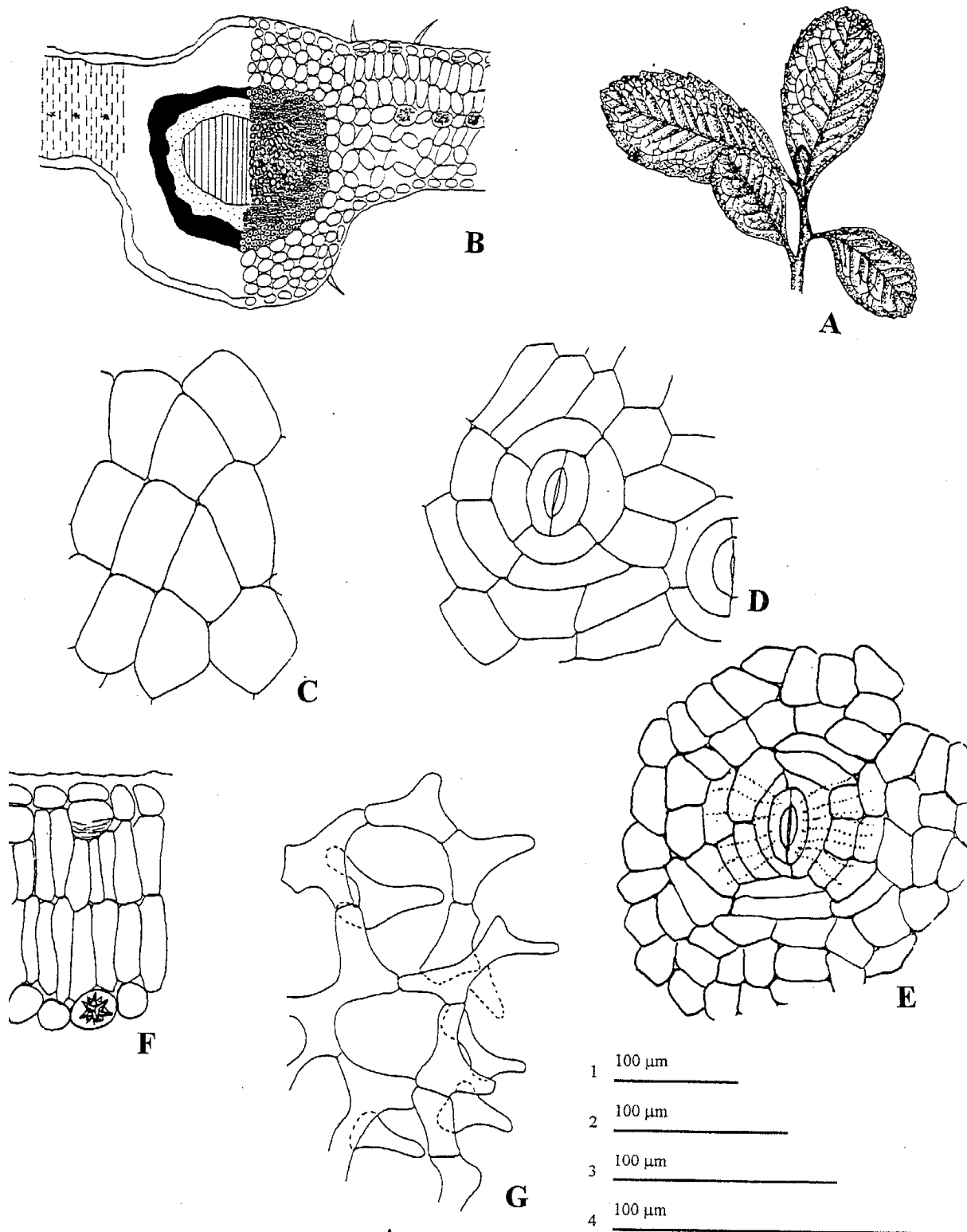
matraz aforado de 50 ml, agregar 30 ml de una mezcla metanol y agua (7:3) y agitar hasta disolver. Completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con el mismo solvente.

Preparación muestra - Reducir a polvo fino aproximadamente 50 g de Yerba Mate y pesar exactamente alrededor de 5,0 g de polvo. Transferir a un balón de 100 ml, agregar 70 ml de agua y unos trozos de material poroso y calentar a ebullición en un baño de agua a reflujo durante 20 minutos. Enfriar a una temperatura comprendida entre 40 y 45 °C, filtrar y transferir a un matraz aforado de 100 ml. Completar a volumen con agua. Transferir 5,0 ml del extracto obtenido a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con una mezcla de metanol y agua (7:3).

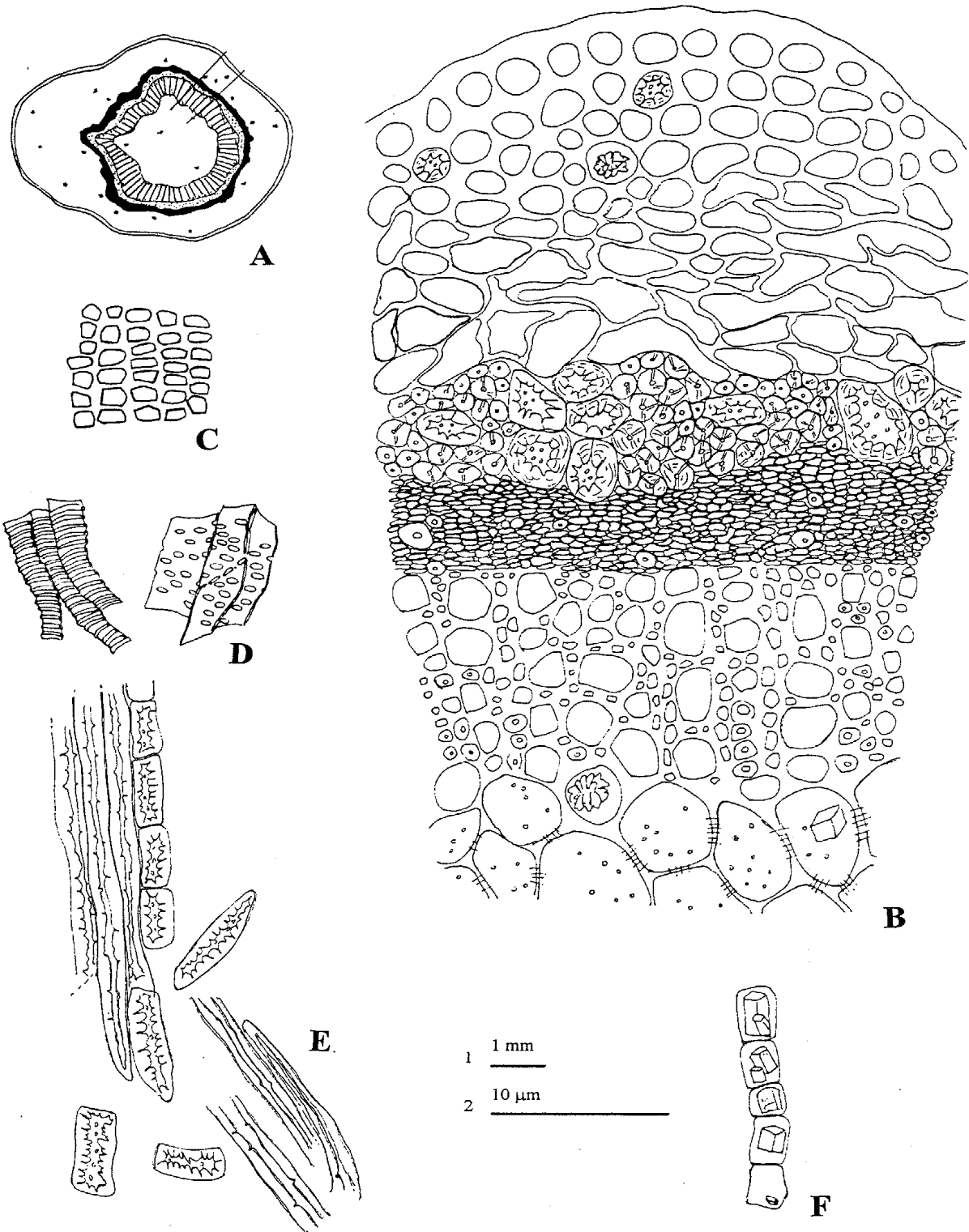
Procedimiento - Inyectar por separado volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Preparación estándar* y de la *Preparación muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos correspondientes a cafeína. Calcular la cantidad en porcentaje de cafeína contenido en la porción de Yerba Mate en ensayo a partir de la fórmula siguiente:

$$100(P_E/P_M)(r_M/r_E)$$

en la cual P_E es el peso en gramos de cafeína en la *Preparación estándar*, P_M es el peso en gramos de la porción de la muestra en ensayo, y r_M y r_E son las respuestas de los picos de cafeína en la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* respectivamente.



Ilex paraguariensis St. Hil. var. *paraguariensis*. A-G, Hoja. A, morfología. B, sección transversal de la lámina. C-G: droga en polvo, C-E: vista superficial de la epidermis, C, superior; D, inferior; E, hidatode. F-G: parénquimas: F, en empalizada; G, esponjoso. Las reglillas corresponden a 1 a B; 2 a C, D y G; 3 a E; 4 a F.



Ilex paraguariensis St. Hil. var. *paraguariensis*. A-F, Tallo. A-B, sección transversal, A, esquema; B, detalle de lo indicado en A. C-F: droga en polvo, C, súber; D, porción de vasos anillados y escalariformes del xilema; E, fibras y esclereidas; F, porción de fibras cristalíferas. Las reglillas corresponden a 1 a A; 2 a B-F.

HEMODERIVADOS

APARTADO DE HEMODERIVADOS

ÍNDICE

Métodos Generales de Análisis

<385> - Ensayos en Hemoderivados

Monografías

Albúmina Humana, Solución

Antitrombina III Humana, Concentrado

Complejo Protrombínico Humano

Factor VII de Coagulación Humano, Liofilizado

Factor VIII de Coagulación Humano

Factor IX de Coagulación Humano

Inmunoglobulina Humana anti Hepatitis B

Inmunoglobulina Humana anti Hepatitis B, para Administración Intravenosa

Inmunoglobulina Humana Normal

Inmunoglobulina Humana Normal, para Administración Intravenosa

Inmunoglobulina Humana Antitetánica

Plasma Humano para Fraccionamiento

385. ENSAYOS EN HEMODERIVADOS

VALORACIÓN DE ANTITROMBINA III HUMANA

Estimar la potencia del Concentrado de Antitrombina III Humana por comparación de su habilidad para inactivar trombina en presencia de un exceso de heparina con la misma habilidad de una sustancia de referencia de antitrombina III humana calibrada en UI. Mezclar cantidades variables de antitrombina III con una cantidad dada de trombina y determinar el remanente de trombina mediante un sustrato cromogénico apropiado.

La Unidad Internacional es la actividad de antitrombina III de una cantidad establecida de Patrón Internacional de antitrombina III. La equivalencia en Unidades Internacionales del Patrón Internacional la establece la Organización Mundial de la Salud.

Aplicar la siguiente técnica.

Soluciones reguladoras - Emplear Tris-EDTA pH 8,4 y Tris-EDTA BSA pH 8,4 (ver *Soluciones reguladoras en Reactivos y Soluciones*).

Solución reguladora para dilución - Preparar una solución de Tris-EDTA BSA pH 8,4 que contenga 15 UI de heparina por ml.

Solución de trombina bovina - Preparar una solución que contenga 2 UI de trombina bovina por ml de solución reguladora Tris-EDTA BSA pH 8,4.

Sustrato cromogénico - *D-fenilalanil-L-pipecolil-L-arginina-4-nitroanilida* reconstituido en agua para obtener una solución 4 mmol por litro.

Preparación estándar - Diluir la sustancia de referencia de antitrombina III humana calibrada en UI con *Solución reguladora para dilución* para obtener una solución que contenga una 1 UI de antitrombina III por ml. Realizar por duplicado y en forma independiente por lo menos tres diluciones en el rango de 1/75 a 1/200 en progresión geométrica o aritmética utilizando la misma *Solución reguladora*.

Preparación muestra - Diluir El Concentrado de Antitrombina III Humana con *Solución reguladora* para obtener una solución que contenga 1 UI de antitrombina III por ml. Realizar por duplicado y en forma independiente por lo menos tres diluciones en el rango de 1/75 a 1/200 en progresión geométrica o aritmética utilizando la misma *Solución reguladora*.

Procedimiento - Según el ensayo se realice en tubos o en microplacas, ajustar los volúmenes de manera que se mantengan las proporciones de la mezcla. Realizar dos reacciones de cada dilución.

Precalear 200 μ l de cada dilución de la *Preparación muestra* y de la *Preparación estándar* a 37 °C durante 1 a 2 minutos. Agregar a cada dilución 200 μ l de *Solución de trombina bovina*, mezclar y mantener a 37 °C durante 1 minuto. Agregar 500 μ l de *Sustrato cromogénico* diluido hasta una concentración apropiada para el ensayo usando solución reguladora Tris-EDTA BSA pH 8,4 (sin albúmina). Medir inmediatamente el cambio de las absorbancias a 405 nm durante al menos 30 segundos. Calcular el valor de $\Delta A/\text{min}$. Alternativamente puede llevarse a cabo un ensayo de punto final deteniendo la reacción con ácido acético y midiendo la absorbancia a 405 nm o también es posible detener la reacción de hidrólisis tras un intervalo apropiado bajando el pH mediante el agregado de un reactivo apropiado, como ácido acético al 50 %v/v o una solución de citrato 1 M a pH 3. El valor de cambio de absorbancia ($\Delta A/\text{min}$) o A es inversamente proporcional a la actividad de antitrombina III. Calcular la potencia de la muestra a examinar y comprobar la validez del ensayo empleando los métodos estadísticos habituales (ver 10. *Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos*).

VALORACIÓN DE HEPARINA EN FACTORES DE COAGULACIÓN

El método para determinar la actividad de heparina en factores de coagulación es un ensayo cromogénico en el cual se estima su actividad por su efecto inhibitorio sobre el factor Xa (actividad anti-Xa). La potencia de heparina se estima comparando su actividad inhibitoria con un Patrón Internacional o Patrón Nacional calibrado en Unidades Internacionales.

La Unidad Internacional es la actividad de heparina en una cantidad establecida de patrón Internacional. La equivalencia en Unidades Internacionales del Patrón Internacional la establece la Organización Mundial de la Salud.

El método cromogénico de valoración consiste en los siguientes pasos: la formación del complejo heparina-antitrombina III, en el cual se debe asegurar un exceso de antitrombina III en el medio en el que se produce la reacción, la formación del complejo heparina antitrombina III-factor Xa, en el cual el factor Xa debe estar en exceso, y el clivaje enzimático de un sustrato cromogénico específico para factor Xa (residual) para dar un cromóforo que puede ser cuantificado espectrofotométricamente. Bajo condiciones adecuadas, existe una relación

inversamente proporcional entre la actividad de heparina y el clivaje del sustrato cromogénico.

Reactivos

Solución reguladora para diluciones - Solución de 6,05 g por litro de Tris(hidroximetil)aminometano, si es necesario, ajustar el pH a 8,4 con ácido clorhídrico.

Sustrato cromogénico del factor Xa - Un sustrato cromogénico específico para factor Xa tal como cloruro de *N*-benzoil-*L*-isoleucil-*L*-glutamil-glicil-*L*-arginina-4-nitroanilida. Reconstituir según se indica en el rótulo.

Solución de antitrombina III

Solución de factor Xa bovino

Plasma humano normal

Preparación estándar - Diluir con *Solución reguladora para diluciones* para obtener una solución de 0,1 UI por ml de heparina.

Preparación muestra - Diluir la preparación en ensayo con *Solución reguladora para diluciones* para obtener una solución de 0,1 UI de heparina por ml.

Procedimiento - Las siguientes condiciones de trabajo se aplican a placas de 96 pocillos. Si el ensayo es llevado a cabo en tubos, los volúmenes deben ser ajustados manteniendo la proporción en la mezcla. Inmediatamente antes de iniciar el ensayo, calentar todas las soluciones en un baño de agua a 37 °C. Distribuir en una serie de tubos o pocillos de la placa, preferentemente por duplicado, 20 µl de *Plasma humano normal* y 20 µl de *Solución de antitrombina III*. Agregar a los tubos o pocillos volúmenes crecientes en progresión aritmética (por ejemplo 20 µl, 60 µl, 100 µl y 140 µl) de la *Preparación muestra* o la *Preparación estándar* y completar a un volumen final de 200 µl empleando *Solución reguladora para diluciones* (0,02 a 0,08 UI por ml de heparina en la mezcla final de reacción). Las concentraciones se pueden modificar si con ellas se obtienen una mejor linealidad en la relación dosis-respuesta. Transferir 40 µl de cada tubo o pocillo a una segunda serie de los pocillos, agregar 20 µl de *Solución de factor Xa bovino* e incubar a 37 °C durante 30 segundos.

Método de punto final - Agregar 40 µl de una solución 1 mmol por litro de *Sustrato cromogénico del factor Xa* e incubar a 37 °C durante 3 minutos. Finalizar la reacción disminuyendo el pH por agregado de un reactivo adecuado tal como una solución al 20 % v/v de ácido acético glacial y medir la absorbancia (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) a 405 nm. En general, los tiempos de reacción están comprendidos entre 3 y 15 minutos, pero se admiten variaciones si así se obtiene una

mejora en la linealidad de la relación dosis-respuesta.

Método cinético - Agregar 40 µl de una solución 2 mmol por litro de *Sustrato cromogénico del factor Xa*, incubar a 37 °C y cuantificar la velocidad de liberación del sustrato, que debe ser inversamente proporcional a la concentración de heparina, midiendo en un espectrofotómetro el cambio de absorbancia a una longitud de onda apropiada por monitoreo continuo de la absorbancia. Determinar la velocidad de cambio de absorbancia a 405 nm continuamente por un período de tiempo y obtener la velocidad media del cambio de absorbancia ($\Delta A/\text{min}$).

Comprobar la validez del ensayo y calcular la actividad de heparina en la preparación a examinar por los métodos estadísticos habituales para un ensayo de relación de pendientes (ver 10. *Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos*).

FACTORES DE COAGULACIÓN ACTIVADOS

[NOTA: cuando corresponda, determinar la cantidad de heparina presente y neutralizarla por agregado de sulfato de protamina (10 µg de sulfato de protamina neutralizan 1 UI de heparina).]

Preparar diluciones 1 en 10 y 1 en 100 de la preparación en ensayo empleando una solución reguladora tris(hidroximetil)aminometano pH 7,5 (ver *Soluciones reguladoras* en *Reactivos y Soluciones*). Colocar en un baño de agua a 37 °C una serie de tubos de poliestireno y agregar a cada tubo 0,1 ml de plasma pobre en plaquetas y 0,1 ml de una dilución apropiada de cefalina o sustituto de plaquetas. Dejar en reposo durante 60 segundos. Agregar a cada tubo 0,1 ml de una de las diluciones o 0,1 ml de solución reguladora (tubo control). Inmediatamente agregar a cada tubo 0,1 ml de una solución de cloruro de calcio 3,7 g por litro (precalentada a 37 °C) y medir el tiempo que transcurre entre el agregado del cloruro de calcio y la formación de un coágulo. El ensayo debe realizarse en un tiempo no mayor a 30 minutos luego de haber realizado la dilución original. El ensayo solo es válido si el tiempo de coagulación medido para el tubo control esté entre 200 y 350 segundos.

VALORACIÓN DEL FACTOR II DE COAGULACIÓN SANGUÍNEA

El método para determinar la actividad de factor II de coagulación es un ensayo cromogénico en el cual se determina la actividad de factor II a través de su activación específica y formación de factor IIa. La potencia de la preparación de factor II se estima comparando su actividad con un Patrón

Internacional o una sustancia de referencia calibrada en Unidades Internacionales.

La Unidad Internacional es la actividad de factor II de una cantidad establecida de Patrón Internacional que consiste en un concentrado liofilizado de factor II humano. La equivalencia en Unidades Internacionales del Patrón Internacional la establece la Organización Mundial de la Salud.

El método cromogénico de valoración consiste en dos pasos: la activación del factor II a factor IIa dependiente de veneno de serpiente y el clivaje enzimático de un sustrato cromogénico específico para factor IIa, para dar un cromóforo que puede ser cuantificado espectrofotométricamente. Bajo condiciones adecuadas, existe una relación lineal entre la actividad del factor IIa y el clivaje del sustrato cromogénico.

Reactivos

Solución reguladora para dilución - Solución que contiene 6,06 g por litro de Tris(hidroximetil)aminometano, 17,53 por litro de cloruro de sodio, 2,79 g por litro de ácido (etilendinitrilo)tetracético y 1 g por litro de albúmina bovina o albúmina humana. Ajustar a pH 8,4 si fuera necesario, con ácido clorhídrico.

Veneno de víbora específico para activar factor II (Ecarina) - Se trata de una proteína derivada del veneno de víbora (*Echis carinatus*) que activa específicamente el factor II. Reconstituir y almacenar según se indica en el rótulo.

Sustrato cromogénico para Factor IIa - Sustratos cromogénicos específicos para factor IIa tales como: *H-D*-fenilalanil-*L*-pipecolil-*L*-arginina-4-nitroanilida clorhidrato, 4-toluensulfonil-glicilprolil-*L*-arginina-4-nitroanilida, *H-D*-ciclohexilglicil- α -aminobutiril-*L*-arginina-4-nitroanilida, diacetato de *D*-ciclohexilglicil-*L*-alanil-*L*-arginina-4-nitroanilida. Reconstituir según se indica en el rótulo.

Preparación estándar - Diluir con *Solución reguladora para dilución* para obtener una solución entre 0,015 y 0,16 UI por ml de factor II. Preparar, preferentemente por duplicado y en forma independiente, al menos tres diluciones en progresión geométrica o aritmética empleando el mismo solvente.

Preparación muestra - Diluir con *Solución reguladora para dilución* para obtener una solución entre 0,015 y 0,16 UI por ml de factor II. Preparar, preferentemente por duplicado y en forma independiente, al menos tres diluciones en progresión geométrica o aritmética empleando el mismo solvente.

Procedimiento - Precalentar todas las soluciones en un baño de agua a 37 °C inmediatamente antes de realizar el ensayo. Las siguientes condiciones de ensayo se utilizan para placas de

96 pocillos, si el ensayo se lleva a cabo en tubos, se deben ajustar los volúmenes de manera que se mantengan las proporciones de la mezcla; se deben realizar dos reacciones de cada dilución. En una placa de 96 pocillos mantenida a 37 °C, agregar por duplicado 25 μ l de cada dilución de la *Preparación muestra* o la *Preparación estándar* a cada uno de los pocillos. Agregar 125 μ l de solución reguladora a cada pocillo, luego 25 μ l de *Veneno de víbora específico para activar factor II* e incubar durante exactamente 2 minutos. A cada pocillo agregar 25 μ l de *Sustrato cromogénico para Factor IIa*. Se admiten modificaciones de volúmenes de los reactivos si con ellas se obtiene una mejor linealidad en la relación dosis-respuesta. Determinar la velocidad de cambio de absorbancia (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) a 405 nm de forma continua durante 3 minutos y obtener el promedio de velocidad de cambio de absorbancia ($\Delta A/\text{min}$). Si no se puede medir en forma continua, leer la absorbancia a 405 nm a intervalos consecutivos adecuados, durante 40 segundos, graficar la absorbancia en función del tiempo y calcular $\Delta A/\text{min}$ como la pendiente de la recta. El método se puede adaptar a una reacción de punto final deteniendo la reacción de hidrólisis tras un intervalo apropiado bajando el pH por adición de un reactivo apropiado como ácido acético (50 % v/v) o una solución de citrato 1M a pH 3. Ajustar el tiempo de hidrólisis para conseguir un incremento lineal del cromóforo a lo largo del tiempo. Con los valores de $\Delta A/\text{min}$ o de A de cada dilución tanto de muestra como de estándar, calcular la potencia de la muestra a examinar y comprobar la validez del ensayo empleando los métodos estadísticos habituales (ver 10. *Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos*).

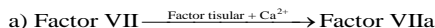
VALORACIÓN DEL FACTOR VII DE COAGULACIÓN SANGUÍNEA

El método para determinar la actividad de factor VII de coagulación es un ensayo cromogénico en el cual se determina su actividad biológica como complejo factor VIIa-factor tisular en la activación del factor X en presencia de iones calcio y fosfolípidos. La potencia de la preparación de factor VII se estima comparando la cantidad necesaria para alcanzar una cierta velocidad de formación del factor Xa en una mezcla que contiene las sustancias que intervienen en la activación del factor X y la cantidad de Patrón Internacional o de una preparación de referencia, calibrada en Unidades Internacionales, requerida para producir la misma velocidad de formación de factor Xa. La Unidad Internacional se define como la actividad del factor VII de una cantidad establecida de Patrón Internacional, que consiste en un concentrado de factor VII huma-

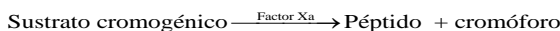
no liofilizado. La equivalencia en Unidades Internacionales del Patrón Internacional la establece la Organización Mundial de la Salud.

El método cromogénico consta de dos pasos consecutivos: la activación del factor VII a factor VIIa, por medio del factor tisular y calcio, la activación de factor X a factor Xa por la presencia de factor VIIa, calcio fosfolípidos y factor tisular y el

Etapa 1:



Etapa 2:



En ambas etapas se utilizan reactivos que pueden ser obtenidos comercialmente. La composición de cada reactivo puede estar sujeta a alguna variación, sus características esenciales se describen en las siguientes especificaciones: los reactivos contienen proteínas purificadas de origen humano o bovino. Éstas incluyen factor X, factor tisular y fosfolípidos como activador del factor VII. Estas proteínas están parcialmente purificadas y no deben contener impurezas que interfieran en la activación del factor VII o del factor X. El factor X está presente en cantidades cuya concentración final durante el primer paso del ensayo esta comprendida entre 10 y 350 nmol por litro (preferentemente de 14 a 70 nmol por litro). Tromboplastina de origen natural (cerebro bovino o de conejo) o de origen sintético, se puede usar como fuente de factor tisular y fosfolípidos. La Tromboplastina adecuada para uso en la determinación del tiempo de protrombina se diluye entre 1 en 5 y 1 en 50 en una solución reguladora tal que la concentración final de Ca^{2+} este comprendida entre 15 y 25 nmol por litro. La formación final de factor Xa es realizada en una solución que contiene albúmina humana o bovina con una concentración tal que no se produzca pérdida por adsorción y que está apropiadamente regulada a pH entre 7,3 y 8,0. En la mezcla de incubación final, el factor VII debe ser el único componente limitante de la velocidad y cada componente del reactivo no debe tener capacidad de generar el factor Xa por sí mismo.

La segunda etapa comprende la cuantificación del factor Xa por medio de un sustrato cromogénico específico para el factor Xa. Este sustrato generalmente consiste de un péptido corto que tiene entre 3 y 5 aminoácidos, unido a un grupo cromóforo. Cuando se cliva este grupo del péptido sustrato, se produce un cambio de absorbancia a una longitud de onda apropiada que permite su cuantificación

segundo paso es el clivaje enzimático de un sustrato cromogénico específico para el factor Xa, para dar un cromóforo que se puede cuantificar espectrofotométricamente. En las condiciones adecuadas, existe una relación lineal entre la velocidad de formación del factor Xa y la concentración del factor VII. El ensayo se resume en el siguiente esquema:

espectrofotométrica. El sustrato se disuelve normalmente en agua y se utiliza a una concentración final entre 0,2 y 2 mmol por litro. El sustrato puede contener también inhibidores para detener la formación adicional de factor Xa (adición de edetato).

Preparación estándar - Reconstituir el contenido completo de una ampolla de la preparación con el agregado de una cantidad apropiada de agua; emplear las preparaciones reconstituidas dentro de la hora de su preparación. Realizar una dilución con suficiente prediluyente para obtener una solución que contenga entre 0,5 UI y 2,0 UI de factor VII por mililitro. Preparar las diluciones posteriores empleando una solución reguladora isotónica y no quelante que contenga 1 % de albúmina humana o bovina, regulada entre pH 7,3 y 8,0. Preparar preferentemente por duplicado y en forma independiente por lo menos tres diluciones en progresión geométrica o aritmética. Las diluciones deben prepararse de forma tal que la concentración final de factor VII esté por debajo de 0,005 UI por ml.

Preparación muestra - Reconstituir el contenido completo de la ampolla según se indica en el rótulo. Emplear las preparaciones reconstituidas dentro de la hora de su preparación. Hacer una dilución con suficiente prediluyente para obtener una solución que contenga entre 0,5 UI y 2,0 UI de factor VII por mililitro. Preparar las diluciones posteriores empleando una solución reguladora isotónica y no quelante que contenga 1 % de albúmina humana o bovina, regulada entre pH 7,3 y 8,0. Preparar preferentemente por duplicado y en forma independiente por lo menos tres diluciones en progresión geométrica o aritmética. Las diluciones deben prepararse de forma tal que la concentración final de factor VII esté por debajo de 0,005 UI/ml.

Procedimiento - Preparar una solución control que incluya todos los componentes exceptuando el factor VII (blanco).

[NOTA: preparar todas las diluciones en tubos de plástico y usarlas dentro de la hora de su preparación; se deben realizar al menos dos reacciones de cada dilución.]

Etapas 1. Mezclar las diluciones de la preparación de referencia del factor VII y de la preparación a examinar con un volumen apropiado del reactivo de factor de coagulación precalentado o con una combinación de sus constituyentes separados, e incubar la mezcla en tubos de plástico o en pocillos de microplaca a 37 °C. Las concentraciones de los diversos componentes durante la formación del factor Xa deben ser las especificadas en la descripción de los reactivos. Dejar que la activación del factor X proceda durante un tiempo apropiado, terminando la reacción antes de que la concentración del factor Xa alcance su nivel máximo, con el fin de obtener una relación lineal satisfactoria entre dosis y respuesta. Los tiempos adecuados de activación están normalmente entre 2 y 5 minutos, pero se admiten desviaciones si con ellas se obtiene mejor linealidad de la relación dosis-respuesta.

Etapas 2. Determinar el factor Xa por adición de un reactivo precalentado que contenga el sustrato cromogénico. Cuantificar la velocidad de liberación del sustrato, que debe ser proporcional a la concentración del factor Xa formado, midiendo en un espectrofotómetro el cambio de absorbancia a una longitud de onda apropiada por monitoreo continuo de la absorbancia. Determinar la velocidad de cambio de absorbancia a 405 nm continuamente por un período de tiempo y obtener la velocidad media del cambio de absorbancia ($\Delta A/\text{min}$) o detener la reacción de hidrólisis por disminución del pH a 3, con un reactivo tal como ácido acético (500 g por litro) o solución de citrato 1 M tras un intervalo de tiempo apropiado (A). Ajustar el tiempo de hidrólisis de modo tal de alcanzar un desarrollo lineal del cromóforo con el tiempo. En general los tiempos de hidrólisis suelen estar entre 3 y 15 minutos, pero

se admiten variaciones si así se obtiene una mejora en la linealidad de la relación dosis-respuesta.

Comprobar la validez del ensayo y calcular la potencia de la preparación a examinar empleando los métodos estadísticos habituales (ver 10. *Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos*).

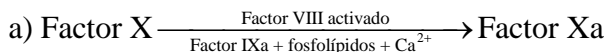
VALORACIÓN DEL FACTOR VIII DE COAGULACIÓN SANGUÍNEA

El método para determinar la actividad de factor VIII es un ensayo cromogénico en el cual se determina su actividad biológica como cofactor en la activación del factor X por el factor IX activado (factor IXa) en presencia de iones calcio y fosfolípidos. La potencia de la preparación del factor VIII se estima comparando la cantidad necesaria para alcanzar una cierta velocidad de formación del factor Xa en una mezcla de reacción que contiene las sustancias que intervienen en la activación del factor X y la cantidad de un Patrón Internacional o de una preparación de referencia calibrada en Unidades Internacionales, requerida para producir el mismo efecto.

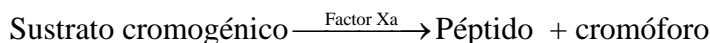
La Unidad Internacional es la actividad del factor VIII de una cantidad establecida de Patrón Internacional, que consiste en concentrado de factor VIII humano liofilizado. La equivalencia en Unidades Internacionales del Patrón Internacional la establece la Organización Mundial de la Salud.

El método cromogénico consta de dos pasos consecutivos: la activación del factor X a factor Xa que depende del factor VIII y el clivaje enzimático de un sustrato cromogénico específico para el factor Xa, produciendo un cromóforo que se puede cuantificar espectrofotométricamente. En las condiciones adecuadas, existe una relación lineal entre la velocidad de formación del factor Xa y la concentración del factor VIII. El resumen del ensayo se indica en el siguiente esquema:

Etapas 1:



Etapas 2:



En ambas etapas se utilizan reactivos que pueden ser obtenidos comercialmente. La composición de cada reactivo puede estar sujeta a alguna variación, sus características esenciales se describen en la siguiente especificación: pueden permitirse cier-

tas desviaciones de esta descripción únicamente si se ha comprobado, usando el Patrón Internacional de factor VIII, que los resultados obtenidos no difieren significativamente.

[NOTA: es importante demostrar por la validación, la adecuabilidad del kit usado, chequeando el tiempo de generación de factor X para determinar el tiempo necesario para alcanzar el 50 % de la generación máxima de factor X.]

Reactivo factor de coagulación - Contiene proteínas purificadas de origen humano o bovino. Estas incluyen el factor X, factor IXa, y un activador del factor VIII usualmente trombina. Estas proteínas parcialmente purificadas, al menos hasta el 50 %, no contienen impurezas que interfieren con la activación del factor VIII o del factor X. La trombina puede estar presente en su forma precursora protrombina, siempre que su activación en el reactivo sea suficientemente rápida para provocar la activación completa y prácticamente instantánea del factor VIII durante el ensayo. Los fosfolípidos se pueden obtener de un sustrato natural o pueden prepararse por síntesis, pero deben contener una proporción importante, de fosfatidilserina. Los componentes del reactivo completo suelen encontrarse separados en al menos dos reactivos distintos, carentes de la capacidad de formar el factor Xa por sí solos. Uno de los reactivos contiene iones calcio. Después de la reconstitución, éstos se pueden combinar, siempre que se pruebe que no se generan cantidades significativas de factor Xa en ausencia del factor VIII. En la mezcla de incubación final, el factor VIII debe ser el único componente limitante de la velocidad.

El segundo paso comprende la cuantificación del factor Xa formado, empleando un sustrato cromogénico específico para el factor Xa. Generalmente consiste en un péptido corto derivatizado, de entre 3 y 5 aminoácidos, unido a un grupo cromóforo. Cuando se cliva este grupo a partir del péptido sustrato, se produce un cambio de absorbancia a una longitud de onda apropiada que permite su cuantificación espectrofotométrica. El sustrato debe contener también inhibidores apropiados para detener la formación adicional del factor Xa (por ejemplo agentes quelantes) y suprimir la actividad de la trombina.

Prediluyente - Consiste de plasma de un paciente con hemofilia A grave, o de un reactivo preparado artificialmente que contenga suficiente factor von Willebrand y que de resultados que no difieren significativamente de los obtenidos empleando plasma hemofílico en las preparaciones patrón y problema. Los materiales prediluidos deben ser estables durante un tiempo superior al requerido para el ensayo.

Preparación estándar - Reconstituir el contenido de la ampolla mediante el agregado de una cantidad apropiada de agua; usar inmediatamente.

Realizar una dilución con suficiente cantidad de *Prediluyente* para obtener una solución que contenga entre 0,5 y 2,0 Unidades Internacionales por mililitro. Preparar las siguientes diluciones de la preparación estándar empleando una solución isotónica regulada, no quelante que contenga 1 % de albúmina humana o bovina, por ejemplo, tris(hidroximetil)aminometano o imidazol. Preparar preferentemente por duplicado y en forma independiente por lo menos tres diluciones en progresión geométrica o aritmética. La concentración final del factor VIII deberá ser inferior a 0,01 UI por ml durante el paso de formación del factor Xa.

Preparación muestra - Reconstituir el contenido de la ampolla según se indica en el rótulo y emplear inmediatamente. Realizar una dilución con suficiente cantidad de *Prediluyente* para obtener una solución que contenga entre 0,5 y 2,0 UI por mililitro. Preparar las siguientes diluciones empleando una solución isotónica regulada, no quelante que contenga 1 % de albúmina humana o bovina, por ejemplo, tris(hidroximetil)aminometano o imidazol. Preparar preferentemente por duplicado y en forma independiente por lo menos tres diluciones en progresión geométrica o aritmética. La concentración final del factor VIII en la mezcla reacción deberá ser inferior a 0,01 UI por ml durante el paso de formación del factor Xa.

Procedimiento - Preparar una solución blanco que incluya todos los componentes excepto el factor VIII. [NOTA: preparar todas las diluciones en tubos de plástico y emplearlas inmediatamente. Se debe realizar al menos dos replicas de cada dilución.]

Etapa 1. Mezclar las diluciones precalentadas de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra* con un volumen apropiado de *Reactivo factor de coagulación*, también precalentado, o con la combinación de sus constituyentes separados. Incubar en tubos de plástico o en pocillos de microplaca a 37 °C. Las concentraciones de los distintos componentes durante la formación del factor Xa deben ser las especificadas anteriormente en la descripción de los reactivos. Permitir que la activación del factor X proceda durante un tiempo apropiado, terminando la reacción (Etapa 2) cuando la concentración del factor Xa alcance aproximadamente el 50 % del nivel máximo. Los tiempos de activación están normalmente entre 2 y 5 min.

Etapa 2. Determinar el factor Xa por agregado del sustrato cromogénico precalentado. Cuantificar la proporción de sustrato escindido, que debe ser lineal con respecto a la concentración del factor Xa formado, midiendo en un espectrofotómetro el cambio de absorbancia a una longitud de onda apropiada. Puede registrarse la absorbancia de

modo continuo, por medio de la lectura de la velocidad de cambio de absorbancia a 405 nm continuamente por un período de tiempo y obtener la velocidad media del cambio de absorbancia ($\Delta A/\text{min}$) o también es posible detener la reacción de hidrólisis tras un intervalo apropiado bajando el pH por adición de un reactivo apropiado, como ácido acético al 50 % v/v o una solución de citrato (1 mol por litro), a pH 3. Ajustar el tiempo de hidrólisis para conseguir un incremento lineal del cromóforo a lo largo del tiempo. Los tiempos adecuados de hidrólisis suelen estar entre 3 y 15 min, pero se admiten variaciones si con ellas se obtiene una mejor linealidad en la reacción dosis-respuesta.

Comprobar la validez del ensayo y calcular la potencia de la preparación a examinar empleando los métodos estadísticos usuales (ver 10. *Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos*).

VALORACIÓN DEL FACTOR IX DE COAGULACIÓN SANGUÍNEA

El método para determinar la actividad de factor IX es un ensayo de coagulación basado en la capacidad del factor IX de reducir el tiempo de coagulación de un plasma carente de factor IX. La reacción es acelerada por el agregado de un reactivo que contenga fosfolípidos y un activador de contacto como por ejemplo caolín, sílica o ácido ellágico. La potencia es determinada por comparación de la curva dosis-respuesta de la preparación muestra, con la de una preparación de referencia calibrada en Unidades Internacionales.

La Unidad Internacional es la actividad de una cantidad establecida de Patrón Internacional, que consiste en un concentrado liofilizado de factor IX de coagulación. La equivalencia en Unidades Internacionales del Patrón Internacional la establece la Organización Mundial de la Salud.

Reactivos

Plasma carente de factor IX

Reactivo que contenga fosfolípidos (Cefalina) y un Activador de contacto (Caolín liviano (Sílica o Ácido ellágico)).

Cloruro de calcio

Solución Reguladora Imidazol pH 7,3

Albúmina bovina o humana

Preparación estándar - Reconstituir la preparación según las indicaciones de la preparación estándar. Cuando corresponda, determinar la actividad de heparina presente y neutralizarla mediante la adición de por ejemplo sulfato de protamina (10 μg de sulfato de protamina neutralizan 1 UI de heparina). Diluir la preparación estándar con plasma carente de factor IX para obtener una solución que contenga entre 0,5 y 2,0 UI por mililitro. A partir

de esta dilución preparar, preferentemente por duplicado y en forma independiente, al menos tres diluciones, en progresión geométrica utilizando solución reguladora adecuada (por ejemplo solución reguladora de imidazol a pH 7,3 conteniendo 10 g por litro de albúmina bovina o humana). Preparar estas diluciones con precisión y utilizarlas inmediatamente.

Preparación muestra - Reconstituir la preparación en ensayo según se indica en el rótulo y utilizar inmediatamente. Cuando corresponda, determinar la actividad de heparina presente y neutralizarla mediante la adición de por ejemplo sulfato de protamina (10 μg de sulfato de protamina neutralizan 1 UI de heparina). Diluir la preparación en ensayo con plasma carente de factor IX para obtener una solución que contenga entre 0,5 y 2,0 UI por mililitro. Preparar diluciones en progresión geométrica de igual manera que la preparación estándar.

Procedimiento - Usar un aparato apropiado para medir tiempos de coagulación o realizar el ensayo colocando los tubos en baño de agua a 37 °C. Realizar la reacción por duplicado en el siguiente orden E1, E2, E3, M1, M2, M3 y con el otro juego de diluciones continuar en el siguiente orden M1, M2, M3, E1, E2 y E3. Colocar en cada tubo 0,1 ml plasma carente de factor IX y 0,1 ml de una de las diluciones de la *Preparación estándar* o de la *Preparación muestra*. Añadir a cada tubo 0,1 ml de un reactivo que contenga fosfolípidos y un activador de contacto apropiado para Tiempo de Tromboplastina Parcial Activado (TTPA) e incubar el tiempo recomendado a 37 °C. A cada tubo añadir 0,1 ml de una solución 3,7 g por litro de cloruro de calcio previamente calentado a 37 °C. Utilizando un cronómetro, medir el tiempo de coagulación, es decir, el intervalo entre el momento de agregado del cloruro de calcio y la primera indicación de formación de fibrina. [NOTA: se recomienda utilizar material plástico; los volúmenes se pueden modificar al igual que los tiempos de incubación; se pueden emplear reactivos comerciales siempre que se compruebe que los resultados son iguales.] Calcular la potencia empleando los métodos estadísticos habituales (ver 10. *Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos*).

VALORACIÓN DEL FACTOR X DE COAGULACIÓN SANGUÍNEA

El método para determinar la actividad de factor X de coagulación es un ensayo cromogénico en el cual se determina su actividad por su activación específica para formar factor Xa. La potencia de la preparación de factor X se estima comparando su actividad con un Patrón Internacional o una sustan-

cia de referencia calibrada en Unidades Internacionales por un método cromogénico.

La Unidad Internacional es la actividad de factor X de una cantidad establecida de patrón Internacional que consiste en un concentrado liofilizado de factor X humano. La equivalencia en Unidades Internacionales del Patrón Internacional la establece la Organización Mundial de la Salud. El método cromogénico de valoración consiste en dos pasos: la activación del factor X a factor Xa que depende de veneno de serpiente y el clivaje enzimático de un sustrato cromogénico específico para factor Xa, para dar un cromóforo que puede ser cuantificado espectrofotométricamente. En las condiciones apropiadas, existe una relación lineal entre la actividad del factor Xa y el clivaje del sustrato cromogénico.

Reactivos

Solución reguladora para diluciones - Solución de 3,7 g por litro de tris(hidroximetil)aminometano, 18,0 g por litro de cloruro de sodio, 2,1 g por litro de imidazol, 0,02 g por litro de bromuro de hexadimetrina y 1 g por litro de albúmina bovina o albúmina humana. Ajustar a pH 8,4, si fuera necesario, con ácido clorhídrico.

Veneno de víbora Russell específico para activar factor X - Se trata de una proteína derivada del veneno de víbora Russell's (*Vipera russelli*) que activa específicamente el factor X. Reconstituir y almacenar según se indica en el rótulo.

Sustrato cromogénico para factor Xa - Sustratos cromogénicos específicos para factor Xa tales como: *N*- α -benziloxycarbonil-*D*-arginil-*L*-glicil-*L*-arginina-4-nitroanilida diclorhidrato, *N*-benzoil-*L*-isoleucil-*L*-glutamil-glicil-*L*-arginin-4-nitroanilida clorhidrato, metanosulfonil-*D*-leucil-glicil-*L*-arginin-4-nitroanilida, metoxicarbonil-*D*-ciclohexilalanil-glicil-*L*-arginin-4-nitroanilida acetato. Reconstituir según se indica en el rótulo.

Preparación estándar - Diluir con *Solución reguladora para diluciones* para obtener una solución de 0,18 UI de factor X por mililitro. Preparar, preferentemente por duplicado y en forma independiente, al menos tres diluciones en progresión geométrica o aritmética empleando el mismo solvente.

Preparación muestra - Diluir con *Solución reguladora para diluciones* para obtener una solución de 0,18 UI de factor X por mililitro. Preparar, preferentemente por duplicado y en forma independiente, al menos tres diluciones en progresión geométrica o aritmética empleando el mismo solvente.

Procedimiento - Precalear todas las soluciones en un baño de agua a 37 °C inmediatamente antes de realizar el ensayo. Las siguientes condiciones de ensayo se utilizan para placas de

96 pocillos. Si el ensayo se lleva a cabo en tubos, se deben ajustar los volúmenes de manera que se mantengan las proporciones de la mezcla. Se deben realizar dos reacciones de cada dilución. En una placa de 96 pocillos mantenida a 37 °C, agregar por duplicado 12,5 μ l de cada dilución de la *Preparación muestra* o la *Preparación estándar* a cada uno de los pocillos. Mezclar volúmenes iguales de *Veneno de víbora Russell específico para activar factor X* y cloruro de calcio 0,1M, transferir 25 μ l a cada pocillo e incubar durante exactamente 90 segundos. A cada pocillo agregar 150 μ l de *Sustrato cromogénico para factor Xa* diluido 1 en 6 con *Solución reguladora para diluciones*. [NOTA: se admiten modificaciones de volúmenes de la reacción si con ellas se obtiene una mejor linealidad]. Determinar la velocidad de cambio de absorbancia (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) a 405 nm de forma continua durante 3 minutos y obtener el promedio de velocidad de cambio de absorbancia ($\Delta A/\text{min}$). Si no se puede medir en forma continua, leer la absorbancia a 405 nm a intervalos consecutivos adecuados, durante 40 segundos, o también es posible detener la reacción de hidrólisis tras un intervalo apropiado bajando el pH por adición de un reactivo conveniente, como ácido acético al 50 % v/v o una solución de citrato 1 M. Ajustar el tiempo de hidrólisis para conseguir un incremento lineal del cromóforo a lo largo del tiempo. Con los valores $\Delta A/\text{min}$ o A de cada dilución tanto de muestra como el estándar. Comprobar la validez del ensayo y calcular la potencia de la preparación a examinar empleando los métodos estadísticos habituales (ver 10. *Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos*).

VALORACIÓN DEL FACTOR DE VON WILLEBRAND

La potencia del factor de von Willebrand humano se determina comparando su actividad en la unión a colágeno o como cofactor ristocetina con la misma actividad de una preparación de referencia calibrada en Unidades Internacionales contra el estándar internacional.

La Unidad Internacional se define como la actividad de una cantidad establecida de Patrón Internacional para factor de von Willebrand en concentrado de factor VIII de coagulación humana. La equivalencia en Unidades Internacionales del Patrón Internacional la establece la Organización Mundial de la Salud.

Ensayo de unión a colágeno

La unión a colágeno se determina por un Enzoinmunoensayo sobre placas cubiertas con colágeno. El método se basa en la unión específica del

factor de von Willebrand a las fibras de colágeno y la posterior unión a un anticuerpo policlonal anti-factor de von Willebrand conjugado a una enzima, la cual, al agregar un sustrato cromogénico, genera un producto que puede ser cuantificado espectrofotométricamente. Bajo condiciones apropiadas existe una relación lineal entre el factor de von Willebrand unido a colágeno y la absorbancia.

Reactivos

Colágeno - Emplear fibras de colágeno humano o equino nativas tipo I o III. Pueden emplearse soluciones de colágeno.

Diluyente de Colágeno - Disolver 50 g de glucosa en agua, ajustar a pH entre 2,7 y 2,9 con ácido clorhídrico 1 M y diluir a 1 litro con agua.

Solución reguladora salina fosfatada (PBS) - Disolver 8 g de cloruro de sodio, 1,05 g de fosfato dibásico de sodio, 0,2 g de fosfato monobásico de sodio y 0,2 g de cloruro de potasio en agua. Ajustar a pH 7,2 con hidróxido de sodio 1 M o ácido clorhídrico 1 M y diluir a 1 litro con agua.

Solución reguladora de lavado - *Solución reguladora salina fosfatada* conteniendo 1 g por litro de polisorbato 20.

Reactivo bloqueante - *Solución reguladora salina fosfatada* conteniendo 1 g por litro de polisorbato 20 y 10 g por litro de albúmina sérica bovina.

Solución reguladora de dilución - *Solución reguladora salina fosfatada* conteniendo 1 g por litro de polisorbato 20 y 50 g por litro de albúmina sérica bovina.

Conjugado - Suero de conejo anti-factor de von Willebrand humano conjugado con peroxidasa. Emplear de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

Solución sustrato - Inmediatamente antes de emplear disolver una tableta de dicloruro de o-fenilendiamina y una tableta de peróxido de hidrógeno en 20 ml de agua o un volumen adecuado de peróxido de hidrógeno. [NOTA: proteger de la luz.]

Placas de microtitulación - Placas de poliestireno de fondo plano con superficies optimizadas para enzimo-inmunoensayo y alta capacidad de unión a proteínas.

Preparación estándar - Reconstituir la preparación de referencia según se indica en el rótulo. Diluir con *Solución reguladora de dilución* para obtener una solución de aproximadamente 1 UI de factor de von Willebrand. Preparar dos series independientes de no menos de tres diluciones cada una con *Solución reguladora de dilución*.

Preparación muestra - Reconstituir la preparación en ensayo según se indica en el rótulo. Diluir con *Solución reguladora de dilución* para obtener

una solución de aproximadamente 1 UI de factor de von Willebrand. Preparar dos series independientes de no menos de tres diluciones cada una con *Solución reguladora de dilución*.

Procedimiento - Llevar la solución de *Colágeno* a temperatura ambiente. Diluir con *Diluyente de colágeno* para obtener una solución entre 30 y 75 µg por ml de colágeno, mezclar para obtener una suspensión uniforme de fibras de colágeno. Colocar 100 µl en cada orificio de la placa de titulación. Cubrir la placa con un film plástico e incubar a 37 °C durante toda la noche. Vaciar los orificios de la placa cubierta con colágeno invirtiéndola y dejar secar sobre papel absorbente. Agregar 250 µl de *Solución de lavado*. Vaciar los orificios de la placa invirtiéndola y dejar secar sobre papel absorbente. Repetir la operación tres veces. Agregar 250 µl de *Reactivo bloqueante* a cada orificio, cubrir la placa con un film plástico e incubar a 37 °C por una hora. Vaciar los orificios de la placa invirtiéndola y dejar secar sobre papel absorbente. Agregar 250 µl de *Solución de lavado*. Vaciar los orificios de la placa invirtiéndola y dejar secar sobre papel absorbente. Repetir la operación tres veces. Agregar 100 µl de *Preparación muestra* o de *Preparación estándar* en los orificios. Agregar 100 µl de *Solución reguladora de dilución* a una serie de orificios que actúan como control negativo. Cubrir la placa con un film plástico e incubar a 37 °C por dos horas. Vaciar los orificios de la placa invirtiéndola y dejando secar sobre papel absorbente. Agregar 250 µl de *Solución de lavado*. Vaciar los orificios de la placa invirtiéndola y dejar secar sobre papel absorbente. Repetir la operación tres veces. Preparar una dilución apropiada del conjugado con *Solución reguladora salina fosfatada* conteniendo albúmina sérica bovina 5 g por litro y agregar 100 µl a cada orificio. Cubrir la placa con un film plástico e incubar a 37 °C durante dos horas. Vaciar los orificios de la placa invirtiéndola y dejar secar sobre papel absorbente. Agregar 250 µl de *Solución de lavado*. Vaciar los orificios de la placa invirtiéndola y dejar secar sobre papel absorbente. Repetir la operación tres veces. Agregar 100 µl de *Solución sustrato* a cada orificio e incubar a temperatura ambiente durante 20 minutos en la oscuridad. Agregar 100 µl de ácido clorhídrico a cada orificio. Medir las absorbancias a 492 nm. Emplear los valores de absorbancia para estimar la potencia de la preparación con los métodos estadísticos habituales. El ensayo solo es válido si los valores de absorbancia para los controles negativos son mayores que 0,05.

Actividad de cofactor ristocetina

Preparar diluciones apropiadas de la preparación en ensayo y de la preparación de referencia emple-

ando como diluyente una solución de 9 g por litro de cloruro de sodio y albúmina humana 10 a 50 g por litro. Añadir a cada dilución cantidades adecuadas de un reactivo von Willebrand conteniendo plaquetas humanas estabilizadas y ristocetina A. Mezclar sobre una placa de vidrio con movimientos circulares durante 1 minuto. Dejar reposar durante 1 minuto y observar sobre fondo oscuro con iluminación lateral. La última dilución que presenta aglutinación claramente visible indica el título de cofactor de ristocetina en la muestra. Emplear el diluyente como control negativo.

ACTIVIDAD ANTICOMPLEMENTARIA

Llevar a cabo la determinación de la actividad anticomplemento (AAC) de la inmunoglobulina por incubación de una determinada cantidad de sustancia a examinar (10 mg de inmunoglobulina) con una determinada cantidad de complemento de cobayo (20 CH₅₀), seguida de la titulación del complemento residual. Expresar la actividad anticomplemento como el porcentaje de complemento consumido respecto al complemento control considerado como 100 %. La unidad hemolítica de actividad del complemento (CH₅₀) es la cantidad de complemento que, en las condiciones de la reacción, provoca la lisis de $2,5 \times 10^8$ eritrocitos sobre un total de 5×10^8 eritrocitos sensibilizados de forma óptima.

Reactivos

Solución concentrada de magnesio y calcio - Disolver 1,103 g de cloruro de calcio y 5,083 g de cloruro de magnesio en agua y diluir hasta 25 ml con el mismo solvente.

Solución reguladora concentrada de barbital - Disolver 207,5 g de cloruro de sodio y 25,48 g de barbital sódico en 4 litros de agua y ajustar a pH 7,3 con ácido clorhídrico 1 M. Agregar 12,5 ml de *Solución concentrada de magnesio y calcio* y diluir hasta 5 litros con agua. Filtrar a través de una membrana filtrante de 0,22 µm y conservar a 4 °C en envases de vidrio.

Solución de gelatina - Disolver 12,5 g de gelatina en aproximadamente 800 ml de agua y calentar a ebullición en un baño de agua. Enfriar a 20 °C y completar hasta 10 litros con agua. Filtrar a través de una membrana filtrante de 0,22 µm y conservar a 4 °C. [NOTA: emplear únicamente soluciones lípidas.]

Solución citratada - Disolver 8,0 g de citrato de sodio, 4,2 g de cloruro de sodio y 20,5 g de glucosa en 750 ml de agua. Ajustar a pH 6,1 con una solución de ácido cítrico 100 g por litro y diluir hasta 1 litro con agua.

Solución reguladora gelatina-barbital - Agregar 4 volúmenes de *Solución de gelatina* a 1 volumen de *Solución reguladora concentrada de barbital* y mezclar. Ajustar a pH 7,3, si fuera necesario, con ácido clorhídrico 1 M o hidróxido de sodio 1 M y mantener a 4 °C. [NOTA: preparar en el día de su uso.]

Sangre de carnero estabilizada - Recolectar 1 volumen de sangre de carnero sobre 1 volumen de *Solución citratada* y mezclar. Conservar la sangre estabilizada a 4 °C durante un mínimo de 7 días y un máximo de 28 días. [NOTA: la sangre de carnero o los eritrocitos de carnero estabilizados se pueden obtener comercialmente.]

Hemolisina - Antisuero frente a los eritrocitos de carnero, preparado en conejo [NOTA: dichos antisueros se pueden obtener comercialmente.]

Complemento de cobayo - Mezclar los sueros obtenidos a partir de la sangre de al menos diez cobayos. Separar el suero de la sangre coagulada por centrifugación a 4 °C aproximadamente. Conservar el suero en pequeñas cantidades a una temperatura inferior a -70 °C.

Método

Preparación de la suspensión patrón de eritrocitos de carnero al 5 %

Separar los eritrocitos de carnero por centrifugación de un volumen adecuado de sangre de carnero estabilizada. Lavar las células tres veces como mínimo con *Solución reguladora gelatina-barbital* y preparar una suspensión al 5 % v/v en *Solución reguladora gelatina-barbital*. Determinar la concentración celular según se indica a continuación. Agregar 0,2 ml de la suspensión a 2,8 ml de agua y centrifugar el lisado durante 5 minutos a 1.000 g. La concentración celular es adecuada si la absorbancia del líquido sobrenadante, determinada a 541 nm, es de $0,62 \pm 0,01$. Corregir la concentración celular por adición de un volumen de *Solución reguladora gelatina-barbital* hasta un V_f calculado por la fórmula siguiente:

$$AV_o/0,62$$

en la cual V_o es el volumen inicial de la suspensión original y A es la absorbancia de la suspensión original a 541 nm. La suspensión ajustada contiene aproximadamente 10^9 células por ml.

Titulación de la hemolisina

Preparar las diluciones de hemolisina según el siguiente esquema:

<i>na requerida</i>	<i>Solución reguladora barbital - gelatina</i>		<i>Hemolisina</i>
	Volumen (ml)	Dilución (1:....)	Volumen (ml)
7,5	0,65	no diluido	0,1
10	0,90	no diluido	0,1
75	1,80	7,5	0,2
100	1,80	10	0,2
150	1,00	75	1,0
200	1,00	100	1,0
300	1,00	150	1,0
400	1,00	200	1,0
600	1,00	300	1,0
800	1,00	400	1,0
1.200	1,00	600	1,0
1.600	1,00	800	1,0
2.400	1,00	1.200	1,0
3.200*	1,00	1.600	1,0
4.800*	1,00	2.400	1,0

* Descartar 1,0 ml de la mezcla.

Agregar 1,0 ml de *Suspensión patrón de eritrocitos de carnero al 5 %* a cada tubo de la serie de *Diluciones de hemolisina*, comenzando con la dilución 1:75 y mezclar. Incubar a 37 °C durante 30 minutos.

Transferir 0,2 ml de cada mezcla de *Dilución de hemolisina* a tubos nuevos y agregar 1,10 ml de *Solución reguladora gelatina-barbital* y 0,2 ml de una dilución de *Complemento de cobayo* (por ejemplo 1:150). Realizar estas operaciones por duplicado.

Como control de células sin hemólisis preparar tres tubos con 1,4 ml de *Solución reguladora gelatina-barbital* y 0,1 ml de *Suspensión de eritrocitos de carnero al 5 %*.

Como control de células hemolisadas preparar tres tubos con 1,4 ml de agua y 0,1 ml de *Suspensión de eritrocitos de carnero al 5 %*.

Incubar todos estos tubos a 37 °C durante 60 minutos y centrifugar a 1.000 g durante 5 minutos. Medir la absorbancia de cada líquido sobrenadante a 541 nm y calcular el grado de hemólisis de cada tubo por la fórmula siguiente:

$$(A_a - A_l) / (A_b - A_l)$$

en la cual A_a es la absorbancia de los tubos que contienen las *Diluciones de hemolisina*, A_b es la absorbancia media de los tres tubos con hemólisis total y A_l es la absorbancia media de los tres tubos sin hemólisis.

Graficar el grado de hemólisis obtenido, en porcentaje, en función de la inversa de la *Dilución de*

hemolisina. Determinar la dilución óptima de hemolisina a partir del gráfico. Elegir una dilución en la que un aumento de la cantidad de hemolisina ya no produzca una variación sensible del grado de hemólisis. Esta dilución se considera que contiene 1 unidad mínima de hemólisis (1 UMH) en 1,0 ml. La dilución óptima hemolítica de hemolisina para la preparación de eritrocitos de carnero sensibilizados contiene 2 UMH por ml.

La titulación de hemolisina no es válida si la hemólisis máxima no esta comprendida entre el 50 y el 70 %. Si el máximo grado de hemólisis no está en este intervalo, repetir la titulación utilizando una disolución de complemento más o menos diluida según corresponda.

Preparación de eritrocitos de carnero sensibilizados (sistema hemolítico)

Preparar una cantidad adecuada de hemolisina diluida conteniendo 2 UHM por ml y un volumen igual de *Suspensión patrón de eritrocitos de carnero al 5 %*. Añadir la dilución de hemolisina a la suspensión patrón de células y mezclar. Incubar a 37 °C durante 15 minutos; conservar entre 2 y 8 °C y emplear dentro de las 6 horas de preparada.

Titulación del complemento

Preparar una dilución apropiada de complemento (por ejemplo 1:250) con *Solución reguladora gelatina-barbital* y realizar la titulación por duplicado según se indica en la siguiente tabla:

<i>Tubo</i> <i>N°</i>	<i>Volumen de complemento diluido (ml)</i> <i>(por ej. 1:250)</i>	<i>Volumen de Solución reguladora de gelatina-barbital (ml)</i>
1	0,1	1,2

2	0,2	1,1
3	0,3	1,0
4	0,4	0,9
5	0,5	0,8
6	0,6	0,7
7	0,7	0,6
8	0,8	0,5
9	0,9	0,4
10	1,0	0,3
11	1,1	0,2
12	1,2	0,1
Tres tubos Control de células con 0 % de hemólisis	-	1,3
Tres tubos al 100 % de hemólisis	-	1,3 ml de agua

Agregar 0,2 ml de *Eritrocitos de carnero sensibilizados* a cada tubo, mezclar e incubar a 37 °C durante 60 minutos. Enfriar los tubos en un baño de hielo y centrifugar a 1.000 g durante 5 minutos. Medir la absorbancia del sobrenadante a 541 nm y calcular el grado de hemólisis (Y) por la fórmula siguiente:

$$(A_c - A_f) / (A_b - A_f)$$

en la cual A_c es la absorbancia de los *Tubos 1 a 12*, A_b es la absorbancia media de los tres tubos con hemólisis al 100 % y A_f es la absorbancia media de los tres tubos sin hemólisis.

Representar una curva sobre papel doble logarítmico con los valores de $Y/(1-Y)$ en función al volumen de complemento diluido en mililitros. Hallar la ecuación de la recta que mejor ajuste al conjunto de puntos y determinar el valor en ordenadas que corresponda al 50 % de dosis hemolítica del complemento donde $Y/(1-Y) = 1,0$. Calcular la acti-

vidad en unidades hemolíticas (CH_{50}/ml) de acuerdo con la fórmula siguiente:

$$C_d/5C_a$$

en la cual C_d es el valor inverso de la dilución del complemento, C_a es el volumen en mililitros del complemento diluido que produce un 50 % de hemólisis y 5 el factor de escala para tener en cuenta el número de eritrocitos.

El ensayo no será válido a menos que el gráfico sea lineal entre el 15 % y el 85 % de hemólisis y que el valor de la pendiente esté comprendido entre 0,15 y 0,40 (preferentemente entre 0,18 y 0,30).

Ensayo de la actividad anticomplemento

Preparar una dilución del *Complemento de cobayo* ya titulado con *Solución reguladora gelatina-barbital* para obtener 100 CH_{50}/ml . Agregar la inmunoglobulina a examinar, ajustada a pH 7 si fuera necesario. Preparar las mezclas siguientes de incubación para una inmunoglobulina que contenga 50 mg por ml:

	<i>Inmunoglobulina a ser examinada (ml)</i>	<i>Control de complemento (por duplicado) (ml)</i>
Inmunoglobulina (50 mg por ml)	0,2	—
Solución reguladora gelatina barbital	0,6	0,8
Complemento	0,2	0,2

Realizar en paralelo los ensayos sobre la inmunoglobulina a examinar y sobre controles negativos y positivos de AAC, preparados con inmunoglobulina humana según las indicaciones del prospecto que acompaña a la preparación de referencia. Si la sustancia a examinar contiene más o menos de 50 mg por ml de inmunoglobulina, ajustar adecuadamente los volúmenes de la preparación y de la *Solución reguladora gelatina-barbital*, por ejemplo, utilizar 0,33 ml de una

preparación que contenga 30 mg por ml de inmunoglobulina y 0,47 ml de *Solución reguladora gelatina-barbital* para conseguir un volumen total de 0,8 ml. Tapar los tubos e incubar a 37 °C durante 60 minutos. Agregar 0,2 ml de cada mezcla de incubación a 9,8 ml de *Solución reguladora gelatina-barbital* para diluir el complemento. Para determinar la actividad del complemento residual, realizar la *Titulación del complemento* en cada tubo según se ha descrito anteriormente.

Calcular la actividad anticomplementaria (AAC) de la sustancia a examinar empleando como referencia el complemento control considerado como 100 %, a partir de la fórmula siguiente:

$$100(a-b)/a$$

en la cual a es la media de la actividad del complemento (CH_{50}/ml) del complemento control y b es la actividad del complemento (CH_{50}/ml) de la sustancia a examinar.

El ensayo no es válido a menos que; las actividades anticomplementarias encontradas para los controles AAC negativos y los controles AAC positivos se sitúen en los límites indicados en el prospecto que acompaña la preparación de referencia; la actividad del complemento control (a) esté comprendida entre 80 y 120 CH_{50} por mililitro.

ACTIVADOR DE PRECALICREÍNA

El activador de precalicreína (PCA) transforma la precalicreína en calicreína y ésta puede valorarse por su capacidad de escindir un cromóforo a partir de un sustrato peptídico sintético. El grado de clivaje se puede medir por espectrofotometría y la concentración de PCA se calcula por comparación con una preparación patrón calibrada en Unidades Internacionales. La Unidad Internacional corresponde a la actividad de una determinada cantidad del Patrón Internacional, que está constituido por activador de la precalicreína liofilizado. La equivalencia en Unidades Internacionales de la muestra patrón internacional la establece la Organización Mundial de la Salud.

Reactivos

Solución reguladora A - Disolver 6,055 g de tris(hidroximetil)aminometano, 1,17 g de cloruro de sodio, 50 mg de bromuro de hexadimetrina y 100 mg de azida de sodio en agua. Ajustar a pH 8,0 con ácido clorhídrico 2 M y diluir hasta 1 litro con agua.

Solución reguladora B - Disolver 6,055 g de tris(hidroximetil)aminometano y 8,77 g de cloruro de sodio en agua. Ajustar a pH 8,0 con ácido clorhídrico 2 M y diluir hasta 1 litro con agua.

Preparación del sustrato de la precalicreína - [NOTA: para evitar que se active la coagulación, la sangre o el plasma utilizados para la preparación de la precalicreína deben ponerse en contacto sólo con material plástico o de vidrio tratado con silicona.] Añadir 9 volúmenes de sangre humana sobre un volumen de una solución de anticoagulante (ACD, CPD o una solución de citrato de sodio 38 g por litro) a la que se le ha agregado 1 mg por mililitro de bromuro de hexadimetrina.

Centrifugar la mezcla a 3.600 g durante 5 minutos. Separar el plasma y centrifugar de nuevo a 6.000 g durante 20 minutos para que sedimenten las plaquetas. Separar el plasma pobre en plaquetas y dializar frente a 10 volúmenes de *Solución reguladora A* durante 20 horas. Después de la diálisis, aplicar el plasma sobre una columna de cromatografía que contiene agarosa-DEAE para cromatografía de intercambio iónico, que haya sido equilibrada con *Solución reguladora A* y cuyo volumen sea igual a dos veces el volumen del plasma. Eluir con *Solución reguladora A* a un flujo de 20 ml/cm²/h. Recolectar el eluido en fracciones y medir la absorbancia a 280 nm. Reunir las fracciones que contengan el primer pico de proteínas para obtener aproximadamente un volumen de 1,2 veces el volumen del plasma pobre en plaquetas.

Para verificar que el sustrato está exento de actividad de calicreína, mezclar 1 volumen del mismo con 20 volúmenes de solución del sustrato cromogénico que será utilizado durante el ensayo precalentada e incubar a 37 °C durante 2 minutos. El sustrato es adecuado si la absorbancia no aumenta más de 0,001 por minuto. Agregar a la solución de sustrato 7 g por litro de cloruro de sodio y filtrar utilizando un filtro de membrana de 0,45 µm. Congelar el filtrado en alícuotas y conservar a -25 °C; el sustrato también puede liofilizarse para su conservación. [NOTA: efectuar todas las operaciones, desde el inicio de la cromatografía hasta la congelación en partes alícuotas, durante una misma jornada de trabajo.]

Valoración

Es preferible realizar la valoración utilizando un analizador enzimático automatizado a 37 °C, con volúmenes, concentraciones de sustrato y tiempos de incubación ajustados para que la velocidad de reacción sea lineal al menos hasta 35 UI/ml. Los patrones, las muestras y el sustrato de la precalicreína pueden diluirse, si fuese necesario, con *Solución reguladora B*.

Incubar los patrones o las muestras diluidos durante 10 minutos con sustrato de precalicreína, de forma que el volumen del patrón o de la muestra sin diluir no sobrepase 1/10 del volumen total de la mezcla de incubación, para evitar errores producidos por la variación de la fuerza iónica y el pH. Incubar la mezcla o una parte de ella con un volumen igual de una solución de un sustrato cromogénico sintético que sea específico para la calicreína (por ejemplo, acetato de *N*-benzoyl-*L*-prolil-*L*-fenilalanil-*L*-arginina 4-nitroanilida o dihidrocloruro de *D*-prolil-*L*-fenilalanil-*L*-arginina 4-nitroanilida), disuelto en *Solución reguladora B*.

Medir la variación de la absorbancia por minuto $\Delta A/\text{min}$ desde el minuto 2 al minuto 10, a la longitud de onda específica para el sustrato utilizado. Preparar un blanco para cada mezcla de muestra o de patrón utilizando la *Solución reguladora B* en lugar del sustrato de precalicreína. Corregir $\Delta A/\text{min}$ sustrayendo el valor obtenido para el blanco correspondiente. Realizar una curva de calibración utilizando los valores obtenidos con los patrones y sus respectivas concentraciones; utilizar la curva para determinar la actividad de PCA de la sustancia a examinar.

ALBÚMINA HUMANA

SOLUCIÓN

Definición - La Solución de Albúmina Humana es una solución acuosa de proteínas obtenidas a partir de plasma que debe cumplir los requisitos de *Plasma Humano para Fraccionamiento*.

Caracteres generales - Líquido límpido, ligeramente viscoso, prácticamente incoloro, amarillo, ámbar o ligeramente verdoso.

Sustancias de referencia - Albúmina Humana para Electroforesis SR-FA. Albúmina Humana para Validación del Ensayo de Aluminio SR-FA.

PRODUCCIÓN

La separación de la albúmina se lleva a cabo en condiciones estrictamente controladas, en particular en lo concerniente a pH, fuerza iónica y temperatura, de manera tal que en el producto final no menos del 95 por ciento de las proteínas totales sea albúmina. La Solución de Albúmina Humana puede prepararse como solución concentrada conteniendo de 150 g por litro a 250 g por litro de proteínas totales, o como solución isotónica conteniendo de 35 g por litro a 50 g por litro de proteínas totales. Se puede agregar un estabilizante que proteja a la solución de los efectos del calor, como por ejemplo caprilato de sodio (octanoato de sodio) o *N*-acetilriptofano o una combinación de ambos a una concentración apropiada. No se deben agregar conservantes antimicrobianos en ninguna fase de la preparación. La solución se filtra a través de una membrana capaz de retener bacterias, se distribuye asépticamente en envases estériles que posteriormente se cierran para prevenir cualquier contaminación. La solución en su envase final se calienta a 60 ± 1 °C y se mantiene a esta temperatura durante por lo menos 10 horas. Seguidamente, los envases se incuban entre 30 y 35 °C durante no menos de 14 días, o entre 20 y 25 °C durante no menos de 4 semanas y se realiza un examen visual de los envases para examinar evidencias de contaminación microbiana.

CONSERVACIÓN

Mantener protegido de la luz.

ENSAYOS

Identificación

Examinar la preparación mediante una técnica apropiada de inmunoelectroforesis (ver 635.

Métodos inmunoquímicos). Comparar el suero humano normal con la preparación en ensayo, ambos diluidos hasta una concentración de 10 g por litro de proteína, utilizando un antisuero contra suero humano normal. El componente principal de la preparación en ensayo debe tener la misma movilidad del componente principal del suero humano normal. La preparación puede contener también pequeñas cantidades de otras proteínas plasmáticas.

Determinación del pH <250>

Entre 6,7 y 7,3. Diluir la preparación en ensayo con una solución de cloruro de sodio 9 g por litro hasta una concentración de 10 g por litro de proteínas.

Proteínas totales

Diluir la preparación a examinar, si fuera necesario, con una solución de cloruro de sodio 9 g por litro para obtener una solución de aproximadamente 15 mg de proteína en 2 ml. Transferir 2,0 ml a un tubo de centrifuga de fondo redondo y agregar 2,0 ml de una solución de molibdato de sodio 75 g por litro y 2,0 ml de una mezcla de agua y ácido sulfúrico libre de nitrógeno (30:1). Agitar, centrifugar durante 5 minutos, decantar el sobrenadante líquido y dejar escurrir el tubo invertido sobre un papel de filtro. Determinar el contenido de nitrógeno en el residuo (ver 200. *Determinación de nitrógeno*) y calcular el contenido de proteínas multiplicando el resultado por 6,25. [NOTA: si el producto contiene un estabilizante cuya molécula contiene nitrógeno, puede utilizarse otro método alternativo validado para determinación de proteínas.] El contenido de proteínas no debe ser menor a 95 % ni mayor a 105 % de la cantidad declarada en el rótulo.

Composición en proteínas

Examinar por electroforesis de zona (ver 300. *Electroforesis*), empleando como soporte tiras de gel de acetato de celulosa y como solución de electrolitos una solución reguladora barbital pH 8,6 (ver *Soluciones reguladoras* en *Reactivos y Soluciones*).

Solución muestra - Diluir la preparación en ensayo con una solución de cloruro de sodio 9 g por litro hasta una concentración de proteínas de 20 g por litro.

Solución estándar - Diluir Albúmina Humana para Electroforesis SR-FA en una solución de cloruro de sodio 9 g por litro, hasta una concentración de proteínas de 20 g por litro.

Procedimiento - Aplicar sobre una tira 2,5 µl de la *Solución muestra* en una banda de 10 mm, o bien aplicar 0,25 µl por milímetro si se emplea una tira

más estrecha. En otra tira, aplicar en las mismas condiciones, un volumen igual de *Solución estándar*. Aplicar un campo eléctrico tal que el compuesto que se desplace más rápidamente migre no menos de 30 mm. Tratar las tiras con solución de negro amido 10B durante 5 minutos y luego decolorar con una mezcla de metanol y ácido acético glacial (90:10), hasta que el fondo de las tiras esté libre de color. Tratar las tiras con una mezcla de metanol y ácido acético glacial (81:19). Medir la absorbancia de las bandas a 600 nm mediante un instrumento capaz de dar a esta longitud de onda una respuesta lineal para el intervalo de medida. Calcular el resultado como un promedio de tres medidas de cada tira. El ensayo sólo es válido si en el electroforetograma obtenido con la *Solución estándar*, la proporción de proteínas contenidas en la banda principal está dentro de los límites que se especifican para la sustancia de referencia. En el electroforetograma obtenido con la *Solución muestra*, no más de 5 % de las proteínas tienen una movilidad distinta de la de la banda principal.

Distribución del tamaño molecular

Sistema cromatográfico – Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 60 cm × 7,5 mm o 30 cm × 7,8 mm con fase estacionaria constituida por gel de sílice hidrofílico para cromatografía para fraccionamiento de proteínas globulares con masa molecular relativa en el rango de 10.000 a 500.000. El caudal debe ser aproximadamente 0,5 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 4,873 g de fosfato dibásico de sodio, 1,741 g de fosfato monobásico de sodio, 11,688 g de cloruro de sodio y 50 mg de azida sódica en un litro de agua.

Solución muestra - Diluir la preparación en ensayo con una solución de cloruro de sodio 9 g por litro hasta una concentración apropiada al sistema cromatográfico que se vaya a utilizar.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo un volumen exactamente medido (generalmente el volumen de inyección debe contener entre 50 y 600 µg de proteínas) de *Solución muestra*. Registrar el cromatograma y localizar el pico correspondiente a polímeros y agregados en la región del cromatograma que representa el volumen muerto. Ignorar el pico debido al estabilizante. El área del pico debido a polímeros y agregados no debe ser mayor al 10 % del área total del cromatograma (corresponde aproximadamente a 5 % de polímeros y agregados).

Grupo Hemo

Diluir la preparación a examinar con una solución de cloruro de sodio 9 g por litro hasta una concentración de proteínas de 10 g por litro. Medir la absorbancia (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) a 403 nm, empleando agua como blanco. La absorbancia de la preparación en ensayo no debe ser mayor a 0,15.

Activador de precalicreína

Proceder según se indica en *Activador de precalicreína* en 385. *Ensayos en hemoderivados*. No debe contener más de 35 UI por ml de activador de precalicreína.

Aluminio

Determinar el contenido de aluminio según se indica en *Método I* en 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*. Emplear un horno como generador atómico y envases de plástico para la preparación de las soluciones. Lavar todo el material con ácido nítrico al 20,0 % antes del uso.

Solución de validación - Albúmina Humana para Validación del Ensayo de Aluminio SR-FA.

Solución muestra - Emplear la preparación en ensayo.

Soluciones estándar - Preparar un rango adecuado de soluciones de referencia agregando volúmenes adecuados de solución de aluminio (10 ppm) (SL) (ver *Soluciones límite* en *Reactivos y Soluciones*) a volúmenes conocidos de agua. Diluir las soluciones si fuera necesario con ácido nítrico 10 g por litro que contenga 1,7 g por litro de nitrato de magnesio y 0,05 % v/v de octoxinol 10.

Procedimiento - Medir la absorbancia de todas las soluciones a 309,3 nm. El ensayo sólo es válido si el contenido de aluminio determinado para la Albúmina Humana para Validación del Ensayo de Aluminio SR-FA no difiere en más del 20 % del valor indicado para la sustancia de referencia. No debe contener más de 200 µg de aluminio por litro.

Potasio

Determinar el contenido de potasio según se indica en *Método I* en 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*. Medir la intensidad emitida a 766,5 nm. No debe contener más de 0,05 mmol de K por gramo de proteínas.

Sodio

Determinar el contenido de sodio según se indica en *Método I* en 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*. Medir la intensidad emitida a 589 nm. No debe contener menos del 95 ni más del 105 % de la cantidad declarada en el rótulo y como máximo 160 mmol de Na por litro.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de pirogénos <340>

Debe cumplir con los requisitos. En el caso de la solución de 35 g por litro a 50 g por litro de proteína, inyectar a cada conejo 10 ml de la preparación en ensayo por kilogramo de peso corporal. Cuando la solución contenga de 150 g por litro a 250 g por litro de proteínas, inyectar a cada conejo 5 ml de la solución a examinar por kilogramo de peso corporal.

ROTULADO

Indicar en el rótulo: el nombre de la preparación; el volumen; el contenido de proteínas, expresado en gramos por litro; el contenido de sodio, expresado en milimoles por litro; el nombre y la concentración de cualquier sustancia agregada (por ejemplo, los estabilizantes) y que el producto no debe usarse si se observa un precipitado o presenta turbidez.

ANTITROMBINA III HUMANA, CONCENTRADO DE

Definición- El Concentrado de Antitrombina III Humana es una preparación de una fracción glicoproteica obtenida a partir de plasma humano, capaz de inactivar trombina en presencia de un exceso de heparina. Se obtiene a partir de plasma que debe cumplir los requisitos en *Plasma Humano para Fraccionamiento*. La potencia de la preparación, reconstituida según se indica en el rótulo, no debe ser menor de 25 UI de antitrombina III por mililitro.

Caracteres generales - Polvo o masa sólida friable, blanco. Higroscópica.

PRODUCCIÓN

El método de producción debe incluir uno o varios pasos que hayan demostrado eliminar o inactivar agentes infecciosos conocidos. Si se utilizan sustancias para inactivación de virus durante la producción deberá validarse el procedimiento posterior de purificación para demostrar que la concentración de estas sustancias se reduce a niveles apropiados y que cualquier residuo presente no compromete la inocuidad de la preparación para los pacientes.

La actividad específica no debe ser menor de 3 UI de antitrombina III por mililitro de proteínas totales, excluyendo la albúmina.

La antitrombina III se debe purificar y concentrar, pudiendo agregarse un estabilizador apropiado. No se deben agregar conservantes antimicrobianos. El concentrado de antitrombina III se debe filtrar a través de una membrana capaz de retener bacterias, se debe distribuir asépticamente en los envases estériles finales y se debe congelar inmediatamente. Posteriormente se debe liofilizar y los envases se cierran al vacío o en atmósfera de gas inerte.

Ensayo de validación

Debe demostrarse que el proceso de fabricación produce un producto que cumple consistentemente con el siguiente ensayo:

Reacción que une a Heparina - Examinar por electroforesis en gel de agarosa (ver 300. *Electroforesis*). Preparar una solución de agarosa para electroforesis de 10 g por litro, que contenga aproximadamente 15 UI de heparina por ml, en solución reguladora barbital pH 8,4. Transferir 5 ml de esta solución sobre una placa de vidrio de 5 cm² y enfriar a 4° C durante 30 minutos. Cortar dos orificios de 2 mm de diámetro, situados a 1 cm y 4 cm, res-

pectivamente del borde de la placa y a 1 cm del cátodo. Sembrar en uno de los pocillos 5 µl de la preparación en ensayo, diluida de forma que contenga aproximadamente 1 UI de antitrombina III por ml. En el otro pocillo sembrar 5 µl de una solución de un colorante marcador tal como azul de bromofenol. Realizar la corrida electroforética a 4 °C aplicando un campo eléctrico constante de 7 V por cm, hasta que el colorante alcance el ánodo. Cortar el gel de agarosa a 1,5 cm del lado desde el borde de la placa en el que se ha depositado la preparación en ensayo y retirar la mayor parte del gel, dejando una banda de 1,5 cm de ancho que contiene la preparación en ensayo. Sustituir la parte de gel que se ha retirado por una capa uniforme formada por 3,5 ml de una solución de agarosa para electroforesis de 10 g por litro en una solución reguladora barbital pH 8,4 (ver *Soluciones reguladoras en Reactivos y Soluciones*) que contenga un anticuerpo de conejo anti-antitrombina III humana a la concentración apropiada, determinada previamente, de modo que se obtengan picos de una altura apropiada, no menor de 1,5 cm. Colocar la placa con el gel original en el cátodo de forma que pueda efectuarse una segunda migración electroforética en sentido perpendicular a la primera. Realizar esta segunda corrida electroforética aplicando un campo eléctrico constante de 2 V por cm durante 16 horas. Cubrir las placas con papel de filtro y varias capas de guata o papel absorbente empapado con una solución de 9 mg de cloruro de sodio por ml y comprimir bajo presión durante 2 horas, cambiando la solución de cloruro de sodio varias veces. Enjuagar con agua, secar las placas y teñir con solución de azul ácido 92 o Negro Amido 10B. Calcular la fracción de antitrombina III unida a heparina, que corresponde al pico más próximo al ánodo, con respecto a la cantidad total de antitrombina III, midiendo el área definida por los dos picos de precipitación. La proporción de antitrombina III que puede unirse a heparina no debe ser menor de 60 %.

CONSERVACIÓN

En envases herméticos protegido de la luz.

ENSAYOS

Identificación

Debe cumplir con los requisitos en *Valoración*.

Determinación del pH <250>

Entre 6,0 y 7,5. Reconstituir la preparación en ensayo según se indica en el rótulo.

Solubilidad

Reconstituir el Concentrado de Antitrombina III Humana según se indica en el rótulo. Se debe disolver completamente en no más de 10 minutos con

agitación suave formando una solución incolora, límpida o ligeramente turbia.

Osmolalidad <640>

No menos de 240 mosmol/kg.

Proteínas totales

Diluir la preparación a examinar, si fuera necesario, con una solución de cloruro de sodio 9 g por litro para obtener una solución de aproximadamente 15 mg de proteína en 2 ml. Transferir 2,0 ml a un tubo de centrifuga de fondo redondo y agregar 2,0 ml de una solución de molibdato de sodio 75 g por litro y 2,0 ml de una mezcla de agua y ácido sulfúrico libre de nitrógeno (30:1). Agitar, centrifugar durante 5 minutos, decantar el sobrenadante líquido y dejar escurrir el tubo invertido sobre un papel de filtro. Determinar el contenido de nitrógeno en el residuo (ver 200. *Determinación de nitrógeno*) y calcular el contenido de proteínas multiplicando el resultado por 6,25. [NOTA: si el Concentrado de Antitrombina III Humana no contiene albúmina como estabilizante, se puede utilizar otro método debidamente validado].

Agua

Determinar el contenido de agua por *Titulación volumétrica directa* (ver 120. *Determinación de agua*) o según se indica en 680. *Pérdida por secado*. Debe cumplir con los requisitos establecidos por la autoridad sanitaria competente.

Determinación de heparina

Proceder según se indica en *Valoración de heparina en factores de coagulación* (ver 385. *Ensayos en hemoderivados*). No debe contener más de 0,1 UI de actividad de heparina por UI de antitrombina III. [NOTA: se debe validar el ensayo de heparina para cada preparación específica para tener en cuenta la interferencia originada por la antitrombina III.]

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de piretógenos <340>

Debe cumplir con los requisitos. Inyectar a cada conejo un volumen de la preparación reconstituida equivalente a no menos de 50 UI de antitrombina III por kg de peso corporal.

VALORACIÓN

Proceder según se indica en *Valoración de Antitrombina III Humana* (ver 385. *Ensayos en hemoderivados*). La potencia estimada no debe ser menor de 80 por ciento ni mayor de 120 por ciento de la potencia declarada. Los límites de confianza del error ($P = 0,95$) de la potencia estimada no debe ser

menor de 90 % ni mayor de 110 % de la potencia estimada.

ROTULADO

Indicar en el rótulo: el contenido de antitrombina III en UI por envase; la cantidad de proteína contenida en el envase; el nombre y volumen del líquido a ser usado para la reconstitución; cuando corresponda, la cantidad de albúmina presente como estabilizador.

COMPLEJO PROTROMBÍNICO HUMANO

Definición - El Complejo Protrombínico Humano es una fracción de proteínas plasmáticas que contiene factor IX de coagulación sanguínea junto con cantidades variables de los factores II, VII y X de coagulación; la presencia y proporción de estos factores adicionales depende del método de fraccionamiento. Se obtiene a partir de plasma que debe cumplir los requisitos de *Plasma Humano para Fraccionamiento*. La potencia de la preparación, reconstituida según se indica en el rótulo, no debe ser menor de 20 UI de factor IX por mililitro.

Caracteres generales - Polvo o sólido friable, blanco o ligeramente coloreado. Muy higroscópico.

PRODUCCIÓN

El método de producción debe estar diseñado de forma de minimizar la activación de cualquier factor de coagulación (para minimizar la trombogenicidad potencial) y debe incluir uno o varios pasos que hayan demostrado eliminar o inactivar agentes infecciosos conocidos. Si se utilizan sustancias para inactivación de virus durante la producción deberá validarse el procedimiento posterior de purificación para demostrar que la concentración de estas sustancias se reduce a niveles apropiados y que cualquier residuo presente no compromete la inocuidad de la preparación para los pacientes.

La actividad específica antes del agregado de cualquier proteína estabilizante debe ser no menor de 0,6 UI del factor IX por miligramo de proteína total.

La fracción Complejo Protrombínico Humano se disuelve en un líquido apropiado. Puede agregarse heparina, antitrombina y otras sustancias auxiliares tales como estabilizadores. No se deben agregar conservantes antimicrobianos. La solución se filtra a través de una membrana capaz de retener bacterias, se distribuye asépticamente en el envase final y se congela inmediatamente. Posteriormente se liofiliza y los envases se cierran con vacío o bajo atmósfera de gas inerte.

CONSERVACIÓN

En envases herméticos protegido de la luz.

[NOTA: reconstituir la preparación según se indica en el rótulo inmediatamente antes de realizar los *Ensayos*, excepto *Solubilidad* y *Agua*, y la *Valoración*.]

ENSAYOS

Identificación

Debe cumplir con los requisitos según se indica en *Para factor IX* y cuando corresponda *Para factor II*, *Para factor VII* y *Para factor X*, en *Valoración*.

Solubilidad

Al contenido de un envase, agregar el volumen de solvente indicado en el rótulo a la temperatura recomendada. La preparación debe disolverse completamente en no más de 10 minutos con agitación suave formando una solución límpida que puede estar coloreada.

Determinación del pH <250>

Entre 6,5 y 7,5.

Osmolalidad <640>

No debe ser menor de 240 mosmol/kg.

Proteínas totales

Diluir la preparación a examinar, si fuera necesario, con una solución de cloruro de sodio 9 g por litro para obtener una solución de aproximadamente 15 mg de proteína en 2 ml. Transferir 2,0 ml a un tubo de centrifuga de fondo redondo y agregar 2,0 ml de una solución de molibdato de sodio de 75 g por litro y 2,0 ml de una mezcla de agua y ácido sulfúrico libre de nitrógeno (30:1). Agitar, centrifugar durante 5 minutos, decantar el líquido sobrenadante y dejar escurrir el tubo invertido sobre papel de filtro. Determinar el contenido de nitrógeno en el residuo (ver 200. *Determinación de nitrógeno*) y calcular el contenido de proteínas multiplicando el resultado por 6,25.

Agua

Determinar el contenido de agua por *Titulación volumétrica directa* (ver 120. *Determinación de agua*) o según se indica en 680. *Pérdida por secado*. Debe cumplir con los requisitos establecidos por la autoridad sanitaria competente.

Factores de coagulación activados

Proceder según se indica en *Factores de coagulación activados* (ver 385. *Ensayos en hemoderivados*). Diluir la preparación en ensayo, si fuera necesario, para obtener una concentración de 20 UI de factor IX por mililitro. El tiempo de coagulación para cada dilución no debe ser menor a 150 segundos.

Determinación de heparina

En caso de que se haya agregado heparina durante la elaboración, se debe determinar la cantidad presente de heparina procediendo según se indica en *Valoración de heparina en factores de*

coagulación (ver 385. *Ensayos en hemoderivados*). La preparación en ensayo no debe contener más de la cantidad de heparina indicada en el rótulo y en ningún caso más de 0,5 UI de heparina por UI de factor IX.

Trombina

Si la preparación en ensayo contiene heparina, determinar la cantidad presente según se indica en *Determinación de heparina* y neutralizar la cantidad presente por adición, por ejemplo de sulfato de protamina (10 µg de sulfato de protamina neutraliza 1 UI de heparina). En cada uno de dos tubos de ensayo, mezclar volúmenes iguales de la preparación reconstituida y de una solución 3 g por litro de fibrinógeno. Mantener uno de los tubos a 37 °C durante 6 horas y el otro a temperatura ambiente durante 24 horas. En un tercer tubo, mezclar un volumen de solución de fibrinógeno con un volumen igual de una solución de trombina humana (1 UI por ml) y colocarlo en un baño de agua a 37 °C. No se debe producir coagulación en los tubos que contienen la preparación en ensayo. El tubo que contiene trombina debe coagular antes de 30 segundos.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de piretógenos <340>

Debe cumplir con los requisitos. Inyectar a cada conejo un volumen de la preparación reconstituida según se indica en el rótulo, equivalente a no menos de 30 UI de factor IX por kilogramo de peso corporal.

VALORACIÓN

PARA FACTOR II

Proceder según se indica en *Valoración del Factor II de coagulación sanguínea* (ver 385. *Ensayos en hemoderivados*). La potencia estimada no debe ser menor de 80 % ni mayor de 125 % de la potencia declarada. Los límites de confianza del error ($P = 0,95$) de la potencia estimada no debe ser menor de 90 % ni mayor de 111 % de la potencia estimada.

PARA FACTOR VII

Si el rótulo indica que la preparación contiene Factor VII, proceder según se indica en *Valoración del Factor VII de coagulación sanguínea* (ver 385. *Ensayos en hemoderivados*). La potencia estimada no debe ser menor de 80 % ni mayor de 125 % en base a la cantidad declarada. Los límites de confianza del error ($P = 0,95$) de la potencia estimada no debe ser menor de 80 % ni mayor que 125 % de la potencia estimada.

PARA FACTOR X

Proceder según se indica en *Valoración del Factor X de coagulación sanguínea* (ver 385. *Ensayos en hemoderivados*). La potencia estimada no debe ser menor de 80 % ni mayor de 125 % de la potencia declarada. Los límites de confianza del error ($P = 0,95$) de la potencia estimada no debe ser menor de 90 % ni mayor de 111 % de la potencia estimada.

PARA FACTOR IX

Proceder según se indica en *Valoración del Factor IX de coagulación sanguínea* (ver 385. *Ensayos en hemoderivados*). La potencia estimada no debe ser menor de 80 % ni mayor de 125 % en base a la cantidad declarada. Los límites de confianza del error ($P = 0,95$) de la potencia estimada no debe ser menor de 80 % ni mayor que 125 % de la potencia estimada.

ROTULADO

Indicar en el rótulo: el número de UI de factor IX, factor II y factor X por envase; cuando corresponda, el número de UI de factor VII; si la preparación contiene proteína C y/o proteína S, la cantidad de proteína; nombre y cantidad de cualquier sustancia agregada incluyendo heparina cuando corresponda; nombre y volumen del líquido a ser usado para la reconstitución. En el rótulo debe figurar la siguiente leyenda: “*La transmisión de agentes infecciosos no puede ser totalmente excluida cuando se administran productos preparados a partir de sangre o plasma humanos*”.

FACTOR VII DE COAGULACIÓN HUMANO LIOFILIZADO

Definición - El Factor VII de Coagulación Humano es una fracción de proteínas plasmáticas que contiene factor VII (glicoproteína de cadena simple) y puede contener pequeñas cantidades de la forma activada: factor VIIa derivada de doble cadena. Pueden también estar presentes otros factores de coagulación: II, IX y X, proteína C y proteína S. Se obtiene a partir de plasma que debe cumplir los requisitos en *Plasma Humano para Fraccionamiento*. La potencia de la preparación, reconstituida según se indica en el rótulo, no debe ser menor de 15 UI de factor VII por mililitro

Caracteres generales - Polvo o masa sólida friable, blanco, amarillo pálido, verde o azul.

PRODUCCIÓN

El método de producción debe estar diseñado de forma de minimizar la activación de cualquier factor de coagulación (para minimizar la trombogenicidad potencial) y debe incluir uno o varios pasos que hayan demostrado eliminar o inactivar agentes infecciosos conocidos. Si se utilizan sustancias para inactivación de virus durante la producción deberá validarse el procedimiento posterior de purificación para demostrar que la concentración de estas sustancias se reduce a niveles apropiados y que cualquier residuo presente no compromete la inocuidad de la preparación para los pacientes.

La actividad específica antes del agregado de cualquier proteína estabilizante, no debe ser menor de 2 UI de factor VII por miligramo de proteína total.

La fracción factor VII se disuelve en un líquido apropiado. Puede agregarse heparina, antitrombina u otras sustancias auxiliares tales como estabilizadores. No se deben agregar conservantes antimicrobianos. La solución se filtra a través de una membrana capaz de retener bacterias, se distribuye asépticamente en el envase final y se congela inmediatamente. Posteriormente se liofiliza y los envases se cierran al vacío o bajo atmósfera de gas inerte.

Consistencia del método de producción

Debe demostrarse la consistencia del método de producción con respecto a las actividades de los factores II, IX y X de la preparación, expresadas en UI relativas a la actividad del factor VII.

También debe demostrarse la consistencia del método de producción con respecto a la actividad del factor VIIa. La actividad del factor VIIa puede ser determinada, por ejemplo, utilizando un factor tisular soluble recombinante que no active el factor VII pero que posea una función de cofactor específico para el factor VIIa. Después de la incubación de una mezcla del factor tisular soluble recombinante con reactivo de fosfolípidos y la dilución de la preparación en ensayo en un plasma deficiente en factor VII, agregar cloruro de calcio y determinar el tiempo de coagulación: el tiempo de coagulación es inversamente proporcional a la actividad del factor VIIa.

CONSERVACIÓN

En envases herméticos protegido de la luz.

[NOTA: reconstituir la preparación según se indica en el rótulo inmediatamente antes de realizar los *Ensayos*, excepto *Solubilidad* y *Agua*, y la *Valoración*.]

ENSAYOS

Identificación

Debe cumplir con los requisitos según se indica en *Valoración*.

Solubilidad

Al contenido de un envase, agregar el volumen de solvente indicado en el rótulo a la temperatura recomendada. La preparación debe disolverse completamente en no más de 10 minutos con agitación suave formando una solución incolora, límpida o ligeramente opalescente.

Determinación del pH <250>

Entre 6,5 y 7,5.

Osmolalidad <640>

No debe ser menor de 240 mosmol/kg.

Proteínas totales

Diluir la preparación a examinar, si fuera necesario, con una solución de cloruro de sodio 9 g por litro para obtener una solución de aproximadamente 15 mg de proteína en 2 ml. Transferir 2,0 ml a un tubo de centrifuga de fondo redondo y agregar 2,0 ml de una solución de molibdato de sodio 75 g por litro y 2,0 ml de una mezcla de agua y ácido sulfúrico libre de nitrógeno (30:1). Agitar, centrifugar durante 5 minutos, decantar el sobrenadante líquido y dejar escurrir el tubo invertido sobre un papel de filtro. Determinar el contenido de nitrógeno en el residuo (ver 200. *Determinación de nitrógeno*) y calcular el contenido de proteínas multiplicando el resultado por 6,25.

Agua

Determinar el contenido de agua por *Titulación volumétrica directa* (ver 120. *Determinación de agua*) o según se indica en 680. *Pérdida por secado*. Debe cumplir con los requisitos establecidos por la autoridad sanitaria competente.

Factores de coagulación activados.

Proceder según se indica en *Factores de coagulación activados* (ver 385. *Ensayos en hemoderivados*). Para cada una de las diluciones, el tiempo de coagulación no debe ser menor a 150 segundos.

Determinación de heparina

En caso de que se haya agregado heparina durante la elaboración, se debe determinar la cantidad presente procediendo según se indica en *Valoración de heparina en factores de coagulación* (ver 385. *Ensayos en hemoderivados*). La preparación en ensayo no debe contener más de la cantidad de heparina indicada en el rótulo y en ningún caso más de 0,5 UI de heparina por UI de factor VII.

Trombina

Si la preparación en ensayo contiene heparina, determinar la cantidad presente según se indica en *Determinación de heparina* y neutralizar la cantidad presente por adición, por ejemplo de sulfato de protamina (10 µg de sulfato de protamina neutraliza 1 UI de heparina). En cada uno de dos tubos de ensayo, mezclar volúmenes iguales de la preparación reconstituida y de una solución 3 g por litro de fibrinógeno. Mantener uno de los tubos a 37 °C durante 6 horas y el otro a temperatura ambiente durante 24 horas. En un tercer tubo, mezclar un volumen de solución de fibrinógeno con un volumen igual de una solución de trombina humana (1 UI por ml) y colocarlo en un baño de agua a 37 °C. No se debe producir coagulación en los tubos que contienen la preparación en ensayo. El tubo que contiene trombina debe coagular antes de 30 segundos.

Factor II

Proceder según se indica en *Valoración del Factor II de coagulación sanguínea* (ver 385. *Ensayos en hemoderivados*). La potencia estimada no debe ser mayor de 125 % de la potencia declarada. Los límites de confianza del error ($P = 0,95$) de la potencia estimada no debe ser menor de 90 % ni mayor de 111 % de la potencia estimada.

Factor IX

Proceder según se indica en *Valoración del Factor IX de coagulación sanguínea* (ver 385. *Ensayos en hemoderivados*). La potencia estimada no debe ser mayor de 125 % en base a la cantidad declarada. Los límites de confianza del error ($P = 0,95$) de la potencia estimada no debe ser menor de 80 % ni mayor que 125 % de la potencia estimada.

Factor X

Proceder según se indica en *Valoración del Factor IX de coagulación sanguínea* (ver 385. *Ensayos en hemoderivados*). La potencia estimada es no mayor a 125 % en base a la cantidad declarada. Los límites de confianza del error ($P = 0,95$) de la potencia estimada no debe ser menor que 90% ni mayor que 111% de la potencia estimada.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de piretógenos <340>

Debe cumplir con los requisitos. Inyectar a cada conejo un volumen de la preparación reconstituida equivalente a no menos de 30 UI de factor VII por kilogramo de peso corporal.

VALORACIÓN

Proceder según se indica en *Valoración del Factor VII de coagulación sanguínea* (ver 385. *Ensayos en hemoderivados*). La potencia estimada no debe ser menor de 80 % ni mayor de 125 % de la potencia declarada. Los límites de confianza del error ($P = 0,95$) de la potencia estimada no debe ser menor de 80 % ni mayor de 125 % de la potencia estimada.

ROTULADO

Indicar en el rótulo: el número de UI de factor VII por envase; el contenido máximo de UI de factor II, factor IX y factor X por envase; la cantidad de proteína contenida en el envase; nombre y cantidad de cualquier sustancia agregada incluyendo heparina cuando corresponda; nombre y volumen del líquido a ser usado para la reconstitución. En el rótulo debe figurar la siguiente leyenda: “*La transmisión de agentes infecciosos no puede ser totalmente excluida cuando se administran productos preparados a partir de sangre o plasma humanos*”.

FACTOR VIII DE COAGULACION HUMANO

Definición - El Factor VIII de Coagulación Humano es una fracción de proteínas plasmáticas que contiene factor VIII (glicoproteína de la coagulación), junto con cantidades variables de factor de von Willebrand, dependiendo del método de preparación. Se obtiene a partir de plasma que debe cumplir los requisitos en *Plasma Humano para Fraccionamiento*. La potencia de la preparación, reconstituida según se indica en el rótulo, debe no ser menor a 20 UI de factor VIII:C por mililitro.

Caracteres generales - Polvo higroscópico o masa sólida friable, blanca o amarillo pálido.

PRODUCCIÓN

El método de preparación debe incluir uno o varios pasos que hayan demostrado eliminar o inactivar agentes infecciosos conocidos. Si se utilizan sustancias para inactivación de virus durante la producción, deberá validarse el procedimiento posterior de purificación para demostrar que la concentración de estas sustancias se reduce a niveles apropiados y que cualquier residuo presente no compromete la inocuidad de la preparación para los pacientes.

La actividad específica antes del agregado de cualquier proteína estabilizante, no debe ser menor a 1 UI de factor VIII:C por miligramo de proteína total.

La fracción de factor VIII se disuelve en un líquido apropiado. Pueden agregarse sustancias auxiliares tales como estabilizadores. No se deben agregar conservantes antimicrobianos. La solución se filtra a través de una membrana capaz de retener bacterias, se distribuye asépticamente en el envase final y se congela inmediatamente. Posteriormente se liofiliza y los envases se cierran con vacío o bajo atmósfera de gas inerte.

Ensayo de validación aplicable a productos que contienen actividad de factor von Willebrand

Para productos indicados para el tratamiento de enfermedad de von Willebrand deberá demostrarse que el proceso de fabricación produce un producto con una composición consistente con respecto al factor de von Willebrand. Esta composición puede ser caracterizada de varias formas. Por ejemplo, puede determinarse el número y la cantidad relativa de los diferentes multímeros por electroforesis en gel de agarosa (1 % de agarosa) con dodecil sulfato

de sodio (SDS) con o sin análisis por Western blot sobre nitrocelulosa, utilizando una mezcla de plasma humano normal como referencia; la visualización del patrón multimérico puede realizarse por una técnica inmunoenzimática y la evaluación cuantitativa puede realizarse por análisis densitométrico u otro método adecuado.

Ensayo de validación aplicable a productos que presentan partículas en suspensión al ser reconstituidos

Si después de la reconstitución del liofilizado, aparecen partículas, se debe demostrar que la potencia no se ve significativamente afectada después del pasaje de la preparación a través de los filtros que se encuentran en el material para la administración provisto junto con el producto.

CONSERVACIÓN

En envases herméticos protegido de la luz.

[NOTA: reconstituir la preparación según se indica en el rótulo inmediatamente antes de realizar los *Ensayos*, excepto *Solubilidad* y *Agua*, y la *Valoración*.]

ENSAYOS

Identificación

Debe cumplir con los requisitos según se indica en *Valoración de factor VIII* y, cuando corresponda en *Valoración de factor de von Willebrand*.

Solubilidad

Al contenido de un envase, agregar el volumen de solvente indicado en el rótulo a la temperatura recomendada. La preparación debe disolverse completamente en no más de 10 minutos con agitación suave formando una solución límpida o ligeramente opalescente, incolora o ligeramente amarillenta. Si en el rótulo se indica que pueden aparecer partículas en suspensión luego de la reconstitución, la solución debe filtrarse con el material provisto y la solución filtrada deberá ser clara, límpida o ligeramente opalescente

Determinación del pH <250>

Entre 6,5 y 7,5.

Osmolalidad <640>

No debe ser menor de 240 mosmol/kg.

Proteínas totales

Diluir la preparación a examinar, si fuera necesario, con una solución de cloruro de sodio 9 g por litro para obtener una solución de aproximadamente 15 mg de proteína en 2 ml. Transferir 2,0 ml a un tubo de centrifuga de fondo redondo y agregar 2,0 ml de una solución de molibdato de sodio 75 g por litro y 2,0 ml de una

mezcla de agua y ácido sulfúrico libre de nitrógeno (30:1). Agitar, centrifugar durante 5 minutos, decantar el sobrenadante líquido y dejar escurrir el tubo invertido sobre un papel de filtro. Determinar el contenido de nitrógeno en el residuo (ver 200. *Determinación de nitrógeno*) y calcular el contenido de proteínas multiplicando el resultado por 6,25.

Hemaglutininas anti-A y anti-B

Diluir la preparación en ensayo con una solución 9 g por litro de cloruro de sodio hasta una concentración de 3 UI de factor VIII:C por mililitro. Preparar por duplicado diluciones en serie de la preparación en ensayo en una solución de cloruro de sodio 9 g por litro. Agregar a cada dilución de una serie un volumen igual de una suspensión al 5 % v/v de eritrocitos del grupo A₁, previamente lavados tres veces con la solución de cloruro de sodio. Agregar a cada dilución de la otra serie un volumen igual de una suspensión al 5 % v/v de eritrocitos del grupo B, previamente lavados tres veces con la solución de cloruro de sodio. Incubar las suspensiones a 37 °C durante 30 minutos y luego lavar las células tres veces con la solución de cloruro de sodio. Dejar las células en contacto con un reactivo de globulina polivalente antihumana durante 30 minutos. Examinar al microscopio cada suspensión sin centrifugar, para detectar aglutinación. La dilución 1:64 no debe presentar aglutinación.

Antígeno de superficie de Virus de Hepatitis B

Examinar la preparación reconstituida mediante un método de sensibilidad apropiada, tal como un ensayo inmunoensayo (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*). No debe detectarse antígeno de superficie de hepatitis B.

Agua

Determinar el contenido de agua por *Titulación volumétrica directa* (ver 120. *Determinación de agua*) o según se indica en 680. *Pérdida por secado*. Debe cumplir con los requisitos establecidos por la autoridad sanitaria competente.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de pirogenos <340>

Debe cumplir con los requisitos. Inyectar a cada conejo un volumen de la preparación reconstituida equivalente a no menos de 50 UI de factor VIII:C por kilogramo de peso corporal.

VALORACIÓN DE FACTOR VIII

Proceder según se indica en *Valoración del Factor VIII de coagulación sanguínea* (ver 385. *Ensayos en hemoderivados*). La potencia estimada no debe del 80 % ni mayor del 120 % de la potencia declarada. Los límites de confianza del error ($P = 0,95$) de la potencia estimada no debe ser menor de 80 % ni mayor que 120 % de la potencia estimada.

VALORACIÓN DE FACTOR DE VON WILLEBRAND

Proceder según se indica en *Valoración del Factor de von Willebrand* (ver 385. *Ensayos en hemoderivados*), para productos indicados para el tratamiento de enfermedad de von Willebrand. La potencia estimada no debe del 60 % ni mayor del 140 % de la potencia declarada.

ROTULADO

Indicar en el rótulo: el número de UI de factor VIII:C y, cuando corresponda, de factor de von Willebrand en el envase; la cantidad de proteína contenida en el envase; nombre y cantidad de cualquier sustancia agregada; nombre y volumen del líquido a ser usado para la reconstitución; cuando corresponda, que la preparación puede presentar pequeñas partículas después de la reconstitución. En el rótulo debe figurar la siguiente leyenda: "*La transmisión de agentes infecciosos no puede ser totalmente excluida cuando se administran productos preparados a partir de sangre o plasma humanos*".

FACTOR IX DE COAGULACION HUMANO

Definición - El Factor IX de Coagulación Humano es una fracción de proteínas plasmáticas que contiene factor IX de coagulación preparado por un método que separe efectivamente el factor IX de los factores de coagulación del *Complejo Protrombínico Humano* (factor II, factor VII, y factor X). Se obtiene a partir de plasma que debe cumplir los requisitos en *Plasma Humano para Fraccionamiento*. La potencia de la preparación, reconstituida según se indica en el rótulo, no debe ser menor de 20 UI de factor IX por mililitro.

Caracteres generales - Polvo higroscópico o masa sólida friable, blanco o amarillo pálido.

PRODUCCIÓN

El método de producción debe estar diseñado para mantener la integridad funcional del factor IX, minimizar la activación de cualquier factor de coagulación (para minimizar la trombogenicidad potencial) y debe incluir uno o varios pasos que hayan demostrado eliminar o inactivar agentes infecciosos conocidos. Si se utilizan sustancias para inactivación de virus durante la producción, deberá validarse el procedimiento posterior de purificación para demostrar que la concentración de estas sustancias se reduce a niveles apropiados y que cualquier residuo presente no compromete la seguridad de la preparación para los pacientes.

La actividad específica antes del agregado de cualquier proteína estabilizante, debe ser no menor de 50 UI de factor IX por miligramo de proteína total.

La fracción de factor IX se disuelve en un líquido apropiado. Puede agregarse heparina, antitrombina y otras sustancias auxiliares tales como estabilizadores. No se deben agregar conservantes antimicrobianos. La solución se filtra a través de una membrana capaz de retener bacterias, se distribuye asépticamente en el envase final y se congela inmediatamente. Posteriormente se liofiliza y los envases se cierran con vacío o bajo atmósfera de gas inerte.

Consistencia del método de producción

La consistencia del método de producción se evalúa por procedimientos analíticos apropiados que son determinados durante el desarrollo del producto y que normalmente incluyen:

- Valoración del factor IX
- Determinación de factores de la coagulación activados

- Determinación de la actividad de factores II, VII y X las cuales no deberán ser mayores al 5 % de la actividad del factor IX.

CONSERVACIÓN

En envases herméticos protegido de la luz.

[NOTA: reconstituir la preparación según se indica en el rótulo inmediatamente antes de realizar los *Ensayos*, excepto *Solubilidad* y *Agua*, y la *Valoración*.]

ENSAYOS

Identificación

Debe cumplir con los requisitos según se indica en *Valoración*.

Solubilidad

Al contenido de un envase, agregar el volumen de solvente indicado en el rótulo a la temperatura recomendada. La preparación debe disolverse completamente en no más de 10 minutos con agitación suave formando una solución incolora, límpida o ligeramente opalescente.

Determinación del pH <250>

Entre 6,5 y 7,5.

Osmolalidad <640>

No debe ser menor de 240 mosmol/kg.

Proteínas totales

Diluir la preparación a examinar, si fuera necesario, con una solución de cloruro de sodio 9 g por litro para obtener una solución de aproximadamente 15 mg de proteína en 2 ml. Transferir 2,0 ml a un tubo de centrifuga de fondo redondo y agregar 2,0 ml de una solución de molibdato de sodio 75 g por litro y 2,0 ml de una mezcla de agua y ácido sulfúrico libre de nitrógeno (30:1). Agitar, centrifugar durante 5 minutos, decantar el sobrenadante líquido y dejar escurrir el tubo invertido sobre un papel de filtro. Determinar el contenido de nitrógeno en el residuo (ver 200. *Determinación de nitrógeno*) y calcular el contenido de proteínas multiplicando el resultado por 6,25. [NOTA: para algunos productos, especialmente aquellos a los que no se les ha agregado una proteína estabilizante como la albúmina, este método puede no ser aplicable y deberá llevarse a cabo otro método validado para la determinación de proteínas.]

Agua

Determinar el contenido de agua por *Titulación volumétrica directa* (ver 120. *Determinación de agua*) o según se indica en 680. *Pérdida por*

secado. Debe cumplir con los requisitos establecidos por la autoridad sanitaria competente.

Factores de coagulación activados

Proceder según se indica en *Factores de coagulación activados* (ver 385. *Ensayos en hemoderivados*). Si fuera necesario, diluir la preparación a ser examinada hasta una concentración de 20 UI de factor IX por mililitro. El tiempo de coagulación para cada dilución no debe ser menor a 150 segundos.

Determinación de heparina

En caso de que se haya agregado heparina durante la elaboración, se debe determinar la cantidad presente procediendo según se indica en *Valoración de heparina en factores de coagulación* (ver 385. *Ensayos en hemoderivados*). La preparación en ensayo no debe contener más de la cantidad de heparina indicada en el rótulo y en ningún caso más de 0,5 UI de heparina por UI de factor IX.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de pirogénos <340>

Debe cumplir con los requisitos. Inyectar a cada conejo un volumen de la preparación reconstituida equivalente a no menos de 50 UI de factor IX por kilogramo de peso corporal.

VALORACIÓN

Proceder según se indica en *Valoración del Factor IX de coagulación sanguínea* (ver 385. *Ensayos en hemoderivados*). La potencia estimada no debe ser menor de 80 % ni mayor de 125 % en base a la cantidad declarada. Los límites de confianza del error ($P = 0,95$) de la potencia estimada no debe ser menor de 80 % ni mayor que 125 % de la potencia estimada.

ROTULADO

Indicar en el rótulo: el número de UI de Factor IX por envase; la cantidad de proteína contenida en el envase; nombre y cantidad de cualquier sustancia agregada incluyendo cuando corresponda, heparina; nombre y volumen del líquido a ser usado para la reconstitución. En el rótulo debe figurar la siguiente leyenda: “*La transmisión de agentes infecciosos no puede ser totalmente excluida cuando se administran productos preparados a partir de sangre o plasma humanos*”.

INMUNOGLOBULINA HUMANA ANTI-HEPATITIS B

Definición - La Inmunoglobulina Humana Anti-hepatitis B es una preparación líquida o liofilizada, que contiene inmunoglobulinas, principalmente inmunoglobulina G (IgG). La preparación está destinada a la administración por vía intramuscular. Se obtiene a partir del plasma procedente de donantes seleccionados que poseen anticuerpos contra el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B. Puede agregarse *Inmunoglobulina Humana Normal*.

PRODUCCIÓN

Debe cumplir los requisitos según se indica en *Inmunoglobulina humana normal*, excepto en lo indicado al número mínimo de donantes.

CONSERVACIÓN

Para preparaciones líquidas, en envases de vidrio incoloro protegido de la luz.

Para preparaciones liofilizadas, en envases herméticos, de vidrio incoloro protegido de la luz.

ENSAYOS

Debe cumplir los requisitos según se indica en *Inmunoglobulina humana normal*, excepto en lo indicado para el contenido mínimo de *Proteínas totales*

VALORACIÓN

Determinar la potencia por comparación del título de anticuerpos de la inmunoglobulina en ensayo contra una Preparación Patrón Internacional, calibrada en UI, mediante un inmunoensayo de sensibilidad y especificidad adecuadas (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*). La Unidad Internacional es la actividad contenida en una determinada cantidad de la Preparación de Referencia Internacional de inmunoglobulina anti-hepatitis B. La equivalencia en UI de la Preparación Patrón Internacional es establecida por la Organización Mundial de la Salud. La potencia declarada no debe ser menor de 100 UI por ml. La potencia estimada no debe ser menor que la potencia declarada. Los límites de confianza de la potencia estimada ($P = 0,95$) no deben ser menor de 80 % ni mayor de 125 %.

ROTULADO

Indicar en el rótulo:

- Para preparaciones líquidas, el volumen de la preparación contenido en el envase y el contenido en proteína expresado en gramos por litro;

- Para preparaciones liofilizadas, la cantidad de proteína contenida en el envase, el nombre o composición y el volumen de líquido reconstituyente.

Indicar en el rótulo, la vía de administración y el número de Unidades Internacionales contenidas en el envase.

INMUNOGLOBULINA HUMANA ANTI-HEPATITIS B PARA ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA

Definición - La Inmunoglobulina Humana Anti-hepatitis B para Administración Intravenosa es una preparación líquida o liofilizada. Debe contener inmunoglobulinas, principalmente inmunoglobulina G (IgG). Se obtiene a partir del plasma procedente de donantes seleccionados que poseen anticuerpos contra el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B. Puede agregarse *Inmunoglobulina Humana Normal para Administración Intravenosa*.

PRODUCCIÓN

Debe cumplir los requisitos según se indica en *Inmunoglobulina Humana Normal para Administración Intravenosa*, excepto en lo indicado al número mínimo de donantes.

CONSERVACIÓN

Para preparaciones líquidas, en envases de vidrio incoloro protegido de la luz a la temperatura indicada en el rótulo.

Para preparaciones liofilizadas, en envases de vidrio incoloro protegido de la luz a una temperatura que no exceda los 25 °C.

ENSAYOS

Debe cumplir los requisitos según se indica en *Inmunoglobulina Humana Normal para Administración Intravenosa*, excepto en lo indicado para el contenido mínimo de *Proteínas totales* y *Osmolalidad*.

POTENCIA

Determinar la potencia por comparación del título de anticuerpos de la inmunoglobulina en ensayo contra una Preparación Patrón Internacional, calibrada en UI, mediante un inmunoensayo de sensibilidad y especificidad adecuadas (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*). La Unidad Internacional es la actividad contenida en una determinada cantidad de la Preparación de Referencia Internacional de inmunoglobulina anti-hepatitis B. La equivalencia en UI de la Preparación Patrón Internacional es establecida por la Organización Mundial de la Salud. La potencia declarada no debe ser menor de 50 UI por ml. La potencia estimada no debe ser menor que la

potencia declarada. Los límites de confianza de la potencia estimada ($P = 0,95$) no debe ser menor de 80,0 % ni mayor de 125,0 %.

ROTULADO

Indicar en el rótulo:

- Para preparaciones líquidas, el volumen de la preparación contenido en el envase y el contenido en proteína expresado en gramos por litro;

- Para preparaciones liofilizadas, la cantidad de proteína contenida en el envase, el nombre o composición y el volumen de líquido reconstituyente.

Indicar en el rótulo, la cantidad de inmunoglobulina, el número de Unidades Internacionales contenida en el envase y la vía de administración. Cuando corresponda, indicar la cantidad de albúmina agregada como estabilizante.

INMUNOGLOBULINA HUMANA NORMAL

Definición - La Inmunoglobulina Humana Normal es una preparación líquida o liofilizada que contiene inmunoglobulinas, principalmente inmunoglobulina G (IgG); pueden estar presentes otras proteínas. La Inmunoglobulina Humana Normal contiene anticuerpos IgG de personas sanas. Está destinada a la administración por vía intramuscular. Se obtiene a partir de plasma que debe cumplir los requisitos en *Plasma Humano para Fraccionamiento*. No se deben agregar antibióticos al plasma utilizado.

Caracteres generales - La preparación líquida es límpida y de color amarillo pálido a pardo claro; durante su conservación puede aparecer una ligera turbidez o una pequeña cantidad de partículas. La preparación liofilizada es un polvo o una masa sólida friable, higroscópico, blanco o ligeramente amarillento.

Sustancias de referencia - Inmunoglobulina Humana para Electroforesis SA-FA. Inmunoglobulina Humana SR-FA.

PRODUCCIÓN

El método de producción debe incluir uno o varios métodos validados de eliminación o inactivación de agentes infecciosos conocidos. Si se utilizan sustancias para la inactivación de virus, debe haberse demostrado que ningún residuo de las mismas presente en el producto final causa efectos adversos en los pacientes tratados con la inmunoglobulina.

Se debe haber demostrado mediante ensayos apropiados en animales y evaluación durante los ensayos clínicos, que el producto es bien tolerado cuando se administra por vía intramuscular.

La Inmunoglobulina Humana Normal se prepara a partir de una mezcla del material recolectado como mínimo de 1.000 donantes, por un método que haya demostrado obtener un producto que:

- no transmite infecciones;
- a una concentración proteica de 160 g por litro contiene al menos dos anticuerpos (uno antiviral y uno antibacteriano) para los cuales existe un Patrón Internacional o una Preparación de Referencia, siendo la concentración de dichos anticuerpos al menos diez veces superior a la concentración de los mismos en la mezcla inicial.

La Inmunoglobulina Humana Normal se prepara como una solución estabilizada, por ejemplo en una

solución de cloruro de sodio 9 g por litro, en una solución de glicina 22,5 g por litro, o, si la preparación va a ser liofilizada, en solución de glicina 60 g por litro.

Las preparaciones multidosis contienen un conservante antimicrobiano. Se debe haber demostrado para cualquier conservante antimicrobiano o estabilizante empleado que, a la concentración empleada, no produce efectos indeseables en el producto final. La solución se debe filtrar a través de una membrana capaz de retener bacterias. La preparación puede ser posteriormente liofilizada y los envases cerrados bajo vacío o atmósfera de gas inerte.

La estabilidad de la preparación deberá haber sido demostrada mediante pruebas llevadas a cabo durante el desarrollo del producto.

CONSERVACIÓN

Para preparaciones líquidas, en envases de vidrio incoloro protegido de la luz.

Para preparaciones liofilizadas, en envases herméticos, de vidrio incoloro protegido de la luz.

[NOTA: reconstituir las preparaciones liofilizadas según se indica en el rótulo inmediatamente antes de realizar los *Ensayos*, excepto *Solubilidad* y *Agua*.]

ENSAYOS

Identificación

Examinar la preparación mediante una técnica apropiada de inmunoelectroforesis (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*). Comparar el suero humano normal con la preparación en ensayo, ambos diluidos hasta una concentración de 10 g por litro de proteína, utilizando un antisuero contra suero humano normal. El componente principal de la preparación en ensayo debe tener la misma movilidad que el componente IgG del suero humano normal. La preparación puede contener pequeñas cantidades de otras proteínas plasmáticas.

Solubilidad

Para las preparaciones liofilizadas agregar el volumen del líquido indicado en el rótulo. La preparación debe disolverse por completo en un máximo de 20 minutos a una temperatura entre 20 y 25° C.

Determinación del pH <250>

Entre 5,0 y 7,2. Diluir la preparación en ensayo con una solución de cloruro de sodio 9 g por litro hasta una concentración de 10 g por litro de proteínas.

Proteínas totales

Diluir la preparación a examinar, si fuera necesario, con una solución de cloruro de sodio 9 g por litro para obtener una solución de aproximadamente 15 mg de proteína en 2 ml. Transferir 2,0 ml a un tubo de centrifuga de fondo redondo y agregar 2,0 ml de una solución de molibdato de sodio 75 g por litro y 2,0 ml de una mezcla de agua y ácido sulfúrico libre de nitrógeno (30:1). Agitar, centrifugar durante 5 minutos, decantar el sobrenadante líquido y dejar escurrir el tubo invertido sobre un papel de filtro. Determinar el contenido de nitrógeno en el residuo (ver 200. *Determinación de nitrógeno*) y calcular el contenido de proteínas multiplicando el resultado por 6,25. [NOTA: si el producto contiene un estabilizante cuya molécula contiene nitrógeno, puede utilizarse otro método alternativo validado para determinación de proteínas.] La preparación debe contener no menos de 100 g por litro y no más de 180 g por litro de proteínas y no menos del 90 % ni más del 110 % por ciento de la cantidad declarada en el rótulo.

Agua

Determinar el contenido de agua por *Titulación volumétrica directa* (ver 120. *Determinación de agua*) o según se indica 680. *Pérdida por secado*. Debe cumplir con los requisitos establecidos por la autoridad sanitaria competente.

Composición en proteínas

Examinar por electroforesis de zona (ver 300. *Electroforesis*), utilizando como soporte tiras de gel de acetato de celulosa y como solución de electrolitos una solución reguladora barbital pH 8,6 (ver *Soluciones reguladoras* en *Reactivos y Soluciones*).

Solución muestra - Diluir la preparación en ensayo con una solución de cloruro de sodio 9 g por litro hasta una concentración de proteínas de 50 g por litro.

Solución estándar - Reconstituir Inmunoglobulina Humana para Electroforesis SA-FA y diluir con una solución de cloruro de sodio 9 g por litro hasta una concentración de proteínas de 50 g por litro.

Procedimiento - Aplicar sobre una tira 2,5 µl de la *Solución muestra* en una banda de 10 mm, o bien aplicar 0,25 µl por milímetro si se emplea una tira más estrecha. En otra tira, aplicar en las mismas condiciones, un volumen igual de *Solución estándar*. Aplicar un campo eléctrico tal que el compuesto que se desplace más rápidamente migre al menos 30 mm. Tratar las tiras con solución de negro amido 10B durante 5 minutos y luego

decolorar con una mezcla de metanol y ácido acético glacial (90:10), hasta que el fondo de las tiras esté libre de color. Tratar las tiras con una mezcla de metanol y ácido acético glacial (81:19). Medir la absorbancia de las bandas a 600 nm mediante un instrumento capaz de dar a esta longitud de onda una respuesta lineal para el intervalo de medida. Calcular el resultado como un promedio de tres medidas de cada tira. El ensayo sólo es válido si en el electroforetograma obtenido con la *Solución estándar*, la proporción de proteínas contenidas en la banda principal está dentro de los límites que se especifican para la sustancia de referencia. En el electroforetograma obtenido con la *Solución muestra*, no más de 10 % de las proteínas tienen una movilidad distinta de la de la banda principal.

Distribución del tamaño molecular

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 60 cm × 7,5 mm o 30 cm × 7,8 mm con fase estacionaria constituida por gel de sílice hidrofílico para cromatografía para fraccionamiento de proteínas globulares con masa molecular relativa en el rango de 10.000 a 500.000. El caudal debe ser aproximadamente 0,5 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver 4,873 g de fosfato dibásico de sodio, 1,741 g de fosfato monobásico de sodio, 11,688 g de cloruro de sodio y 50 mg de azida sódica en un litro de agua.

Solución muestra - Diluir la preparación en ensayo con una solución de cloruro de sodio 9 g por litro hasta una concentración apropiada al sistema cromatográfico que se vaya a utilizar.

Solución estándar - Diluir Inmunoglobulina Humana SR-FA con solución de cloruro de sodio 9 g por litro hasta la misma concentración proteica que la *Solución muestra*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (generalmente el volumen de inyección debe contener entre 50 a 600 µg de proteínas) de la *Solución muestra* y la *Solución estándar*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. En el cromatograma obtenido con la *Solución estándar*, el pico principal corresponde al monómero de IgG observándose otro pico correspondiente al dímero, cuyo tiempo de retención relativo es aproximadamente 0,85 a 0,90 veces el del monómero. Los picos observados en el cromatograma obtenido con la *Solución muestra* se identifican por comparación con los obtenidos en la *Solución estándar*. Cualquier pico con tiempo de

retención inferior al del dímero corresponde a polímeros y agregados. La preparación en ensayo cumple el ensayo si en el cromatograma de la *Solución muestra* los tiempos de retención del monómero y dímero con respecto a los de los picos correspondientes de la *Solución estándar* son de $1 \pm 0,02$; la suma de las áreas de los picos de monómero y dímero deben ser no menor al 85 % del área total del cromatograma y la suma de las áreas de los picos correspondientes a polímeros y agregados debe ser no mayor al 10 % del área total del cromatograma.

Anticuerpos contra Antígeno de superficie del virus de la hepatitis B

Examinar la preparación en ensayo mediante un método de sensibilidad y especificidad apropiada, tal como un ensayo inmunoenzimático (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*). Debe contener no menos de 0,5 UI por g de inmunoglobulina.

Anticuerpos frente al virus de la hepatitis A

[NOTA: realizar el siguiente ensayo sólo si el producto está indicado para la profilaxis de Hepatitis A.] Determinar mediante un ensayo de sensibilidad y especificidad adecuadas (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*), el contenido de anticuerpos contra el virus de la Hepatitis A por comparación con una preparación de referencia calibrada en Unidades Internacionales. La potencia declarada debe ser no menor a 100 UI por ml. La potencia estimada debe ser no menor que la potencia declarada. Los límites de confianza de la potencia estimada ($P = 0,95$) deben no ser menores del 80 % ni mayores del 125 %.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de pirogéneos <340>

Debe cumplir con los requisitos. Inyectar a cada conejo 1 ml de la preparación en ensayo por kilogramo de peso corporal.

ROTULADO

Indicar en el rótulo:

- Para preparaciones líquidas, el volumen de la preparación contenido en el envase y el contenido en proteína expresado en gramos por litro;
- Para preparaciones liofilizadas, la cantidad de proteína contenida en el envase, el nombre o composición y el volumen de líquido reconstituyente.

Indicar en el rótulo, la vía de administración.

Cuando corresponda, que la preparación es adecuada para su uso en la profilaxis de la infección

por virus de la hepatitis A; la actividad de los anticuerpos anti-hepatitis A en UI por mililitro y el nombre y la cantidad de conservante antimicrobiano presente en la preparación.

INMUNOGLOBULINA HUMANA NORMAL PARA ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSA

Definición - La Inmunoglobulina Humana Normal para Administración Intravenosa es una preparación líquida o liofilizada que contiene inmunoglobulinas, principalmente Inmunoglobulina G (IgG). Pueden estar presentes otras proteínas. La Inmunoglobulina Humana Normal para Administración Intravenosa contiene anticuerpos IgG de personas sanas.

La Inmunoglobulina Humana Normal para Administración Intravenosa se obtiene a partir de plasma que debe cumplir con los requisitos en *Plasma Humano para Fraccionamiento*. No se deben agregar antibióticos al plasma utilizado.

[NOTA: esta monografía no es aplicable a productos preparados con la intención de obtener fragmentos de inmunoglobulina o inmunoglobulina químicamente modificada.]

Caracteres generales - La preparación líquida es límpida o ligeramente opalescente, incolora o amarilla pálida. La preparación liofilizada es un polvo higroscópico blanco o masa sólida friable blanco o ligeramente amarillento.

Sustancias de referencia - Inmunoglobulina Humana para Electroforesis SA-FA. Inmunoglobulina Humana SR-FA.

PRODUCCIÓN

El método de producción debe incluir uno o varios métodos validados de eliminación o inactivación de agentes infecciosos conocidos. Si se emplean sustancias para la inactivación de virus, debe haberse demostrado que ningún residuo de las mismas presente en el producto final causa efectos adversos en los pacientes tratados con la inmunoglobulina.

Se debe haber demostrado mediante ensayos apropiados en animales y evaluación durante los ensayos clínicos que el producto es bien tolerado cuando se administra por vía intravenosa.

La Inmunoglobulina Humana Normal se prepara a partir de una mezcla del material recolectado como mínimo de 1.000 donantes, por un método que haya demostrado obtener un producto que:

- no transmite infecciones ;
- a una concentración proteica de 50 g por litro, contiene al menos dos anticuerpos (uno antiviral y uno antibacteriano) para los cuales existe

un Patrón Internacional o una Preparación de Referencia, siendo la concentración de dichos anticuerpos al menos tres veces superior a la concentración de los mismos en la mezcla inicial

- tiene una distribución definida de subclases de Inmunoglobulina G,
- cumple el ensayo de Función Fc de inmunoglobulina

La Inmunoglobulina Humana Normal para Administración Intravenosa se prepara como una solución estabilizada o como preparación liofilizada. Se puede agregar un estabilizante. En ambos casos la solución se debe filtrar a través de una membrana capaz de retener bacterias. No deben agregarse conservantes antimicrobianos durante el fraccionamiento ni en la etapa de preparación de la solución final a granel. La preparación puede ser liofilizada y los envases cerrados bajo vacío o atmósfera de gas inerte.

La estabilidad de la preparación debe haber sido demostrada mediante pruebas llevadas a cabo durante el desarrollo del producto.

CONSERVACIÓN

Para preparaciones líquidas, en envases de vidrio incoloro protegido de la luz a la temperatura indicada en el rótulo.

Para preparaciones liofilizadas, en envases herméticos, de vidrio incoloro protegido de la luz a una temperatura que no exceda los 25 °C.

[NOTA: reconstituir las preparaciones liofilizadas según se indica en el rótulo inmediatamente antes de realizar los *Ensayos*, excepto *Solubilidad* y *Agua*.]

ENSAYOS

Identificación

Examinar la preparación mediante una técnica apropiada de inmunoelectroforesis (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*). Comparar el suero humano normal con la preparación en ensayo, ambos diluidos hasta una concentración de 10 g por litro de proteína, utilizando un antisuero contra suero humano normal. El componente principal de la preparación a ser examinada debe tener la misma movilidad que el componente IgG del suero humano normal. La preparación puede contener pequeñas cantidades de otras proteínas plasmáticas. Si se ha agregado albúmina humana como estabilizador, ésta puede verse como el componente principal.

Solubilidad.

Para las preparaciones liofilizadas agregar el volumen del líquido indicado en el rótulo. La prepara-

ción debe disolverse por completo en un máximo de 30 minutos a una temperatura entre 20 y 25° C.

Determinación del pH <250>

Entre 4,0 y 7,4. Diluir la preparación en ensayo con una solución de cloruro de sodio 9 g por litro hasta una concentración de 10 g por litro de proteínas.

Osmolalidad <640>

No debe ser menor de 240 mosmol/kg.

Proteínas totales

Diluir la preparación a examinar, si fuera necesario, con una solución de cloruro de sodio 9 g por litro para obtener una solución de aproximadamente 15 mg de proteína en 2 ml. Transferir 2,0 ml a un tubo de centrifuga de fondo redondo y agregar 2,0 ml de una solución de molibdato de sodio 75 g por litro y 2,0 ml de una mezcla de agua y ácido sulfúrico libre de nitrógeno (30:1). Agitar, centrifugar durante 5 minutos, decantar el sobrenadante líquido y dejar escurrir el tubo invertido sobre un papel de filtro. Determinar el contenido de nitrógeno en el residuo (ver 200. *Determinación de nitrógeno*) y calcular el contenido de proteínas multiplicando el resultado por 6,25. [NOTA: si el producto contiene un estabilizante cuya molécula contiene nitrógeno, puede utilizarse otro método alternativo validado para determinación de proteínas.] La preparación debe contener no menos de 30 g por litro de proteína y no menos del 90 % ni más del 110 % de la cantidad declarada en el rótulo.

Agua

Determinar el contenido de agua por *Titulación volumétrica directa* (ver 120. *Determinación de agua*) o según se indica en 680. *Pérdida por secado*. Debe cumplir con los requisitos establecidos por la autoridad sanitaria competente.

Composición en proteínas

Examinar por electroforesis de zona (ver 300. *Electroforesis*), utilizando como soporte tiras de gel de acetato de celulosa y como solución de electrolitos una solución reguladora barbital pH 8,6 (ver *Soluciones reguladoras en Reactivos y Soluciones*).

Solución muestra - Diluir la preparación en ensayo con una solución de cloruro de sodio 9 g por litro hasta una concentración de proteínas de 30 g por litro.

Solución estándar - Reconstituir Inmunoglobulina Humana para Electroforesis SA-FA y diluir con una solución de cloruro de sodio 9 g por litro hasta una concentración de proteínas de 30 g por litro.

Procedimiento - Aplicar sobre una tira 4,0 µl de *Solución muestra* en una banda de 10 mm, o bien aplicar 0,4 µl por milímetro si se emplea una tira más estrecha. En otra tira, aplicar en las mismas

condiciones, un volumen igual de *Solución estándar*. Aplicar un campo eléctrico tal que el compuesto que se desplace más rápidamente migre al menos 30 mm. Tratar las tiras con solución de negro amido 10B durante 5 minutos y luego decolorar con una mezcla de metanol y ácido acético glacial (90:10), hasta que el fondo de las tiras esté libre de color. Tratar las tiras con una mezcla de metanol y ácido acético glacial (81:19). Medir la absorbancia de las bandas a 600 nm mediante un instrumento capaz de dar a esta longitud de onda una respuesta lineal para el intervalo de medida. Calcular el resultado como un promedio de tres medidas de cada tira. El ensayo sólo es válido si en el electroforetograma obtenido con la *Solución estándar*, la proporción de proteínas contenidas en la banda principal está dentro de los límites que se especifican para la sustancia de referencia. En el electroforetograma obtenido con la *Solución muestra*, no más de 5 % de las proteínas tienen una movilidad distinta de la de la banda principal. [NOTA: este límite no es aplicable si se ha agregado albúmina a la preparación como estabilizante; para estas preparaciones, se debe realizar el ensayo para *Composición de proteínas* durante la fabricación, antes de agregar el estabilizante.]

Distribución del tamaño molecular

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 60 cm × 7,5 mm o 30 cm × 7,8 mm con fase estacionaria constituida por gel de sílice hidrofílico para cromatografía para fraccionamiento de proteínas globulares con masa molecular relativa en el rango de 10.000 a 500.000. El caudal debe ser aproximadamente 0,5 ml por minuto.

Fase móvil - Disolver: 4,873 g de fosfato dibásico de sodio, 1,741 g de fosfato monobásico de sodio, 11,688 g de cloruro de sodio y 50 mg de azida sódica en un litro de agua.

Solución muestra - Diluir la preparación en ensayo con una solución de cloruro de sodio 9 g por litro hasta una concentración apropiada al sistema cromatográfico que se vaya a utilizar.

Solución estándar - Diluir Inmunoglobulina Humana SR-FA con una solución de cloruro de sodio 9 g por litro hasta la misma concentración que la *Solución muestra*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (generalmente el volumen de inyección debe contener entre 50 a 600 µg de proteínas) de la *Solución muestra* y la *Solución de referencia*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de todos los picos. En el cromatograma obtenido con la *Solución estándar*, el

pico principal corresponde al monómero de IgG observándose otro pico correspondiente al dímero, cuyo tiempo de retención relativo al pico principal es aproximadamente 0,85. Los picos observados en el cromatograma obtenido con la *Solución muestra* se identifican por comparación con los obtenidos en la *Solución estándar*. Cualquier pico con tiempo de retención inferior al del dímero corresponde a polímeros y agregados. La preparación a examinar cumple con el ensayo si en el cromatograma de la *Solución muestra* los tiempos de retención del monómero y dímero con respecto a los de los picos correspondientes en la *Solución estándar* son de $1 \pm 0,02$; la suma de las áreas de los picos de monómero y dímero debe ser no menor al 90 % del área total del cromatograma y la suma de las áreas de los picos de polímeros y agregados debe ser no mayor al 3 % del área total del cromatograma. [NOTA: este requisito no es aplicable a productos a los que se les ha agregado albúmina como estabilizante; para productos estabilizados con albúmina se debe realizar el ensayo para *Distribución del tamaño molecular* durante la fabricación, antes de agregar el estabilizante.]

Actividad anticomplementaria

Proceder según se indica en *Actividad anticomplementaria* en 385. *Ensayos en hemoderivados*. El consumo de complemento de la preparación en ensayo debe ser no mayor al 50 % ($1 CH_{50}$ por miligramo de inmunoglobulina).

Activador de precalicreína

Proceder según se indica en *Activador de precalicreína* en 385. *Ensayos en hemoderivados*. No debe contener más de 35 UI por ml, determinado sobre una solución que contiene 30 g por litro de inmunoglobulina.

Hemaglutininas anti-A y anti-B

[NOTA: si la preparación examinar contiene más de 30 g por litro de inmunoglobulina, diluir hasta esa concentración antes de preparar las diluciones que serán utilizadas en el ensayo.]

Preparar por duplicado diluciones en serie de la preparación en ensayo en una solución de cloruro de sodio 9 g por litro. Agregar a cada dilución de una serie un volumen igual de una suspensión al 5 % v/v de eritrocitos del grupo A₁, previamente lavados tres veces con la solución de cloruro de sodio. Agregar a cada dilución de la otra serie un volumen igual de una suspensión al 5 % v/v de eritrocitos del grupo B, previamente lavados tres veces con la solución de cloruro de sodio. Incubar las suspensiones a 37 °C durante 30 minutos y luego lavar las células tres veces con la solución de cloruro de sodio. Dejar las células en contacto con

un reactivo de globulina polivalente antihumana durante 30 minutos. Examinar al microscopio cada suspensión sin centrifugar, para detectar aglutinación. La dilución 1:64 no debe presentar aglutinación.

Anticuerpos contra Antígeno de superficie del virus de la hepatitis B

Examinar la preparación en ensayo mediante un método de sensibilidad y especificidad apropiada, tal como un ensayo inmunoenzimático (ver 635. *Métodos inmunológicos*). Debe contener no menos de 0,5 UI por g de inmunoglobulina.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de piretógenos <340>

Debe cumplir con los requisitos. Inyectar a cada conejo un volumen equivalente a 0,5 g de inmunoglobulina por kilogramo de peso corporal pero no más de 10 ml por kilogramo de peso corporal.

ROTULADO

Indicar en el rótulo:

- Para preparaciones líquidas, el volumen de la preparación contenido en el envase y el contenido en proteína expresado en gramos por litro;
- Para preparaciones liofilizadas, la cantidad de proteína contenida en el envase, el nombre o composición y el volumen de líquido reconstituyente.

Indicar en el rótulo, la cantidad de inmunoglobulina contenida en el envase, la vía de administración, la distribución de subclases de inmunoglobulina G presentes en la preparación, el contenido máximo de inmunoglobulina A. Cuando corresponda, indicar la cantidad de albúmina agregada como estabilizante.

INMUNOGLOBULINA HUMANA ANTITETÁNICA

Definición - La Inmunoglobulina Humana Antitetánica es una preparación, líquida o liofilizada, que contiene inmunoglobulinas, principalmente inmunoglobulina G (IgG). La preparación está destinada a la administración por vía intramuscular. Se obtiene a partir de plasma que contiene anticuerpos específicos contra la toxina del *Clostridium tetani*. Se le puede agregar *Inmunoglobulina Humana Normal*.

PRODUCCIÓN

Durante el desarrollo, debe establecerse una relación satisfactoria entre la potencia determinada por inmunoensayo tal como se describe en *Valoración* y la determinada mediante el ensayo de *Capacidad neutralizante de toxina en ratones*, según se describe a continuación.

Capacidad neutralizante de toxina en ratones

La potencia se determina comparando la cantidad necesaria para proteger ratones de los efectos paralizantes de una cantidad determinada de toxina tetánica, con la cantidad de una preparación de referencia de *Inmunoglobulina Humana Antitetánica*, calibrada en Unidades Internacionales, necesaria para conferir la misma protección.

La Unidad Internacional de antitoxina es la actividad neutralizante específica para la toxina tetánica contenida en una determinada cantidad de la Preparación Patrón Internacional, constituida por inmunoglobulina humana liofilizada. La Organización Mundial de la Salud establece la equivalencia en Unidades Internacionales de la Preparación Patrón Internacional.

Selección de animales - Emplear ratones con un peso comprendido entre 16 y 20 g.

Preparación de la toxina de prueba - Preparar la toxina de prueba mediante un método apropiado, a partir del filtrado estéril de un cultivo en medio líquido de *C. tetani*. Los dos métodos descritos a continuación se citan como ejemplos. Puede emplearse cualquier otro método apropiado.

(1) Añadir 1 ó 2 volúmenes de glicerina al filtrado de un cultivo de aproximadamente 9 días y conservar la mezcla en estado líquido, ligeramente por debajo de 0 °C.

(2) Precipitar la toxina agregando al filtrado sulfato de amonio, secar el precipitado al vacío sobre pentóxido de fósforo, reducir a polvo y almacenar en seco, ya sea en ampollas selladas o al vacío sobre pentóxido de fósforo.

Determinación de la dosis de prueba de la toxina (Lp/10 dosis) - Preparar una solución de la preparación patrón en un líquido apropiado, de tal manera que contenga 0,5 UI de antitoxina por ml. Si la toxina de prueba se conserva en forma de polvo, reconstituirla en un líquido apropiado. Preparar una serie de mezclas de la solución de la preparación patrón de antitoxina patrón (0,5 UI por ml) y de la solución de la toxina en ensayo, de tal manera que cada mezcla contenga 2,0 ml de la solución de preparación patrón y una serie gradual de volúmenes de la toxina de prueba. Ajustar el volumen final de cada mezcla a 5,0 ml, con un líquido apropiado. Mantener las mezclas protegidas de la luz durante 60 minutos. Empleando seis ratones para cada mezcla, inyectar una dosis de 0,5 ml subcutánea en cada ratón. Mantener los ratones en observación durante 96 horas. Los ratones que sufran parálisis pueden ser sacrificados. La dosis de prueba de la toxina es la contenida en 0,5 ml de la mezcla preparada con la menor cantidad de toxina capaz de provocar a pesar de su neutralización parcial por la preparación patrón de antitoxina, la parálisis de los seis ratones a los que se inyectó, durante el período de observación.

Determinación de la potencia de la inmunoglobulina - Preparar una solución de la preparación patrón, con un líquido apropiado, de tal manera que contenga 0,5 UI de antitoxina por ml. Preparar una solución de la toxina de prueba, en un líquido apropiado de forma tal que contenga cinco dosis de prueba por ml. Preparar una serie de mezclas de la solución de la toxina de prueba y de la inmunoglobulina a ser examinada, de manera tal que cada mezcla contenga 2,0 ml de la solución de la toxina de prueba y una serie gradual de volúmenes de la inmunoglobulina a ser examinada. Ajustar el volumen final de cada mezcla a 5,0 ml, con un líquido apropiado. Preparar una segunda serie de mezclas de la solución de la toxina de prueba y porciones de la antitoxina patrón, de forma tal que cada mezcla contenga 2,0 ml de la solución de la toxina de prueba y una serie gradual de volúmenes de la preparación de referencia; en esta segunda serie de mezclas, la dilución media de la preparación de referencia corresponde a una mezcla que contenga 1 UI (2,0 ml) de la solución de la preparación patrón. Ajustar el volumen final de las mezclas a 5,0 ml, con un líquido apropiado. Mantener las mezclas de las dos series protegidas de la luz durante 60 minutos. Empleando seis ratones para cada mezcla, inyectar una dosis de 0,5 ml subcutánea en cada ratón. Mantener los ratones en observación durante 96 horas. Los ratones que sufran parálisis pueden ser sacrificados. La mezcla que contenga el mayor volumen de

inmunoglobulina que no protege a ningún ratón de la parálisis contiene 1 UI. Esta cantidad se usa para calcular la potencia de la inmunoglobulina en UI por ml.

El ensayo solo es válido si todos los ratones que hayan sido inyectados con mezclas que contengan 2,0 ml o menos de la solución de la preparación de referencia sufran parálisis y todos aquellos que hayan sido inyectados con mezclas que contengan más de esa cantidad sigan presentando movilidad.

CONSERVACIÓN

Para preparaciones líquidas, en envases de vidrio incoloro protegido de la luz.

Para preparaciones liofilizadas, en envases herméticos, de vidrio incoloro protegido de la luz.

ENSAYOS

Debe cumplir con los requisitos según se indica en *Inmunoglobulina Humana Normal*, excepto en lo referente al número mínimo de donantes y al contenido mínimo en *Proteínas totales*.

VALORACIÓN

Determinar la potencia por comparación del título de anticuerpos de la inmunoglobulina a ser examinada con el de una Preparación Patrón Internacional, calibrada en UI, mediante un inmunoensayo de sensibilidad y especificidad adecuadas (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*). La Unidad Internacional es la actividad contenida en una determinada cantidad de la Preparación de Referencia Internacional de inmunoglobulina antitetánica. La equivalencia en Unidades Internacionales de la Preparación Patrón Internacional es establecida por la Organización Mundial de la Salud. La potencia declarada no debe ser menor de 100 UI de antitoxina tetánica por mililitro. La potencia estimada no debe ser menor que la potencia declarada. Los límites de confianza de la potencia estimada ($P = 0,95$) no deben ser menores del 80 % ni mayores del 125 %.

ROTULADO

Indicar en el rótulo:

- Para preparaciones líquidas, el volumen de la preparación contenido en el envase y el contenido en proteína expresado en gramos por litro;
- Para preparaciones liofilizadas, la cantidad de proteína contenida en el envase, el nombre o composición y el volumen de líquido reconstituyente.

Indicar en el rótulo, la vía de administración y el número de Unidades Internacionales contenido en el envase.

PLASMA HUMANO PARA FRACCIONAMIENTO

Definición - El Plasma Humano para Fraccionamiento es la fracción líquida de la sangre humana, remanente de la separación de los elementos celulares de la sangre colectada en un recipiente que contiene anticoagulante o separada por filtración continua o centrifugación de sangre anticoagulada en un procedimiento de aféresis. Se destina a la producción de hemoderivados.

Caracteres generales - Antes de la congelación, líquido límpido o ligeramente turbio, sin signos visibles de hemólisis, amarillo pálido a verde.

CONSERVACIÓN

A temperatura no mayor a -20°C . El plasma puede ser utilizado para fraccionamiento si la temperatura se mantiene entre -20°C y -15°C por no más de 72 horas sin exceder los -15°C en ninguna ocasión y siempre que se haya mantenido a una temperatura no mayor a -5°C .

PRODUCCIÓN

Dadores

Sólo podrán aceptarse dadores cuidadosamente seleccionados para quienes pueda comprobarse, después de examen médico, ensayos de laboratorio y estudio de la historia médica del dador, que son libres de agentes detectables de infección transmisible por derivados plasmáticos.

Registros - Los registros de dadores y donaciones deben ser llevados de forma tal que, manteniendo el grado de confidencialidad requerido acerca de la identidad del donante, pueda ser trazable la información referida al origen de cada donación en un pool de plasma, los resultados de los procedimientos de aceptación de dadores y los resultados de los ensayos de laboratorio.

Ensayos de laboratorio - Se deben llevar a cabo sobre cada donación individual los siguientes ensayos de laboratorio para la detección de marcadores virales:

1. Anticuerpos contra Virus de la Inmunodeficiencia Humana tipo 1 (anti-HIV-1)
2. Anticuerpos contra Virus de la Inmunodeficiencia Humana tipo 2 (anti-HIV-2)
3. Antígeno de Superficie de Virus de Hepatitis B (HBsAg)
4. Anticuerpos contra Virus de Hepatitis C (a-HCV)

Los métodos usados deben ser de sensibilidad y especificidad apropiadas y deben estar aprobados por la autoridad competente. Si se obtiene un resultado reactivo repetido en algunos de estos ensayos, la donación debe rechazarse.

UNIDADES DE PLASMA INDIVIDUALES

Cuando se obtiene a partir de sangre entera el plasma debe prepararse por un método que remueva células y detritos celulares tan completamente como sea posible y por un método diseñado de forma tal que prevenga la introducción de microorganismos. No se deben agregar agentes antimicrobianos ni antifúngicos al plasma. Los envases deben cumplir los requisitos en *Envases de vidrio* <430> y *Envases primarios de plástico* <420>. Los envases deben cerrarse de forma de prevenir la contaminación.

Si se mezclan dos o más unidades de plasma antes del congelamiento, las operaciones deben llevarse a cabo bajo condiciones asépticas empleando dispositivos de conexión estériles que no hayan sido previamente utilizados. Los envases deben ser cerrados de manera de prevenir la contaminación.

Cuando se obtiene por plasmaféresis, el plasma que se utilizará para la recuperación de proteínas lábiles debe ser congelado a $-30 \pm 5^{\circ}\text{C}$ o temperatura inferior, tan rápido como sea posible dentro de las 24 horas de su recolección.

El plasma que se utilizará para la recuperación de proteínas lábiles se separa de los elementos celulares y se congela a $-30 \pm 5^{\circ}\text{C}$ o temperatura inferior tan rápido como sea posible dentro de las 24 horas de su recolección.

Cuando se obtiene a partir de sangre entera, el plasma que se utilizará únicamente para la recuperación de proteínas que no son lábiles se separa de los elementos celulares y se congela a -20°C o temperatura inferior tan rápido como sea posible dentro de las 72 horas de su recolección.

[NOTA: no está previsto realizar en cada unidad de plasma los ensayos de *Proteínas totales* y *Valoración del factor VIII de coagulación sanguínea*. Estos ensayos son aconsejables en el contexto de las buenas prácticas de fabricación, siendo aplicable el ensayo *Valoración del factor VIII de coagulación sanguínea* en el caso del plasma destinado a la preparación de concentrados de proteínas lábiles. El contenido de proteínas totales de una unidad de plasma depende del contenido en proteínas séricas del donante y de la dilución inherente al proceso de donación. Cuando el plasma proviene de un donante apropiado y se ha empleado la proporción necesaria de solución anticoagulante, el contenido en *Proteínas totales*

cumple con el límite de 50 g por litro. Si se recolecta un volumen de plasma o de sangre más pequeño que el previsto sobre la solución anticoagulante, el plasma resultante no es necesariamente inadecuado para su mezcla y fraccionamiento. La conservación del factor VIII en la donación depende del procedimiento de recolección y posterior manipulación de la sangre y del plasma. Siguiendo las buenas prácticas, habitualmente es posible obtener 0,7 UI por mililitro, pero unidades de plasma que posean una actividad inferior pueden utilizarse igualmente para la producción de concentrados de factores de coagulación. El fin de las buenas prácticas de fabricación es conservar los componentes lábiles tanto como sea posible.]

Proteínas totales

Llevar a cabo el ensayo a partir de la mezcla de no menos de 10 unidades. Diluir la preparación a examinar, si fuera necesario, con una solución de cloruro de sodio 9 g por litro para obtener una solución de aproximadamente 15 mg de proteína en 2 ml. Transferir 2,0 ml a un tubo de centrifuga de fondo redondo y agregar 2,0 ml de una solución de molibdato de sodio de 75 g por litro y 2,0 ml de una mezcla de agua y ácido sulfúrico libre de nitrógeno (30:1). Agitar, centrifugar durante 5 minutos, decantar el líquido sobrenadante y dejar escurrir el tubo invertido sobre un papel de filtro. Determinar el contenido de nitrógeno en el residuo (ver 200. *Determinación de nitrógeno*) y calcular el contenido de proteínas multiplicando el resultado por 6,25. El contenido en proteínas totales no debe ser menor de 50 g por litro.

Factor VIII

Proceder según se indica en *Valoración del factor VIII de coagulación sanguínea* (ver 385. *Ensayos en hemoderivados*). Realizar el ensayo a partir de la mezcla de no menos de 10 unidades. Descongelar las muestras en ensayo a una temperatura no mayor de 37 °C, si fuera necesario. Llevar a cabo el ensayo empleando un plasma de referencia calibrado frente a la Preparación Internacional de Referencia para factor VIII de coagulación sanguínea en plasma. La actividad no debe ser menor de $0,7 \pm 0,14$ UI por mililitro.

MEZCLA DE PLASMAS

Deben efectuarse sobre la primera mezcla homogénea de plasma usado para la fabricación de hemoderivados. Los ensayos de Antígeno de Superficie de Virus de la Hepatitis B (HBsAg), Anticuerpos contra el Virus de la Hepatitis C (anti-HCV) y Anticuerpos contra el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (anti-HIV) empleando

métodos de sensibilidad y especificidad apropiada: la mezcla debe dar resultados no reactivos para estos ensayos.

La mezcla inicial de plasma también debe someterse a la determinación de ARN de Virus de Hepatitis C por técnicas de amplificación de ácidos nucleicos, empleando un método validado. En la realización del ensayo debe incluirse un control positivo conteniendo 100 UI por ml de ARN de virus de Hepatitis C y, para probar la presencia de inhibidores se debe incluir un control interno preparado por adición de un marcador adecuado a la mezcla de plasmas a ser ensayada. El ensayo no es válido si el control positivo resulta no reactivo o si el resultado obtenido con el control interno indica la presencia de inhibidores. La mezcla de plasma cumple con el ensayo si no se detecta la presencia de ARN de virus de Hepatitis C.

ROTULADO

El rótulo debe contener la información necesaria que permita rastrear cada unidad individual de plasma hasta su dador específico.

PRODUCTOS BIOLÓGICOS

APARTADO DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS

ÍNDICE

Monografías

Heparina Cálcica
Heparina Sódica
Heparina, Solución Inyectable
Insulina Bovina e Insulina Porcina
Insulina Humana
Insulina, Preparaciones Inyectables
Insulina Corriente, Solución Inyectable
Insulina Cinc Amorfa, Suspensión Inyectable
Insulina Cinc Cristalina, Suspensión Inyectable
Insulina Cinc, Suspensión Inyectable
Insulina Cinc Protamina, Suspensión Inyectable
Insulina Bifásica, Suspensión Inyectable
Insulina Isofana, Suspensión Inyectable
Insulina Isofana Bifásica, Suspensión Inyectable
Oxitocina
Oxitocina, Solución a granel
Protamina, Sulfato de
Protamina, Sulfato de, Solución Inyectable

HEPARINA CÁLCICA

Definición - Heparina Cálcica es la sal cálcica de un glucosaminoglicano sulfatado presente en los tejidos de mamíferos. Se obtiene a partir de pulmón del ganado bovino o de la mucosa intestinal del ganado bovino o porcino. Se produce de manera de minimizar o eliminar la contaminación microbiana y las sustancias hipotensoras. Por hidrólisis total, se libera *D*-glucosamina, ácido *D*-glucurónico, ácido *L*-idurónico, ácido acético y ácido sulfúrico. Presenta la propiedad característica de retrasar la coagulación de la sangre recientemente extraída. La actividad de la Heparina Cálcica destinada a la administración parenteral no debe ser menor de 150 UI por miligramo, calculada sobre la sustancia seca. La actividad de la Heparina Cálcica no destinada a la administración parenteral no debe ser menor de 120 UI por miligramo, calculada sobre la sustancia seca. Heparina Cálcica debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Moderadamente higroscópico. Fácilmente soluble en agua.

Sustancias de referencia - Heparina Bovina SR-FA. Heparina Porcina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases herméticos de cierre inviolable.

Precaución - Los animales a partir de los cuales la Heparina se obtiene deben cumplir los requerimientos de animales sanos apropiados para el consumo humano, con la autorización de la Autoridad Sanitaria competente. El proceso de manufactura deberá estar validado para demostrar la apropiada inactivación o remoción de cualquier contaminación por virus u otro agente infeccioso.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe retrasar la coagulación de sangre recién extraída.

B - Examinar por electroforesis de zona (ver 300. *Electroforesis*) empleando agarosa para electroforesis como soporte [NOTA: también se puede emplear como soporte para electroforesis tiras de acetato de celulosa]. Para equilibrar la agarosa y como solución electrolítica, emplear una mezcla de 50 ml de ácido acético glacial y 800 ml de agua. Ajustar a pH 3 con hidróxido de litio y diluir a 1 litro con agua.

Solución muestra - Disolver 25 mg de Heparina Cálcica en agua y diluir a 10 ml con el mismo solven-

te.

Solución estándar - Diluir la Heparina SR-FA correspondiente con agua para obtener una solución similar a la *Solución muestra*.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la tira entre 2 y 3 µl de *Solución estándar* y *Solución muestra*. Aplicar una corriente eléctrica de 1 a 2 mA por centímetro de ancho de tira, a una diferencia de potencial de 300 V, durante aproximadamente 10 minutos. Teñir las tiras empleando una solución de azul de toluidina al 0,1 % y lavar para eliminar el exceso de colorante. La relación entre la movilidad de la banda principal o de las bandas en el electroforegrama obtenido a partir de la *Solución muestra* y la movilidad de la banda en el electroforegrama obtenido con la *Solución estándar* debe estar comprendido entre 0,9 y 1,1.

C - Una solución de Heparina Cálcica debe responder a los ensayos para *Calcio* <410>

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: No menos de +35, determinada a 20 °C sobre la sustancia seca.

Solución muestra: 40 mg por ml, en agua.

Determinación del pH <250>

Entre 5,5 y 8,0, determinado sobre una solución de Heparina Cálcica de aproximadamente 10 mg por ml en agua libre de dióxido de carbono.

Impurezas proteicas y nucleotídicas

Disolver 40 mg de Heparina Cálcica en agua, transferir a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. La absorbancia de esta solución (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*), determinada a 260 y 280 nm, no debe ser mayor de 0,20 y 0,15, respectivamente.

Determinación de Nitrógeno <200>

Método I. No más de 2,5 %, con respecto a la sustancia seca; determinado sobre 100 mg.

Calcio

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Heparina Cálcica, transferir a un erlenmeyer de 500 ml y agregar 300 ml de agua. Agregar 6 ml de solución de hidróxido de sodio al 42 % y 15 mg de una mezcla de cloruro de sodio y ácido calcona carboxílico (99:1). Titular con edetato disódico 0,1 M (SV) hasta que el color cambie de violeta a azul nítido (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de edetato disódico 0,1 M equivale a 4,008 mg de Ca. No debe contener menos de 9,5 ni más de 11,5 % de Ca, calculado sobre la sustancia seca.

Determinación del residuo de ignición <270>

Entre 32,0 y 40,0 %, con respecto a la sustancia seca; determinado sobre 200 mg.

Límite de metales pesados <590>

Método VI. No más de 0,003 %, determinado sobre 500 mg. Preparar la *Solución estándar* empleando 1,5 ml de *Solución estándar de plomo (10 ppm)*.

Pérdida por secado <680>

Secar 1,0 g de Heparina Cálcica sobre pentóxido de fósforo a una presión no mayor de 5 mm Hg, a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 8,0 % de su peso.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que la Heparina Cálcica se destina a la preparación de formas farmacéuticas inyectables que no se someten a un tratamiento posterior de eliminación de endotoxinas bacterianas, no debe contener más de 0,01 Unidades de Endotoxina por UI de Heparina. [NOTA: puede ser necesaria la adición de cationes divalentes para cumplir con el criterio de validación.]

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que la Heparina Cálcica es estéril, debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

La actividad anticoagulante de la heparina se determina *in vitro* por comparación de su capacidad, en condiciones dadas, para retrasar la coagulación de plasma sustrato citratado y recalificado, con la de una preparación de referencia de heparina calibrada en Unidades Internacionales. [NOTA: los volúmenes citados en el texto se dan a título indicativo y pueden ser adaptados al equipo empleado, siempre que se respeten las proporciones indicadas en esta monografía.]

Plasma sustrato - [NOTA 1: el *Plasma sustrato* puede ser reemplazado por un reactivo comercial humano u ovino]. [NOTA 2: para la extracción y manipulación de la sangre, emplear un equipo hidrofóbico fabricado a partir de materiales plásticos adecuados o de vidrio siliconado]. Recolectar un volumen de sangre a partir de no menos de 5 corderos. Resulta conveniente un volumen de sangre de 285 ml añadido a 15 ml de solución anticoagulante, aunque pueden extraerse volúmenes menores, de animales vivos o en el momento de su sacrificio. Emplear una aguja adaptada a una cánula, de longitud suficiente para alcanzar el fondo del envase colector. Desechar los primeros mililitros y recolectar únicamente la sangre que fluye libremente. Mezclar la sangre con una cantidad suficiente de una solución anticoagulante que contenga 8,7 g de citrato de sodio y 4 mg de aprotinina en 100 ml de agua, para obtener una proporción final de 19 volúmenes de sangre por 1 volumen de solución anticoagulante. Durante la

extracción de sangre e inmediatamente después, mezclar por rotación de modo que se mezclen ambos líquidos sin formación de espuma. Cuando la extracción haya terminado, cerrar el frasco y enfriar entre 10 y 15 °C. Una vez frío, reunir el contenido de todos los frascos, excepto de aquellos que presenten signos evidentes de hemólisis o de coagulación, y mantener la sangre recolectada entre 10 y 15 °C. En cuanto sea posible y siempre antes de las 4 horas siguientes a la extracción, centrifugar la sangre recolectada a 1.000-2.000 g a una temperatura entre 10 y 15 °C, durante 30 minutos. Separar el líquido sobrenadante y centrifugarlo a 5.000 g durante 30 minutos. Puede realizarse una centrifugación más rápida (por ej., a 20.000 g durante 30 minutos). Separar el líquido sobrenadante y, sin demora, mezclar cuidadosamente y fraccionar el plasma en envases pequeños que deben taparse al finalizar la operación. La cantidad en cada envase debe ser suficiente para permitir una valoración completa de la heparina. De inmediato, congelar rápidamente a una temperatura inferior a -70 °C (por ej., sumergiendo los frascos en nitrógeno líquido) y conservar a una temperatura inferior a -30 °C. El plasma preparado en estas condiciones puede emplearse como *Plasma sustrato* en la valoración de heparina, siempre que, en las condiciones de la valoración, se obtenga un tiempo de coagulación adecuado al método de detección que se emplee y si proporciona curvas de logaritmo de la dosis en función del logaritmo de la respuesta, reproducibles y con pendiente significativa. En el momento de su uso, descongelar una cierta cantidad de *Plasma sustrato* en un baño de agua a 37 °C, removiendo suavemente hasta licuefacción completa. Una vez líquido, el plasma debe mantenerse entre 10 y 20 °C y emplearse sin demora. El *Plasma sustrato* descongelado puede centrifugarse ligeramente si fuera necesario; no se debe emplear ningún procedimiento de filtración.

Reactivo de cefalina - [NOTA: este reactivo puede reemplazarse por un reactivo comercial apropiado]. Entre 0,5 y 1 g de polvo de cerebro de buey desecado con acetona, agregar 20 ml de acetona y dejar en reposo durante 2 horas. Centrifugar a 500 g durante 2 minutos y decantar el líquido sobrenadante. Secar el residuo a presión reducida y agregar 20 ml de cloroformo al material seco. Dejar en reposo durante 2 horas, con agitación frecuente. Luego de eliminar el material sólido por filtración o centrifugación, evaporar el cloroformo a presión reducida. Preparar una suspensión del residuo obtenido en un volumen de 5 a 10 ml de solución fisiológica (SR). [NOTA: los solventes empleados para preparar este reactivo deben contener un antioxidante adecuado, como por ej., butilhidroxianisol a una concentración de 0,02 g/l].

Una vez congelado o liofilizado conservar no más de 3 meses.

Preparación estándar - Diluir la Heparina bovina SR-FA o la Heparina Porcina SR-FA, según corresponda, con solución fisiológica (SR) de modo que contenga un número exactamente conocido de Unidades Internacionales por mililitro.

Preparación muestra - Diluir Heparina Cálctica con solución fisiológica (SR) de modo de obtener una actividad presumiblemente similar a la actividad de la *Preparación estándar*.

Procedimiento - Llevar a cabo la valoración empleando uno de los métodos siguientes para la determinación del comienzo de la coagulación, empleando los tubos y el equipo apropiados al método elegido.

a) observación visual directa, preferiblemente empleando una iluminación indirecta y observando contra un fondo negro no brillante;

b) registro espectrofotométrico de la variación de absorbancia a una longitud de onda de 600 nm aproximadamente;

c) detección visual del cambio en la fluidez, inclinando los tubos manualmente;

d) registro mecánico del cambio de fluidez al agitar, teniendo cuidado de causar la mínima perturbación de la solución durante la fase inicial de la coagulación.

Empleando solución fisiológica (SR) y a partir de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra*, preparar una serie de diluciones en progresión geométrica, cuya concentración sea tal que el tiempo de coagulación obtenido con la concentración más baja sea mayor a 1,5 veces el tiempo de recalcificación del blanco y que el obtenido con la concentración más alta sea tal que la curva logaritmo dosis - respuesta sea satisfactoria, tal como se determina en un ensayo preliminar. Colocar doce tubos en un baño de hielo, rotulándolos por duplicado, como M_1 , M_2 y M_3 para las diluciones de la *Preparación muestra* y E_1 , E_2 y E_3 para las diluciones de la *Preparación estándar*. Agregar a cada tubo 1,0 ml de *Plasma sustrato* descongelado y 1,0 ml de la dilución apropiada de la *Preparación muestra* o la *Preparación estándar*, según corresponda. Mezclar luego de cada adición, evitando la formación de espuma. Tratar los tubos según el orden, E_1 , E_2 , E_3 , M_1 , M_2 , M_3 y transferir cada tubo a un baño de agua a 37 °C, dejar que la temperatura se equilibre durante aproximadamente 15 minutos y agregar a cada tubo 1 ml de una dilución de *Reactivo de cefalina* al que se le ha agregado un activador, como caolín, de modo que se obtenga un tiempo de recalcificación adecuado. [NOTA: cuando se emplee caolín preparar una mezcla de volúmenes iguales de *Reactivo de cefalina* y de una suspensión de caolín liviano al 0,4 % en solución fisiológica (SR)

en el momento de su uso]. Exactamente después de 2 minutos agregar 1 ml de una solución de cloruro de calcio al 0,37 % y registrar como tiempo de coagulación el intervalo en segundos entre esta última adición y el comienzo de la coagulación, medido según el método elegido. Al principio y al final del procedimiento, determinar el tiempo de recalcificación del blanco de la misma manera, empleando 1 ml de solución fisiológica (SR) en lugar de una de las diluciones de heparina. Los dos valores obtenidos para el blanco no deben diferir significativamente y este no debe ser mayor de 60 segundos. Transformar los tiempos de coagulación en sus logaritmos, tomando el valor medio de los tubos duplicados. Repetir el proceso empleando nuevas diluciones y realizando la incubación en el orden M_1 , M_2 , M_3 , E_1 , E_2 , E_3 . Calcular los resultados según los métodos estadísticos habituales (ver 10. *Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos*). Efectuar no menos de tres valoraciones independientes. Para cada una de ellas preparar diluciones nuevas de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra* y una fracción distinta de *Plasma sustrato*, descongelado inmediatamente antes de su uso. Calcular la potencia de la Heparina Cálctica en ensayo combinando los resultados de los diferentes ensayos según los métodos estadísticos habituales. Cuando la varianza debida a las diferencias entre los ensayos es significativa para $p = 0,01$, se puede obtener una estimación combinada de la potencia a partir de las potencias medias no ponderadas. La actividad estimada no debe ser menor de 90 % ni mayor de 111 % de la potencia declarada. Los límites de confianza del error de la potencia estimada ($P = 0,95$) no deben ser menor de 80 % ni mayor de 125 % de la potencia declarada.

ROTULADO

Indicar en el rótulo de Heparina Cálctica el número de Unidades Internacionales por miligramo; el tejido y las especies animales de las cuales fue obtenida; el nombre y la cantidad de cualquier sustancia agregada; y si corresponde, que la Heparina Cálctica es estéril y apirógena.

HEPARINA SÓDICA

Definición - Heparina Sódica es la sal sódica de un glucosaminoglicano sulfatado presente en los tejidos de mamíferos. Se obtiene a partir de pulmón del ganado bovino o de la mucosa intestinal del ganado bovino o porcino. Se produce de manera de minimizar o eliminar la contaminación microbiana y las sustancias hipotensoras. Por hidrólisis total, se libera *D*-glucosamina, ácido *D*-glucurónico, ácido *L*-idurónico, ácido acético y ácido sulfúrico. Presenta la propiedad característica de retrasar la coagulación de la sangre recientemente extraída. La actividad de la Heparina Sódica destinada a la administración parenteral no debe ser menor de 150 UI por miligramo, calculada sobre la sustancia seca. La actividad de la Heparina Sódica no destinada a la administración parenteral no debe ser menor de 120 UI por miligramo, calculada sobre la sustancia seca. Heparina Sódica debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Moderadamente higroscópico. Facilmente soluble en agua.

Sustancias de referencia - Heparina Bovina SR-FA. Heparina Porcina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases herméticos de cierre inviolable.

Precaución - Los animales a partir de los cuales la Heparina se obtiene deben cumplir los requerimientos de animales sanos apropiados para el consumo humano, con la autorización de la Autoridad Sanitaria competente. El proceso de manufactura deberá estar validado para demostrar la apropiada inactivación o remoción de cualquier contaminación por virus u otro agente infeccioso.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe retrasar la coagulación de sangre recientemente extraída.

B - Examinar por electroforesis de zona (ver 300. *Electroforesis*) empleando agarosa para electroforesis como soporte [NOTA: también se puede emplear como soporte para electroforesis tiras de acetato de celulosa]. Para equilibrar la agarosa y como solución electrolítica, emplear una mezcla de 50 ml de ácido acético glacial y 800 ml de agua. Ajustar a pH 3 con hidróxido de litio y diluir a 1 litro con agua.

Solución muestra - Disolver 25 mg de Heparina Sódica en agua y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar - Diluir la Heparina SR-FA correspondiente con agua para obtener una solución similar a la *Solución muestra*.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la tira entre 2 y 3 µl de *Solución estándar* y *Solución muestra*. Aplicar una corriente eléctrica de 1 a 2 mA por centímetro de ancho de tira, a una diferencia de potencial de 300 V, durante aproximadamente 10 minutos. Teñir las tiras empleando una solución de azul de toluidina al 0,1 % y lavar para eliminar el exceso de colorante. La relación entre la movilidad de la banda principal o de las bandas en el electroforegrama obtenido a partir de la *Solución muestra* y la movilidad de la banda en el electroforegrama obtenido con la *Solución estándar* debe ser de 0,9 a 1,1.

C - El residuo obtenido en el ensayo de *Determinación del residuo de ignición* debe responder a la reacción de identificación para *Sodio* <410>.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: No menos de +35° determinada a 20 °C sobre la sustancia seca.

Solución muestra: 40 mg por ml, en agua.

Determinación del pH <250>

Entre 5,5 y 8,0, determinado sobre una solución de Heparina Sódica de aproximadamente 10 mg por ml en agua libre de dióxido de carbono.

Impurezas proteicas y nucleotídicas

Disolver 40 mg de Heparina Sódica en agua, transferir a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con el mismo solvente y mezclar. La absorbancia de esta solución (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*), determinada a 260 y 280 nm, no debe ser mayor de 0,20 y 0,15, respectivamente.

Determinación de Nitrógeno <200>

Método I. No más de 2,5 %, con respecto a la sustancia seca; determinado sobre 100 mg.

Sodio

Determinar por espectrofotometría de absorción atómica (ver *Método I* en 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución madre del estándar - Transferir una cantidad de cloruro de sodio que corresponda a 0,509 g de cloruro de sodio a un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar a volumen con agua. Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Esta solución debe contener 200 ppm de sodio.

Soluciones estándar - Preparar soluciones de aproximadamente 25, 50 y 75 ppm de sodio, a partir de *Solución madre del estándar* diluida con ácido clorhídrico 0,1 M que contenga 1,27 mg de cloruro de

cesio por mililitro.

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 50 mg de Heparina Sódica, disolver en ácido clorhídrico 0,1 M que contenga 1,27 mg de cloruro de cesio por mililitro y diluir a 100 ml con el mismo solvente.

Procedimiento - Determinar concomitantemente las absorbancias de las *Soluciones estándar* y la *Solución muestra* a 330,3 nm con un espectrofotómetro de absorción atómica, equipado con una lámpara de sodio de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama de aire-acetileno de composición adecuada (aproximadamente 11 litros de aire y 2 litros de acetileno por minuto). Debe contener entre 9,5 y 12,5 % de sodio, con respecto a la sustancia seca.

Determinación del residuo de ignición <270>

Entre 30,0 y 43,0 %, con respecto a la sustancia seca; determinado sobre 200 mg.

Límite de metales pesados <590>

Método VI. No más de 0,003 %, determinado sobre 500 mg. Preparar la *Solución estándar* empleando 1,5 ml de *Solución estándar de plomo (10 ppm)*.

Pérdida por secado <680>

Secar 1,0 g de Heparina Sódica sobre pentóxido de fósforo a una presión no mayor de 5 mm Hg, a 60 °C durante 3 horas: no debe perder más de 8,0 % de su peso.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que la Heparina Sódica se destine a la preparación de formas farmacéuticas inyectables que no deben someterse a un tratamiento posterior de eliminación de endotoxinas bacterianas, no debe contener más de 0,01 Unidades de Endotoxina por UI de Heparina.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que la Heparina Sódica es estéril, debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Proceder según se indica en *Valoración* para *Heparina Cálcica*, sustituyendo la solución de Heparina Cálcica por solución de Heparina Sódica preparada según se indica en *Preparación muestra*. La actividad estimada no debe ser menor de 90 % ni mayor de 111 % de la potencia declarada. Los límites de confianza del error de la potencia estimada ($P = 0,95$) no deben ser menor de 80 % ni mayor de 125 % de la potencia declarada.

ROTULADO

Indicar en el rótulo de Heparina Sódica el número

de Unidades Internacionales por miligramo; el tejido y las especies animales de las cuales fue obtenida; el nombre y la cantidad de cualquier sustancia agregada; y si corresponde, que la Heparina Sódica es estéril y apirógena.

HEPARINA

SOLUCIÓN INYECTABLE

La Solución Inyectable de Heparina debe cumplir con los requisitos especificados en *Inyectables en 1050. Formas Farmacéuticas*.

Definición - Heparina Inyectable es una solución estéril de Heparina Cálctica o Heparina Sódica en *Agua para Inyectables*.

Caracteres generales - Líquido límpido, incoloro o ligeramente amarillento.

Sustancias de referencia - Heparina Bovina SR-FA. Heparina Porcina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases de vidrio Tipo I. Almacenar a temperatura no mayor de 25° C.

ENSAYOS

Identificación

A - Proceder según se indica en *Valoración*. El tiempo de coagulación no debe ser menor de 1.5 veces del tiempo de recalcificación del blanco.

B - Proceder según se indica en el ensayo de *Identificación B* en *Heparina Cálctica*.

Solución muestra - Disolver un volumen de la Solución Inyectable de Heparina en suficiente agua para obtener una solución de aproximadamente 375 UI por ml.

Solución estándar - Diluir una cantidad apropiada de Heparina SR-FA con agua para obtener una solución similar a la *Solución muestra*.

C - Proceder según se indica en el ensayo de *Identificación C* en *Heparina Cálctica o Heparina Sódica*.

Determinación del pH <250>

Entre 5,5 y 8,0.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 0,03 Unidades de Endotoxina por UI de Heparina. [NOTA: puede ser necesaria la adición de cationes divalentes para cumplir con el criterio de validación.]

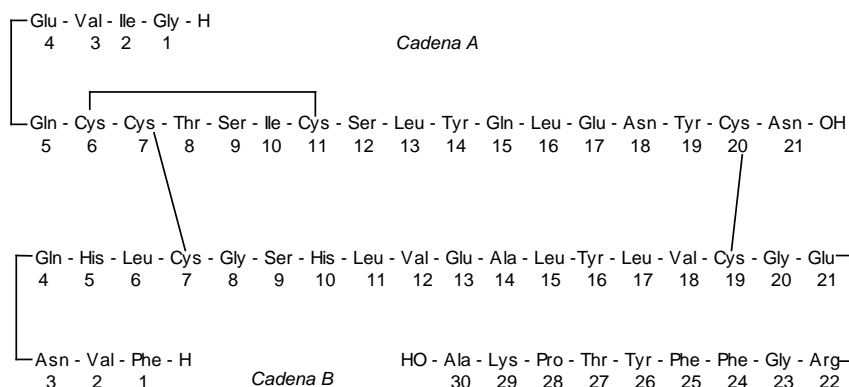
VALORACIÓN

Proceder según se indica en *Valoración en Heparina Cálctica*. La actividad estimada no debe ser menor de 90 % ni mayor de 111 % de la potencia declarada. Los límites de confianza del error de la potencia estimada ($P = 0,95$) no deben ser menor de 80 % ni mayor de 125 % de la potencia declarada.

ROTULADO

Indicar en el rótulo la actividad en Unidades Internacionales por mililitro en envase multidosis, la actividad en Unidades Internacionales en un volumen determinado en envase monodosis, el tejido y la especie animal de origen. Indicar si la preparación inyectable es sal sódica o cálcica y que debe descartarse la porción de solución no empleada cuando no posee conservante antimicrobiano.

INSULINA BOVINA e INSULINA PORCINA

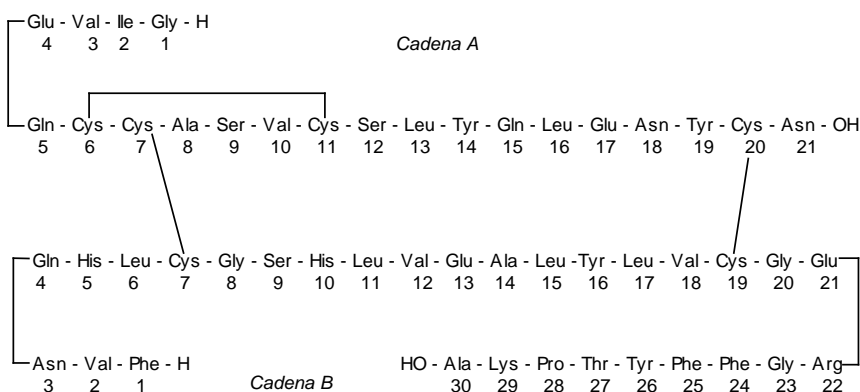


Insulina Porcina

$C_{256}H_{381}N_{65}O_{76}S_6$

PM: 5.777,6

12584-58-6



Insulina Bovina

$C_{254}H_{377}N_{65}O_{75}S_6$

PM: 5.733,5

11070-73-8

Definición - La Insulina es una hormona producida por las células β de los islotes de Langerhans del páncreas cuya función es regular la glucosa sérica y consiste en una proteína con dos cadenas de aminoácidos, A y B, conectados por dos puentes disulfuro. Se obtiene del páncreas de animales bovinos o porcinos sanos, o de ambos, purificada adecuadamente. El contenido de Insulina Bovina o de Insulina Porcina más el correspondiente a la desamido insulina A-21 cuando corresponda, debe ser no menor de 95,0 por ciento ni mayor de 105,0 por ciento, calculado con respecto a la sustancia seca y deben cumplir con las siguientes especificaciones. [NOTA: una Unidad Internacional de Insulina equivale a 0,0342 mg de Insulina Bovina y a 0,0345 mg de Insulina Porcina.]

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Soluble en ácidos minerales diluidos y con descomposición del producto en soluciones diluidas de hidróxidos alcalinos; prácticamente insoluble en agua y alcohol.

Sustancias de referencia - Insulina Bovina SR-FA. Insulina Porcina SR-FA. Insulina Humana SR-FA. Reactivo de Referencia Internacional para Proinsulina Bovina. Reactivo de Referencia Internacional para Proinsulina Porcina.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos herméticos, a una temperatura de -20°C hasta su liberación por el fabricante. Cuando se descongela, la Insulina se debe conservar

entre 2 y 8 °C.

Precaución - Los animales a partir de los cuales la Insulina Bovina o Porcina se obtiene deben cumplir los requerimientos de animales sanos apropiados para el consumo humano, con la autorización de la Autoridad Sanitaria competente. El proceso de manufactura deberá estar validado para demostrar la apropiada inactivación o remoción de cualquier contaminación por virus u otro agente infeccioso.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico de insulina en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* debe ser similar al obtenido con la *Preparación estándar A* o con la *Preparación estándar B*, acorde a la Insulina empleada.

B - Examinar mediante mapeo peptídico.

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 214 nm y una columna de 10 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice totalmente porosas de 3 µm de diámetro. Mantener la columna a 40 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1 ml por minuto. El cromatógrafo se debe programar del siguiente modo:

Tiempo (minutos)	Solución A (%)	Solución B (%)	Etapas
0-60	90 → 30	10 → 70	Gradiente lineal
60-65	30 → 0	70 → 100	Gradiente lineal
65-70	0	100	Isocrático

Solución reguladora de sulfato - Sulfato de amonio 2,0 M y ácido sulfúrico 0,5 M (50:50). Filtrar y ajustar a pH 2, si fuera necesario.

Solución A - Mezclar 700 ml de agua, 200 ml de *Solución reguladora de sulfato* y 100 ml de acetonitrilo para cromatografía. Filtrar y desgasificar.

Solución B - Mezclar 400 ml de acetonitrilo para cromatografía, 400 ml de agua y 200 ml de *Solución reguladora de sulfato*. Filtrar y desgasificar.

Fase móvil - Emplear mezclas de *Solución A* y *Solución B* según se indica en *Sistema cromatográfico*. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de enzima - Preparar una solución a partir de un polvo liofilizado de *Staphylococcus aureus cepa V-8* en agua grado HPLC para obtener una concentración de 1 mg por ml de proteasa la cual contiene

una actividad comprendida entre 500-1.000 unidades por mg de sólido.

Solución reguladora de HEPES - Transferir 2,38 g de HEPES (ácido *N*-(2-hidroxiethyl)piperazina-*N'*-2-etanosulfónico) a un matraz aforado de 100 ml, disolver con aproximadamente 90 ml de agua. Ajustar a pH 7,5 con hidróxido de sodio 5 M, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución de digestión muestra - Preparar una solución de 2 mg por ml de la Insulina correspondiente en ácido clorhídrico 0,01 N y transferir 500 µl de la solución resultante a un recipiente con tapa apropiado. Agregar 2,0 ml de *Solución reguladora de HEPES* y 400 µl de *Solución de enzima*, tapar e incubar a 25 °C durante 6 horas. Inhibir el proceso de digestión agregando 2,9 ml de *Solución reguladora de sulfato*.

Solución de digestión estándar - Preparar al mismo tiempo y de la misma manera que la *Solución de digestión muestra*, pero empleando el estándar correspondiente.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de digestión muestra* y la *Solución de digestión estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el cromatograma obtenido a partir de la *Solución de digestión muestra* debe tener un perfil cromatográfico similar al obtenido con la *Solución de digestión estándar*. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución de digestión estándar* identificar los picos debidos a los fragmentos de digestión I, II y III. El factor de asimetría de los picos de los fragmentos de digestión II y III no debe ser mayor de 1,5; la resolución *R* entre los mismos no debe ser menor de 1,9. [NOTA: el fragmento I consiste en los aminoácidos comprendidos entre el aminoácido A5 y el A17 y entre el aminoácido B1 y el B13. El fragmento II consiste en los aminoácidos comprendidos entre el aminoácido A18 y el A21 y entre el aminoácido B14 y el B21. El fragmento III consiste en los aminoácidos comprendidos entre el aminoácido B22 y el B30. El fragmento IV consiste en los aminoácidos comprendidos entre el aminoácido A1 y el A4. A y B son las cadenas respectivas en la Insulina Bovina y Porcina]. [NOTA: el fragmento I eluye con el mismo tiempo de retención en Insulina Bovina y en Insulina Humana; el fragmento II eluye con el mismo tiempo de retención en todas las Insulinas y el fragmento III eluye con igual tiempo de retención en Insulina Bovina y en Insulina Porcina].

Procedimiento - Inyectar un blanco empleando el programa de gradiente según se indica en *Sistema cromatográfico*. Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 50 µl) de la *Solución de digestión estándar* y la *Solución de digestión muestra*, registrar los cromatogra-

mas y medir las respuestas de los picos. [NOTA: dejar equilibrar el sistema en las condiciones iniciales durante 15 minutos entre cada inyección].

Bioidentidad

Método: Convulsiones en ratones

Emplear no menos de 36 ratones adultos jóvenes con un intervalo de peso no mayor de 5 g. Antes de comenzar el ensayo dejar los animales en ayunas no menos de 2 horas ni más de 20 horas. Para la correcta elección de las dosis a emplear en el ensayo, conviene realizar una curva dosis respuesta con la solución patrón y a partir de ella, elegir dos dosis que produzcan aproximadamente un 15 y un 85 % de respuestas. Esas dosis estarán en un orden de magnitud de aproximadamente 5 a 15 miliunidades de insulina por ratón para la menor y 10 a 30 miliunidades de insulina por ratón para la mayor dependiendo de la cepa de animales y estarán contenidas en no más de 0,5 ml de solución. La muestra a ensayar deberá diluirse de modo de obtener dos soluciones que produzcan respuestas semejantes a las obtenidas con las soluciones estándar. Como diluyente emplear una solución que contenga 0,1 a 0,25 % de metacresol o fenol y 1,4 a 1,8 % de glicerol y ajustar a pH entre 2,5 y 3,5 con ácido clorhídrico. La relación entre las dos dosis de la muestra deberá ser la misma que la relación existente entre las dos dosis de la solución estándar.

Procedimiento - Distribuir los animales al azar en cuatro grupos iguales e inyectarlos por vía subcutánea con las soluciones estándar y desconocido en un lapso no mayor de 20 minutos. Distribuir los ratones homogéneamente dentro de un incubador apropiado, que permita su correcta observación y ventilación y mantenerlos a temperatura y humedad controlada (29-35 °C). Observar los animales durante 90 minutos luego de la inyección y registrar el número de animales que entran en convulsión o mueren.

[NOTA: es posible observar otros síntomas que revelen la inminencia de la convulsión, como la pérdida del reflejo de enderezamiento por más de 3 segundos, evitando de este modo la muerte de los animales. Estos animales y aquéllos que ya entraron en convulsión, se pueden recuperar mediante inyección subcutánea o intraperitoneal de 0,5 ml de solución de *Glucosa Anhidra* al 15 %. El grupo de animales puede volver a emplearse cada siete días.]

Cálculo - Se realiza la estimación de potencia de rectas paralelas con respuestas cuantales (factorial 2+2).

Interpretación - Cumple el ensayo de bioidentidad si el valor de potencia representa no menos del 70 % de la potencia declarada.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando la Insulina Bovina o Porcina esté destina-

da a la preparación de formas farmacéuticas inyectables sin posterior tratamiento de esterilización, debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando la Insulina Bovina o Porcina esté destinada a la preparación de formas farmacéuticas inyectables sin posterior tratamiento de eliminación de endotoxinas bacterianas por un procedimiento apropiado, debe contener menos de 10 Unidades de Endotoxina por mg.

Pérdida por secado <680>

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de la Insulina correspondiente, secar entre 100 y 105 °C durante 24 horas: no debe perder más de 10,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 2,5 %, determinado a partir de 200 mg de la Insulina correspondiente y calculado sobre la sustancia seca.

Proteínas relacionadas

Solución A, Solución B, Solución estándar A, Solución estándar B, Solución de comparación A, Solución de comparación B, Solución de resolución y Solución muestra - Proceder según se indica en *Valoración*. [NOTA: mantener las soluciones entre 2 y 10 °C y emplear dentro de las 24 horas siguientes.]

Sistema cromatográfico - Proceder según se indica en *Valoración*, programando el cromatógrafo del siguiente modo:

Tiempo (minutos)	Solución A (%)	Solución B (%)	Etapas
0-30	42	58	Isocrático
30-44	42→11	58→89	Gradiente Lineal
44-50	11	89	Isocrático

Fase móvil - Emplear mezclas de *Solución A* y *Solución B* según se indica en *Sistema cromatográfico*. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Determinar la resolución y linealidad procediendo según se indica en *Valoración*. Si fuera necesario, se pueden ajustar las proporciones relativas de la *Fase móvil* para asegurar la elución completa de la desamido insulina A-21 porcina o bovina antes del comienzo del gradiente. El perfil del gradiente puede ajustarse para asegurar la elución completa de todas las impurezas relacionadas de la insulina. Si fuera necesario, ajustar el volumen de inyección entre 10 y 20 µl de acuerdo con los resultados obtenidos en el ensayo de linealidad según se indica en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales de la *Solución estándar*

dar A o la Solución estándar B, según corresponda, y la Solución muestra, registrar los cromatogramas aproximadamente durante 50 minutos y medir las respuestas de los picos. En el cromatograma obtenido con cualquiera de las Soluciones estándar, la desamido insulina A-21 aparece como un pequeño pico después del pico principal y tiene un tiempo de retención de aproximadamente 1,3 respecto al pico principal. En el cromatograma obtenido a partir de la Solución muestra, la respuesta del pico correspondiente a desamido insulina A-21 no debe ser mayor que 3,0 % de la respuesta total de los picos. A excepción de los picos correspondiente a la insulina y a la desamido insulina A-21, la suma de las respuestas de todos los picos no debe ser mayor de 3,0 % de la respuesta total de los picos.

Inmunorreactividad similar a la de proinsulina (IPI)

No más de 10 ppm, calculado sobre la sustancia seca y determinado por un método inmunoquímico sensible y apropiado como por ejemplo, radioinmunoanálisis (ver 635. Métodos inmunoquímicos), empleando el Reactivo de Referencia Internacional para proinsulina porcina o proinsulina bovina, según corresponda, para calibrar el método.

Impurezas con peso molecular mayor que la insulina

Sistema cromatográfico - Examinar la Insulina correspondiente por cromatografía de exclusión por tamaño molecular, empleando un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 276 nm y una columna de 30 cm × 7,5 mm con fase estacionaria constituida por gel de sílice hidrofílico de 5 a 10 µm de diámetro en un grado apropiado para la separación del monómero de Insulina de los dímeros y polímeros. El caudal debe ser aproximadamente 0,5 ml por minuto.

Solución de arginina - Preparar una solución de L-arginina en agua de aproximadamente 1 mg por ml.

Fase móvil - Solución de arginina, acetonitrilo y ácido acético glacial (65:20:15). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución de resolución - Emplear una solución de Insulina de aproximadamente 4 mg por ml, que contenga más de 0,4 % de proteínas de alto peso molecular.

Se puede emplear una preparación inyectable de Insulina, tanto si es una solución como una suspensión, que ha sido aclarada con una cantidad suficiente de ácido clorhídrico 6 N, que contenga el porcentaje indicado de proteínas de elevada masa molecular o una solución preparada a partir de Insulina en polvo, disuelta en ácido clorhídrico 0,01 N. Esta última se

puede preparar dejando en reposo la Insulina en polvo a temperatura ambiente durante 10 días aproximadamente. [NOTA: mantener la temperatura de las soluciones entre 2 y 10 °C y emplearlas en un lapso de 7 días].

Solución muestra - Disolver 4 mg de la Insulina correspondiente en 1,0 ml de ácido clorhídrico 0,01 N.

[NOTA: si se emplea un inyector automático, mantener la temperatura entre 2 y 10 °C.]

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Equilibrar la columna mediante al menos tres inyecciones repetidas de Solución de resolución. La columna está equilibrada cuando se obtienen resultados repetitivos en dos inyecciones consecutivas. Cromatografiar la Solución de resolución y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención deben ser de 13 a 17 minutos para los complejos de insulina poliméricos; aproximadamente 17,5 minutos para los dímeros de insulina covalentes; aproximadamente 20 minutos para los monómeros de insulina, y aproximadamente 22 minutos para las sales; la resolución R definida por la relación entre la altura del pico del dímero y la altura del valle de separación entre los picos del monómero y del dímero debe ser mayor o igual de 2,0.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo 100 µl de la Solución muestra, registrar el cromatograma aproximadamente durante 35 minutos y medir las respuestas de los picos, ignorando cualquier pico con un tiempo de retención mayor que el del pico de la Insulina. La suma de las respuestas de los picos con un tiempo de retención menor que el del pico principal no debe ser mayor de 1,0 % de la respuesta total de los picos.

Cinc

No debe contener más de 1 % de cinc, calculado sobre la sustancia seca.

MÉTODO A

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad apropiada de cinc en ácido clorhídrico 0,01 N para obtener una solución de aproximadamente 5 mg por ml.

Soluciones estándar - Preparar soluciones que contengan 0,4; 0,8; 1,0; 1,2 y 1,6 µg de cinc por ml, preparadas en el momento de su uso por dilución de la Solución madre del estándar.

Solución muestra - Disolver 50,0 mg de la Insulina correspondiente en ácido clorhídrico 0,01 N y diluir a un volumen de 25,0 ml con el mismo ácido. Si fuera necesario, diluir con ácido clorhídrico 0,01 N hasta obtener una concentración de aproximadamente 0,4 a 1,6 µg de cinc por ml.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de las *Soluciones estándar* y de la *Solución muestra* en la línea de emisión del cinc a 213,9 nm, con un espectrofotómetro de absorción atómica (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*) equipado con una lámpara de cinc de cátodo hueco y una llama de acetileno-aire (aproximadamente 2 litros de acetileno y 11 litros de aire por minuto). Graficar las absorbancias de las *Soluciones estándar* en función de la concentración en µg por ml de cinc y determinar la concentración de cinc en µg por ml en la *Solución muestra*.

MÉTODO B

Proceder según se indica en *Determinación de cinc* <150>.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 214 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. Mantener la columna a 40 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1 ml por minuto.

Solución A - Disolver 28,4 g de sulfato de sodio anhidro en 1 litro de agua, agregar 2,7 ml de ácido fosfórico y ajustar a pH 2,3 con etanolamina, si fuera necesario. Filtrar y desgasificar.

Solución B - *Solución A* y acetonitrilo (55:45). Calentar la solución a una temperatura no inferior a 20 °C con el fin de evitar la precipitación (la mezcla es endotérmica). Filtrar y desgasificar.

Fase móvil - Emplear una mezcla de *Solución B* y *Solución A* (58:42). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar A - Disolver el contenido de un vial de Insulina Porcina SR-FA en ácido clorhídrico 0,01 N para obtener una solución de aproximadamente 4 mg por ml.

Preparación estándar B - Si la sustancia a ensayar es Insulina Bovina, disolver 40,0 mg de Insulina Bovina SR-FA en 10 ml de ácido clorhídrico 0,01 N.

Solución de comparación A - Transferir 1,0 ml de *Preparación estándar A* a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con ácido clorhídrico 0,01 N y mezclar.

Solución de comparación B - Transferir 1,0 ml de *Preparación estándar B* a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con ácido clorhídrico 0,01 N y mezclar.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 40 mg de la Insulina correspondiente, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver y completar a volumen con ácido clorhídrico 0,01 N y mezclar.

Solución de resolución - Disolver el contenido de un vial de Insulina Humana SR-FA en ácido clorhídrico 0,01 N para obtener una solución de aproximadamente 4 mg por ml. Mezclar 1,0 ml de esta solución con 1,0 ml de *Preparación estándar A*.

[NOTA: mantener las soluciones a una temperatura entre 2 y 10 °C y emplearlas dentro de las 48 horas siguientes. Si se emplea un inyector automático, mantener la temperatura entre 2 y 10 °C].

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y la *Preparación estándar A* según se indica en *Procedimiento* y registrar las respuestas de los picos de la *Solución de resolución* hasta que la respuesta correspondiente al pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación estándar A* se registre. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución de resolución*, identificar el pico debido a la insulina porcina y humana. El ensayo es válido si la resolución *R* entre los picos correspondientes a la insulina porcina y a la insulina humana no es menor de 1,2. Si fuera necesario, ajustar la concentración de acetonitrilo en la *Fase móvil* hasta lograr la resolución requerida.

Para *Insulina Porcina* - Cromatografiar la *Preparación estándar A* y la *Solución de comparación A* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el ensayo sólo es válido si la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación estándar A* es $10 \pm 0,5$ veces la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución de comparación A*. Si el ensayo no es válido, ajustar el volumen de inyección entre 10 y 20 µl, con el fin de estar comprendido dentro del intervalo de linealidad del detector.

Para *Insulina Bovina* - Cromatografiar la *Preparación estándar B* y la *Solución de comparación B* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el ensayo sólo es válido si la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación estándar B* es $10 \pm 0,5$ veces la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución de comparación B*. Si el ensayo no es válido, ajustar el volumen de inyección entre 10 y 20 µl, con el fin de estar comprendido dentro del intervalo de linealidad del detector.

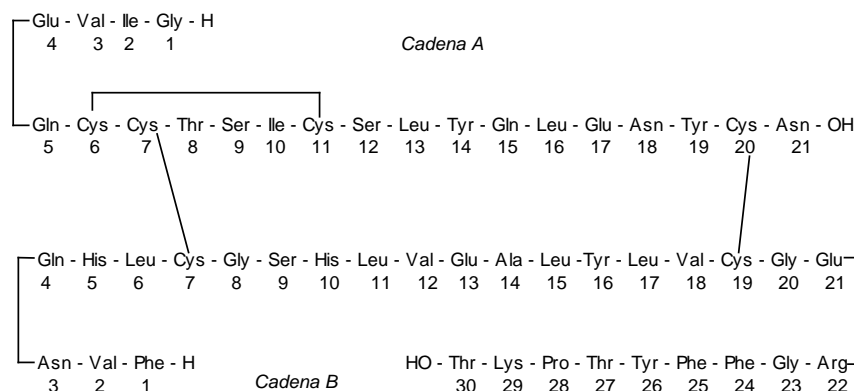
Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución muestra*, la *Preparación estándar A* y la *Solución de comparación A* para la Insulina Porcina o, para la Insulina Bovina, de la *Preparación estándar B* y de la *Solución de comparación B*; registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos. Calcular el contenido en Insulina Bovina o Porcina, según corresponda, más el correspondiente a la desamido insulina A-21, a partir de la respuesta del

pico principal y de la respuesta del pico debido a la desamido insulina A-21 en los cromatogramas obtenidos con la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* apropiada, y el contenido declarado de Insulina Porcina más el de la desamido insulina porcina A-21 en la Insulina Porcina SR-FA, o de la Insulina Bovina más el de la desamido insulina bovina A-21 en la Insulina Bovina SR-FA.

ROTULADO

Indicar en el rótulo la especie o especies animales de las cuales fue obtenida. Se debe indicar en el rótulo cuando la Insulina sea estéril y apirógena.

INSULINA HUMANA



Insulina Humana

$C_{257}H_{383}N_{65}O_{77}S_6$

PM: 5807,6

11061-68-0

Definición - La Insulina Humana es una proteína que tiene la estructura de la hormona producida por el páncreas humano. El contenido de Insulina Humana más el correspondiente a desamido insulina A-21, debe ser no menor de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento, calculado sobre la sustancia seca. [NOTA: una Unidad Internacional de Insulina equivale a 0,0347 mg de Insulina Humana]. Se produce por modificación enzimática (semisintética) y apropiada purificación a partir de insulina obtenida del páncreas porcino o por un método basado en tecnología de ADN recombinante (ADNr).

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Soluble en ácidos minerales diluidos y con descomposición del producto, en soluciones diluidas de hidróxidos alcalinos; prácticamente insoluble en agua, alcohol y éter.

Sustancias de referencia - Insulina Humana SR-FA. Insulina Porcina SR-FA. Reactivo de Referencia Internacional para Proinsulina Porcina. Reactivo de Referencia Internacional para Proinsulina Humana.

Producción - La Insulina Humana debe ser obtenida a condiciones apropiadas para minimizar la contaminación microbiana. Para la Insulina Humana producida por modificación enzimática de la insulina obtenida del páncreas porcino, el proceso de manufactura debe ser validado para demostrar la remoción de cualquier componente con actividad proteolítica. Para Insulina Humana producida por un método basado en tecnología ADNr, antes de la liberación de cada lote de materia prima pura se deben realizar los siguientes ensayos: contenido de proteínas derivadas de

la célula hospedadora determinado mediante un método apropiado y validado el que no debe ser mayor de 10 ppm y debe cumplir además con el ensayo de *ADN derivado de la célula hospedadora y del vector*, con los límites aprobados por la Autoridad Sanitaria (ver 1120. *Productos biotecnológicos*).

CONSERVACIÓN

En envases inactivos herméticos, a una temperatura de -20 °C. Cuando se descongela, la insulina se debe conservar entre 2 y 8 °C y se debe emplear en la fabricación de preparaciones dentro de un período de tiempo corto.

ENSAYOS

Identificación

A - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* debe ser similar al obtenido con la *Preparación estándar A*.

B - Examinar mediante mapeo peptídico.

Sistema cromatográfico, Solución reguladora de sulfato, Fase móvil, Solución de enzima, Solución reguladora de HEPES y Procedimiento - Proceder según se indica para el ensayo de *Identificación B* en *Insulina Bovina e Insulina Porcina*.

Solución de digestión muestra - Preparar una solución de 2 mg por ml de Insulina Humana en ácido clorhídrico 0,01 N y transferir 500 µl de la solución resultante a un recipiente con tapa apropiado. Agregar 2,0 ml de *Solución reguladora de HEPES* y 400 µl de *Solución de enzima*, tapar e incubar a 25 °C durante 6 horas. Inhibir el proceso de digestión agre-

gando 2,9 ml de *Solución reguladora de sulfato*.

Solución de digestión estándar - Preparar al mismo tiempo y de la misma manera que la solución de digestión de la muestra, pero empleando el estándar de Insulina Humana SR-FA.

Aptitud del sistema (ver 100 *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de digestión muestra* y la *Solución de digestión estándar* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el cromatograma obtenido a partir de la *Solución de digestión muestra* debe tener un perfil cromatográfico similar al cromatograma obtenido con la *Solución de digestión estándar*. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución de digestión estándar* identificar los picos debidos a los fragmentos de digestión I, II y III. El factor de asimetría de los picos de los fragmentos de digestión II y III no debe ser mayor de 1,5; la resolución *R* entre los mismos no debe ser menor de 3,4. [NOTA: el tiempo de retención para el fragmento I debe ser el mismo para la insulina porcina y para la insulina humana; el tiempo de retención del fragmento II debe ser el mismo para todas las insulinas; el tiempo de retención del fragmento III debe ser el mismo para la Insulina Porcina SR-FA].

Bioidentidad

Proceder según se indica en el ensayo de Bioidentidad en *Insulina Bovina e Insulina Porcina* - El ensayo es válido si el valor de potencia representa no menos de 70 % de la potencia declarada.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando la Insulina Humana esté destinada a la preparación de formas farmacéuticas inyectables sin posterior tratamiento de esterilización debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando la Insulina Humana esté destinada a la preparación de formas farmacéuticas inyectables sin posterior tratamiento de eliminación de endotoxinas bacterianas por un procedimiento apropiado, debe contener menos de 10 Unidades de Endotoxina por mg.

Pérdida por secado <680>

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Insulina Humana y secar entre 100 y 105 °C durante 24 horas: no debe perder más de 10,0 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

No más de 2,5 %, determinado a partir de 200 mg de Insulina Humana y calculado sobre la sustancia seca.

Proteínas relacionadas

Sistema cromatográfico, Solución A, Solución B y Solución de comparación A - Proceder según se

indica en *Valoración*.

Fase móvil y Aptitud del sistema - Proceder según se indica para el ensayo de *Proteínas relacionadas en Insulina Bovina e Insulina Porcina*.

Solución estándar A - Emplear la *Preparación estándar A* según se indica en *Valoración*.

Solución estándar B - Emplear la *Preparación estándar B* según se indica en *Valoración*.

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* según se indica en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución muestra*, la *Solución estándar A*, la *Solución estándar B* y la *Solución de comparación A*, registrar los cromatogramas aproximadamente durante 50 minutos y medir las respuestas de los picos. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar A*, la desamido insulina A-21 aparece como un pequeño pico después del pico principal y tiene un tiempo de retención aproximadamente de 1,3 respecto del pico principal. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta del pico correspondiente a la desamido insulina A-21 no debe ser mayor de 2,0 % de la respuesta total de los picos. A excepción de las respuestas de los picos de insulina y desamido insulina A-21, la suma de las respuestas de todos los picos no debe ser mayor de 2,0 % de la respuesta total de los picos. Sólo para insulina humana semisintética: en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*, la respuesta de cualquier pico correspondiente al pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar B* no debe ser mayor que la respuesta del pico correspondiente en el cromatograma obtenido con la *Solución de comparación A* (1 % de insulina porcina en la Insulina Humana).

Inmunorreactividad similar a la de proinsulina (IPI)

No más de 10 ppm, calculado sobre la sustancia seca y determinado por un método inmunoquímico sensible y apropiado, como por ejemplo, radioinmunoanálisis (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*). Para Insulina Humana producida por modificación enzimática de Insulina Porcina emplear el Reactivo de Referencia Internacional para Proinsulina Porcina para calibrar el método. Para Insulina Humana producida por tecnología ADNr emplear el Reactivo de Referencia Internacional para Proinsulina Humana cuando corresponda realizar este ensayo.

Impurezas con peso molecular mayor que la insulina

Proceder según se indica para *Impurezas de peso molecular mayor que la Insulina* en *Insulina Bovina e Insulina Porcina*. La suma de las respuestas de los

picos con un tiempo de retención menor que el del pico principal no debe ser mayor de 1,0 % de la respuesta total de los picos.

Cinc

Proceder según se indica para *Cinc* en *Insulina Bovina e Insulina Porcina*. No debe contener más de 1 % calculado sobre la sustancia seca.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Solución A, Solución B y Fase móvil - Proceder según se indica en *Valoración de Insulina Bovina e Insulina Porcina*.

Preparación estándar A - Disolver el contenido de un vial de Insulina Humana SR-FA en ácido clorhídrico 0,01 N para obtener una solución de aproximadamente 4 mg por ml.

Preparación estándar B - Disolver el contenido de un vial de Insulina Porcina SR-FA en ácido clorhídrico 0,01 N para obtener una solución de aproximadamente 4 mg por ml.

Solución de comparación A - Transferir 1,0 ml de *Preparación estándar B* a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con ácido clorhídrico 0,01 N y mezclar. A 1,0 ml de esta solución agregar 1,0 ml de *Preparación estándar A*.

Solución de comparación B - Transferir 1,0 ml de la *Preparación estándar A* a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con ácido clorhídrico 0,01 N y mezclar.

Preparación muestra - Pesar exactamente alrededor de 40 mg de Insulina Humana, disolver en ácido clorhídrico 0,01 N y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución de resolución - Emplear una mezcla de 1,0 ml de *Preparación estándar A* y 1,0 ml de *Preparación estándar B*.

[NOTA: mantener las soluciones a una temperatura entre 2 y 10 °C y emplearlas dentro de las 48 horas siguientes. Si se emplea un inyector automático, mantener la temperatura entre 2 y 10 °C.]

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y la *Preparación estándar B*, registrar las respuestas de los picos de la *Solución de resolución* hasta que la respuesta correspondiente al pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación estándar B* se registre. En el cromatograma obtenido con la *Solución de resolución*, identificar el pico debido a insulina porcina y a insulina humana. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución de resolución*, la resolución *R* entre los picos correspondientes a la insulina porcina y a la insulina humana no debe ser menor de 1,2. Si fuera necesario, ajustar la concentración de acetonitrilo en la *Fase móvil* hasta lograr la

resolución requerida. Cromatografiar la *Preparación muestra*, *Preparación estándar A* y la *Solución de comparación B*, registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el ensayo sólo es válido si la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación estándar A* es $10 \pm 0,5$ veces la respuesta del pico principal en el cromatograma obtenido con la *Solución de comparación B*. Si el ensayo no es válido, ajustar el volumen de inyección entre 10 y 20 μ l, con el fin de que la respuesta esté comprendida en el intervalo de linealidad del detector.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar A*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos. Calcular el contenido en Insulina Humana, más el correspondiente a la desamido insulina humana A-21, a partir de la respuesta del pico principal y de la respuesta del pico debido a la desamido insulina humana A-21 en los cromatogramas obtenidos a partir de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar A*, y el contenido declarado de Insulina Humana más el de la desamido insulina porcina A-21 en la Insulina Humana SR-FA.

ROTULADO

Indicar en el rótulo si la Insulina Humana se ha producido por modificación enzimática de la Insulina Porcina o por tecnología de ADN recombinante. Se debe indicar en el rótulo cuando la Insulina Humana sea estéril y apirógena.

INSULINA

PREPARACIONES INYECTABLES

Las Preparaciones Inyectables de Insulina deben cumplir con los requisitos para *Inyectables* en 1050. *Formas farmacéuticas*.

La presente monografía se aplica a la siguiente lista de Preparaciones de Insulina:

Insulina Corriente Solución Inyectable
Insulina Cinc Amorfa Suspensión Inyectable
Insulina Cinc Cristalina Suspensión Inyectable
Insulina Cinc Suspensión Inyectable.
Insulina Cinc Protamina Suspensión Inyectable.
Insulina Bifásica Suspensión Inyectable
Insulina Isófana Suspensión Inyectable
Insulina Isófana Bifásica Suspensión Inyectable.

Definición - Las Preparaciones Inyectables de Insulina son preparaciones estériles e isotónicas de *Insulina Humana*, *Insulina Bovina* o *Insulina Porcina*. Deben contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la cantidad declarada de insulina y deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancias de referencia - Insulina Bovina SR-FA. Insulina Humana SR-FA. Insulina Porcina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos estériles, apirógenos herméticos y con cierre de seguridad, en un refrigerador. No congelar.

ENSAYOS

Determinación del pH <250>

Entre 6,9 y 7,8, determinado sobre una solución o suspensión, excepto que se indique lo contrario en la monografía correspondiente.

Proteínas relacionadas

Solución A, *Solución B*, *Preparaciones estándar A*, *B*, *C*, *D* y *E*, *Solución de comparación A*, *Solución de comparación B*, *Solución de resolución* y *Preparación muestra* - Proceder según se indica en *Valoración*. [NOTA: mantener las soluciones entre 2 y 10 °C y emplear dentro de las 24 horas de su preparación].

Sistema cromatográfico - Proceder según se indica en *Valoración*. Programar el cromatógrafo del siguiente modo:

Tiempo (minutos)	Solución A (%)	Solución B (%)	Etapas
0-30	42	58	Isocrático
30-44	42→11	58→89	Gradiente Lineal
44-50	11	89	Isocrático

Fase móvil - Emplear mezclas de la *Solución A* y la *Solución B* según se indica en *Sistema cromatográfico*. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Determinar la resolución y linealidad del sistema procediendo según se indica en *Valoración*. Si fuera necesario, se pueden ajustar las proporciones relativas de la *Fase móvil* para asegurar la elusión completa de la desamido insulina A-21 porcina antes del comienzo del gradiente. El perfil del gradiente puede ajustarse para asegurar la elusión completa de todas las impurezas relacionadas de la insulina. Si fuera necesario, ajustar el volumen de inyección entre 10 y 20 µl de acuerdo con los resultados obtenidos en el ensayo de linealidad según se indica en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 o 20 µl) de la *Preparación estándar A*, *B*, *C*, o *D*, según corresponda para las preparaciones que contienen 100 UI por ml, o *Preparación estándar E* para las preparaciones que contienen 40 UI por ml y la *Preparación muestra*. Registrar los cromatogramas aproximadamente durante 50 minutos y medir las respuestas de los picos. Si fuera necesario, realizar ajustes posteriores en la *Fase móvil* con el fin de asegurar que los conservantes antimicrobianos presentes en la *Preparación muestra* se separen bien de la insulina y presenten un tiempo de retención más corto. Una pequeña disminución en la concentración de acetonitrilo incrementa, relativamente más, el tiempo de retención de los picos de insulina que el de los conservantes. En el cromatograma obtenido con cualquiera de las *Preparaciones estándar*, la desamido insulina A-21 debe aparecer como un pequeño pico después del pico principal de insulina y debe tener un tiempo de retención relativo de aproximadamente 1,3 respecto de éste. En el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra*, la respuesta del pico correspondiente a desamido insulina A-21 no debe ser mayor que 5,0 % de la respuesta total de los picos. A excepción de los picos correspondientes a la insulina y a la desamido insulina A-21, la suma de las respuestas de todos los picos no debe ser mayor de 6,0 % de la respuesta total de los picos. Ignorar

cualquier pico correspondiente a los conservantes y a la protamina (picos que eluyen primero).

Insulina en el líquido sobrenadante

No más de 2,5 % del contenido total de insulina para Preparaciones Inyectables de Insulina que son suspensiones, salvo indicación contraria.

Procedimiento - Centrifugar 10 ml de la suspensión, a 1.500 g durante 10 minutos y separar cuidadosamente el líquido sobrenadante del residuo. Determinar el contenido de insulina en el líquido sobrenadante (S) por un método apropiado, por ejemplo empleando las condiciones cromatográficas descritas en *Valoración*. Calcular el porcentaje de insulina en solución, por la fórmula siguiente:

$$100S/T$$

en la cual *T* es el contenido total de insulina determinada.

Impurezas con peso molecular mayor que la insulina

Sistema cromatográfico - Examinar la Insulina correspondiente por cromatografía de exclusión por tamaño molecular, empleando un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 276 nm y una columna de 30 cm x 7,5 mm con fase estacionaria constituida por gel de sílice hidrofílico de 5 a 10 µm de diámetro en un grado apropiado para la separación del monómero de Insulina de los dímeros y polímeros. El caudal debe ser aproximadamente 0,5 ml por minuto.

Solución de arginina - Preparar una solución de L-arginina en agua de aproximadamente 1 mg por ml.

Fase móvil - *Solución de arginina*, acetonitrilo y ácido acético glacial (65:20:15). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en *100 Cromatografía*).

Solución de resolución - Emplear una solución de Insulina de aproximadamente 4 mg por ml, que contenga más de 0,4 % de proteínas de alto peso molecular. Se puede emplear una Preparación Inyectable de Insulina, tanto si es una solución como una suspensión, que ha sido aclarada con una cantidad suficiente de ácido clorhídrico 6 N, que contenga el porcentaje indicado de proteínas de elevada masa molecular o una solución preparada a partir de Insulina en polvo, disuelta en ácido clorhídrico 0,01 N. Esta última se puede preparar dejando en reposo a temperatura ambiente durante 10 días aproximadamente, la solución preparada con insulina en polvo. [NOTA: mantener la temperatura de las soluciones entre 2 y 10 °C y emplearlas dentro de las 30 horas (Preparaciones

Inyectables de Insulina Soluble) o antes de 7 días (otras Preparaciones de Insulina) de su preparación. Si se emplea un inyector automático mantener la temperatura entre 2 y 10 °C].

Solución muestra - Proceder según se indica en *Preparación muestra* en *Valoración*.

Aptitud del sistema (ver *100. Cromatografía*) - Antes de emplear una columna nueva, equilibrar la columna mediante al menos tres inyecciones repetidas de *Solución de resolución*. La columna está equilibrada cuando se obtienen resultados repetitivos en dos inyecciones consecutivas. Si se van a analizar las muestras que contienen protamina, el equilibrado de la columna se realiza empleando una solución que contenga protamina.

Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: los tiempos de retención deben ser aproximadamente entre 13 y 17 minutos para los complejos de insulina poliméricos o complejos covalentes de insulina-protamina; 17,5 minutos para los dímeros de insulina covalentes; 20 minutos para los monómeros de insulina y 22 minutos para las sales. Si la solución en ensayo contiene conservantes, como por ejemplo metilparabeno, *m*-cresol o fenol, estos compuestos deben eluir más tarde; la resolución *R* entre el pico de dímero y el valle de separación entre los picos de monómero y dímero debe ser mayor o igual a 2,0.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 100 µl de la *Solución muestra*, registrar el cromatograma aproximadamente durante 35 minutos y medir las respuestas de los picos. Ignorar cualquier pico con un tiempo de retención mayor que el del pico de la Insulina. La suma de las respuestas de los picos con un tiempo de retención menor que el del pico principal no debe ser mayor de 3,0 % (para las preparaciones que contienen protamina) y del 2,0% (para las preparaciones que no la contienen) de la respuesta total de los picos.

Cinc total

No debe contener más de la cantidad indicada en cada monografía.

Proceder del siguiente modo, salvo indicación contraria de la monografía correspondiente.

MÉTODO A

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad apropiada de cinc en ácido clorhídrico 0,01 N para obtener una solución de aproximadamente 5 mg por ml.

Soluciones estándar - Diluir la *Solución madre del estándar* con ácido clorhídrico 0,01 N para obtener soluciones de aproximadamente 0,4; 0,8;

1,0; 1,2 y 1,6 µg de cinc por ml. [NOTA: preparar estas soluciones en el momento de su uso].

Solución muestra - Transferir un volumen de la Preparación Inyectable de Insulina que contenga 200 UI por ml de Insulina, a un matraz aforado de 25,0 ml, disolver en ácido clorhídrico 0,01 N, agitando suavemente y completar a volumen con el mismo solvente. Si fuera necesario, diluir con ácido clorhídrico 0,01 N para obtener una solución entre 0,4 y 1,6 µg de cinc por ml.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de las *Soluciones estándar* y la *Solución muestra* en la línea de emisión del cinc a 213,9 nm, con un espectrofotómetro de absorción atómica (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*) equipado con una lámpara de cinc de cátodo hueco y una llama de acetileno-aire (aproximadamente 2 litros de acetileno y 11 litros de aire por minuto). Graficar las absorbancias de las *Soluciones estándar* en función de la concentración en µg por ml de cinc y determinar la concentración de cinc en µg por ml en la *Solución muestra*.

MÉTODO B

Proceder según se indica en *Determinación de cinc <150>*.

Cinc en solución

Cuando corresponda, el contenido no debe ser mayor al indicado en la monografía correspondiente.

MÉTODO A

Solución madre del estándar, Soluciones estándar y Procedimiento - Proceder según se indica en *Método A* en *Cinc total*.

Solución muestra - Diluir 1 ml del líquido sobrenadante límpido obtenido mediante centrifugación de la Preparación Inyectable de Insulina a 25,0 ml con agua. Diluir con agua, si fuera necesario, para obtener una solución entre 0,4 y 1,6 µg de cinc por ml.

MÉTODO B

Proceder según se indica en *Determinación de cinc <150>*.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 80 Unidades de Endotoxina por 100 UI de Insulina.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 214 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida

por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. Mantener la columna a 40 °C. El caudal debe ser aproximadamente 1 ml por minuto.

[NOTA: preparar y mantener las soluciones a una temperatura no menor de 20 °C con el fin de evitar la precipitación].

Solución A - Disolver 28,4 g de sulfato de sodio anhidro en 1 litro de agua. Agregar 2,7 ml de ácido fosfórico y ajustar a pH 2,3 con etanolamina, si fuera necesario.

Solución B - *Solución A* y acetonitrilo (55:45). Calentar la solución a una temperatura no inferior a 20 °C.

Fase móvil - *Solución B* y *Solución A* (58:42). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar A - Disolver el contenido de un envase de Insulina Porcina SR-FA en ácido clorhídrico 0,01 N para obtener una solución de aproximadamente 4 mg por ml.

Preparación estándar B - Si la sustancia en ensayo es Insulina Bovina, disolver 40,0 mg de Insulina Bovina SR-FA en 10 ml de ácido clorhídrico 0,01 N.

Preparación estándar C - Disolver el contenido de un envase de Insulina Humana SR-FA en ácido clorhídrico 0,01 N para obtener una solución de aproximadamente 4 mg por ml.

[NOTA: las *Preparaciones estándar A, B o C* se emplean para preparaciones que contienen una sola especie de insulina].

Preparación estándar D - Mezclar 1 ml de *Preparación estándar A* y 1 ml de *Preparación estándar B*. [NOTA: esta solución se emplea para preparaciones que contienen mezcla de Insulina Bovina e Insulina Porcina].

Preparación estándar E - Diluir 4 ml de la *Preparación estándar A, B, C o D* correspondiente en 10 ml ácido clorhídrico 0,01 N.

Solución de comparación A - Transferir 1,0 ml de *Preparación estándar A, B, C o D* según corresponda a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con ácido clorhídrico 0,01 N y mezclar.

Solución de comparación B - Transferir 1,0 ml de *Preparación estándar E*, acorde a la muestra a analizar, a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con ácido clorhídrico 0,01 N y mezclar.

Preparación muestra - Agregar a la Preparación Inyectable de Insulina (solución o suspensión en ensayo) 4 µl de ácido clorhídrico 6 N por ml, para obtener una solución límpida de insulina. Cuando la muestra es una suspensión, agitar el material previamente con el fin de obtener una muestra homogénea. Si la suspensión no se

vuelve límpida dentro de los 5 minutos siguientes a la adición inicial de ácido clorhídrico, agregar más ácido en pequeñas alícuotas (en el orden de 4 µl por ml) hasta solubilización. Las preparaciones con concentraciones mayores a 100 UI por ml deben ser diluidas con ácido clorhídrico 0,01 N con el fin de evitar la sobrecarga de la columna con el monómero de insulina.

Solución de resolución - Mezclar 1,0 ml de *Preparación estándar C* con 1,0 ml de *Preparación estándar A*.

[NOTA: mantener las soluciones entre 2 y 10 °C y emplearlas dentro de las 48 de su preparación. Si se emplea un inyector automático, mantener la temperatura entre 2 y 10 °C].

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y la *Preparación estándar A* según se indica en *Procedimiento* y registrar las respuestas de los picos de la *Solución de resolución* hasta que la respuesta correspondiente al pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación estándar A* se registre. En el cromatograma obtenido a partir de la *Solución de resolución*, identificar el pico de insulina porcina y humana. El ensayo sólo es válido si la resolución *R* entre los picos correspondientes a la insulina porcina y a la insulina humana no es menor de 1,2. Si fuera necesario, ajustar la concentración de acetonitrilo en la *Fase móvil* hasta lograr la resolución requerida.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 µl) de la *Solución muestra*, la *Preparación estándar correspondiente A, B, C o D* y la *Solución de comparación A* para preparaciones de insulina que contienen 100 UI por ml o *Preparación estándar E* y *Solución de comparación B* para preparaciones de insulina que contienen 40 UI por ml. Si fuera necesario, realizar nuevos ajustes en la *Fase móvil*, para asegurar que los conservantes antimicrobianos presentes en la *Preparación muestra* se separen bien de la insulina y muestren tiempos de retención menores. Una pequeña reducción de la concentración de acetonitrilo incrementa el tiempo de retención de los picos de insulina más que el de los conservantes. Si fuera necesario, después de la cromatografía, lavar la columna con una mezcla, de volúmenes iguales, de acetonitrilo y agua, durante el tiempo suficiente para asegurar la elusión de sustancias que puedan interferir, antes de inyectar la solución siguiente. El ensayo solo es válido si la respuesta del pico principal del cromatograma obtenido con las *Preparaciones estándar A, B, C o D* o *Solución de comparación A* es $10 \pm 0,5$ veces la respuesta del

pico principal del cromatograma obtenido con la *Solución de comparación A* o *B*. Si el ensayo no es válido, ajustar el volumen de inyección entre 10 y 20 µl, con el fin de estar dentro de los límites de linealidad del detector.

Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos. Calcular el contenido en Insulina Bovina, Porcina o Humana según corresponda, más el correspondiente a la desamido insulina A-21, a partir de la respuesta del pico principal y de la respuesta del pico correspondiente a la desamido insulina A-21 en los cromatogramas obtenidos a partir de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar* correspondiente empleando la cantidad declarada de Insulina más la correspondiente de la desamido insulina A-21 en Insulina Porcina SR-FA, en Insulina Bovina SR-FA y en Insulina Humana SR-FA. Para preparaciones que contengan Insulina Bovina y Porcina, emplear la suma de las respuestas de ambos picos de insulina bovina y porcina y la suma de las respuestas de los correspondientes picos de las desamido insulina A-21, bovina y porcina. [NOTA: 100 UI corresponden a 3,47 mg de insulina humana, a 3,45 mg de insulina porcina y a 3,42 mg de insulina bovina].

ROTULADO

Indicar en el rótulo:

- la actividad de la insulina en UI por ml,
- la concentración en términos del número de mg de insulina por ml (para preparaciones que contengan tanto insulina bovina como porcina, la concentración se expresa como la suma de las cantidades de ambas),
- cuando corresponda, indicar: que la insulina se ha obtenido por modificación enzimática de la insulina porcina o mediante técnicas de recombinación de ADN; la especie animal de origen; que la preparación debe ser resuspendida antes de su uso.

En el rótulo debe figurar la siguiente leyenda: “No congelar”.

INSULINA CORRIENTE

SOLUCIÓN INYECTABLE

La Solución Inyectable de Insulina Corriente debe cumplir con los requisitos especificados en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

Definición - La Solución Inyectable de Insulina Corriente es una solución neutra y estéril de *Insulina Bovina*, *Insulina Porcina* o *Insulina Humana*. Debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido límpido e incoloro.

CONSERVACIÓN

Debe cumplir con los requisitos en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico correspondiente a la insulina en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar* correspondiente.

Cinc total

Proceder según se indica en *Cinc total* en *Preparaciones Inyectables de Insulina*. No debe contener más de 40 µg de cinc por 100 UI de insulina.

Solución muestra - Transferir un volumen de la Solución Inyectable de Insulina Corriente, equivalente a 200 UI de insulina, a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Diluir con agua, si fuera necesario, para obtener una solución entre 0,4 µg y 1,6 µg de cinc por ml.

VALORACIÓN

Proceder según se indica en *Valoración* en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

ROTULADO

Debe cumplir con los requisitos en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

INSULINA CINC AMORFA

SUSPENSIÓN INYECTABLE

La Suspensión Inyectable de Insulina Cinc Amorfa debe cumplir con los requisitos especificados en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

Definición - La Suspensión Inyectable de Insulina Cinc Amorfa es una suspensión neutra y estéril de *Insulina Bovina*, *Insulina Porcina* o *Insulina Humana*, formando un complejo con una sal de cinc. La insulina se encuentra en una forma prácticamente insoluble en agua y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Suspensión de color blanco que sedimenta cuando está en reposo, dando lugar a un sedimento blanco y un líquido sobrenadante incoloro o casi incoloro; el sedimento se resuspende completamente por agitación suave. Cuando se examina al microscopio, las partículas que se observan no tienen forma homogénea y su tamaño máximo raramente excede los 2 μm .

CONSERVACIÓN

Debe cumplir con los requisitos en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico correspondiente a la insulina en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar* correspondiente.

Cinc total

Proceder según se indica en *Cinc total* en *Preparaciones Inyectables de Insulina*. Debe contener entre 0,12 y 0,25 mg de cinc por 100 UI de insulina.

Cinc en solución

Proceder según se indica en *Cinc en solución* en *Preparaciones Inyectables de Insulina*. Entre 20 y 65 % del cinc total debe presentarse en la forma de cinc en solución.

VALORACIÓN

Proceder según se indica en *Valoración* en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

ROTULADO

Debe cumplir con los requisitos en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

INSULINA CINC CRISTALINA

SUSPENSIÓN INYECTABLE

La Suspensión Inyectable de Insulina Cinc Cristalina debe cumplir con los requisitos especificados en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

Definición - La Suspensión Inyectable de Insulina Cinc Cristalina es una suspensión neutra y estéril de *Insulina Bovina*, *Insulina Porcina* o *Insulina Humana*, formando un complejo con una sal de cinc. La insulina está en una forma prácticamente insoluble en agua y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Suspensión de color blanco que sedimenta cuando está en reposo, dando lugar a un sedimento blanco y un líquido sobrenadante incoloro o casi incoloro; el sedimento se resuspende completamente por agitación suave. Cuando se examina al microscopio, la mayoría de las partículas aparecen como cristales romboédricos, cuya dimensión máxima, medida de vértice a vértice del cristal, es superior a 10 μm , pero raramente excede los 40 μm .

CONSERVACIÓN

Debe cumplir con los requisitos en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico correspondiente a la insulina en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar* correspondiente.

Insulina no extraíble con solución reguladora en acetona

Solución reguladora en acetona - Disolver 8,15 g de acetato de sodio y 42 g de cloruro de sodio en agua. Agregar 68 ml de ácido clorhídrico 0,1 N, 150 ml de acetona y diluir a 500 ml con agua.

Procedimiento - Centrifugar un volumen de la Suspensión Inyectable de Insulina Cinc Cristalina equivalente a 200 UI de insulina y descartar el líquido sobrenadante. Resuspender el residuo en 1,65 ml de agua, agregar 3,3 ml de *Solución reguladora en acetona*, agitar durante 3 minutos, centrifugar nuevamente descartando el líquido sobrenadante y repetir todas las operaciones con el residuo.

Disolver el residuo en ácido clorhídrico 0,1 N hasta un volumen final de 2,0 ml. Determinar el contenido de insulina en el residuo (*R*) así como el contenido total de insulina (*T*) de un volumen igual de la suspensión. Calcular el porcentaje de insulina no extraíble con *Solución reguladora de acetona* por la fórmula siguiente:

$$100R/T$$

El porcentaje no debe ser mayor de 90 % de la cantidad total de insulina.

Cinc total

Proceder según se indica en *Cinc total* en *Preparaciones Inyectables de Insulina*. Debe contener entre 0,12 y 0,25 mg de cinc por 100 UI de insulina.

Cinc en solución

Proceder según se indica en *Cinc en solución* en *Preparaciones Inyectables de Insulina*. Entre 20 y 65 % del cinc total debe presentarse en la forma de cinc en solución.

VALORACIÓN

Proceder según se indica en *Valoración* en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

ROTULADO

Debe cumplir con los requisitos en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

INSULINA CINC

SUSPENSIÓN INYECTABLE

La Suspensión Inyectable de Insulina Cinc debe cumplir con los requisitos especificados en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

Definición - La Suspensión Inyectable de Insulina Cinc es una suspensión neutra y estéril de *Insulina Bovina*, *Insulina Porcina*, ambas o *Insulina Humana*, formando un complejo con una sal de cinc. Es una mezcla de 7 partes de Suspensión Inyectable de Insulina Cinc Cristalina y 3 partes de Suspensión Inyectable de Insulina Cinc Amorfa. La insulina debe presentarse en una forma prácticamente insoluble en agua.

Caracteres generales - Suspensión de color blanco que sedimenta cuando está en reposo, dando lugar a un sedimento blanco y un líquido sobrenadante incoloro o casi incoloro; el sedimento se resuspende por agitación suave. Cuando se examina al microscopio, la mayoría de las partículas aparecen como cristales romboédricos, cuya dimensión máxima, medida de vértice a vértice del cristal, es superior a 10 μm , pero raramente excede los 40 μm ; una proporción considerable de las partículas no presentan forma homogénea y tienen una dimensión máxima que raramente excede de 2 μm .

CONSERVACIÓN

Debe cumplir con los requisitos en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. Para preparaciones obtenidas a partir de una única especie de insulina (bovina, porcina o humana) el tiempo de retención del pico correspondiente a la insulina en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar* correspondiente. Para preparaciones obtenidas a partir de una mezcla de insulina porcina y bovina, los tiempos de retención de los picos correspondientes a las dos insulinas en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se deben corresponder con los de la *Preparación estándar* correspondiente.

Insulina no extraíble con solución reguladora en acetona

Proceder según se indica en *Insulina no extraíble con solución reguladora en acetona* en *Suspensión Inyectable de Insulina Cinc Cristalina*.

El porcentaje debe estar comprendido entre 63 y 77 % de la cantidad total de insulina.

Cinc total

Proceder según se indica en *Cinc total* en *Preparaciones Inyectables de Insulina*. Debe contener entre 0,12 y 0,25 mg de cinc por 100 UI de insulina.

Cinc en solución

Proceder según se indica en *Cinc en solución* en *Preparaciones Inyectables de Insulina*. Entre 20 y 65 % del cinc total debe presentarse en la forma de cinc en solución.

VALORACIÓN

Proceder según se indica en *Valoración* en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

ROTULADO

Debe cumplir con los requisitos en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

INSULINA CINC PROTAMINA SUSPENSIÓN INYECTABLE

ROTULADO

Debe cumplir con los requisitos en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

La Suspensión Inyectable de Insulina Cinc Protamina debe cumplir con los requisitos especificados en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

Definición - La Suspensión Inyectable de Insulina Cinc Protamina es una suspensión neutra y estéril de *Insulina Bovina*, *Insulina Porcina* o *Insulina Humana*, formando un complejo con *Sulfato de Protamina* u otra sal de protamina y cloruro de cinc u otra sal de cinc. Debe contener una cantidad de Sulfato de Protamina entre 1,0 y 1,7 mg por 100 UI de insulina. Debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Suspensión de color blanco que sedimenta cuando está en reposo, dando lugar a un sedimento blanco y un líquido sobrenadante incoloro o casi incoloro; el sedimento se resuspende completamente por agitación suave. Cuando se examina al microscopio, aproximadamente el 50 % de las partículas que se observan no tienen forma homogénea y su tamaño máximo raramente excede los 2 μm . Las partículas remanentes aparecen como cristales cilíndricos alargados, la mayoría de un tamaño superior a 10 μm que raramente excede los 100 μm .

CONSERVACIÓN

Debe cumplir con los requisitos en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico correspondiente a la insulina en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar* correspondiente.

Cinc total

Proceder según se indica en *Cinc total* en *Preparaciones Inyectables de Insulina*. Debe contener entre 20,0 y 25,0 mg de cinc por 100 UI de insulina.

VALORACIÓN

Proceder según se indica en *Valoración* en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

INSULINA BIFÁSICA, SUSPENSIÓN INYECTABLE

La Suspensión Inyectable de Insulina Bifásica debe cumplir con los requisitos especificados en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

Definición - La Suspensión Inyectable de Insulina Bifásica es una suspensión estéril de cristales de *Insulina Bovina* en una solución de *Insulina Porcina* y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Suspensión de color blanco. Cuando se examina al microscopio, la mayoría de las partículas aparecen como cristales romboédricos, cuya dimensión máxima, medida de vértice a vértice del cristal, es superior a 10 μm , pero raramente excede los 40 μm .

CONSERVACIÓN

Debe cumplir con los requisitos en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico correspondiente a la insulina en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar* correspondiente.

Determinación del pH <250>

Entre 6,6 y 7,2.

Insulina en el líquido sobrenadante

Proceder según se indica en *Insulina en el líquido sobrenadante* en *Preparaciones Inyectables de Insulina*. Debe contener entre 22,0 y 28,0 % de insulina en solución.

Cinc total

Proceder según se indica en *Cinc total* en *Preparaciones Inyectables de Insulina*. Debe contener entre 26,0 y 37,5 μg de cinc por 100 UI de insulina.

VALORACIÓN

Proceder según se indica en *Valoración* en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

ROTULADO

Debe cumplir con los requisitos en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

INSULINA ISÓFANA

SUSPENSIÓN INYECTABLE

La Suspensión Inyectable de Insulina Isófana debe cumplir con los requisitos especificados en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

Definición - La Suspensión Inyectable de Insulina Isófana es una suspensión estéril de *Insulina Bovina*, *Insulina Porcina* o *Insulina Humana*, formando un complejo con *Sulfato de Protamina* u otra protamina. La cantidad de protamina se debe corresponder con la proporción de isófana y no debe ser menor que el equivalente a 0,3 mg ni mayor de 0,6 mg de sulfato de protamina por cada 100 UI de insulina en el complejo. Debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Suspensión de color blanco que sedimenta cuando está en reposo, dando lugar a un sedimento blanco y un líquido sobrenadante incoloro o casi incoloro; el sedimento se resuspende completamente por agitación suave. Cuando se examina al microscopio las partículas aparecen como cristales cilíndricos alargados, la mayoría de un tamaño superior a 1 μm que raramente excede los 60 μm , sin que existan agregados grandes.

CONSERVACIÓN

Debe cumplir con los requisitos en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico correspondiente a la insulina en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar* correspondiente.

Cinc total

Proceder según se indica en *Cinc total* en *Preparaciones Inyectables de Insulina*. No debe contener más de 40 μg de cinc por 100 UI de insulina.

VALORACIÓN

Proceder según se indica en *Valoración* en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

ROTULADO

Debe cumplir con los requisitos en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

INSULINA ISÓFANA BIFÁSICA SUSPENSIÓN INYECTABLE

La Suspensión Inyectable de Insulina Isófana Bifásica debe cumplir con los requisitos especificados en *Preparaciones Inyectables de Insulina*, con excepción del ensayo de *Insulina en el líquido sobrenadante*.

Definición - La Suspensión Inyectable de Insulina Isófana Bifásica es una suspensión amortiguada estéril de *Insulina Porcina* o *Insulina Humana*, formando un complejo con *Sulfato de Protamina* u otra protamina, en una solución de insulina de la misma especie. Es una mezcla, en proporciones definidas, de la *Solución Inyectable de Insulina Corriente* y la *Suspensión Inyectable de Insulina Isófana*. Debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Suspensión de color blanco que sedimenta cuando está en reposo, dando lugar a un sedimento blanco y un líquido sobrenadante incoloro o casi incoloro; el sedimento se resuspende por completo por agitación suave. Cuando se examina al microscopio las partículas aparecen como cristales cilíndricos alargados, la mayoría de un tamaño superior a 1 μm que raramente excede los 60 μm , sin que existan agregados grandes.

CONSERVACIÓN

Debe cumplir con los requisitos en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico correspondiente a la insulina en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar* correspondiente.

Cinc total

Proceder según se indica en *Cinc total* en *Preparaciones Inyectables de Insulina*. No debe contener más de 40 μg de cinc por 100 UI de insulina.

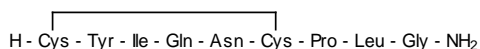
VALORACIÓN

Proceder según se indica en *Valoración* en *Preparaciones Inyectables de Insulina*.

ROTULADO

Debe cumplir con los requisitos en *Preparaciones Inyectables de Insulina*. Indicar en el rótulo la proporción de la *Solución Inyectable de Insulina Corriente* y la *Suspensión Inyectable de Insulina Isófana* empleadas en el proceso de manufactura de la *Preparación Inyectable de Insulina Isófana Bifásica*.

OXITOCINA



$\text{C}_{43}\text{H}_{66}\text{N}_{12}\text{O}_{12}\text{S}_2$ PM: 1.007,2 50-56-6

Definición - Oxitocina es un nonapéptido cíclico, cuya estructura es la de la hormona producida por el lóbulo posterior de la glándula hipofisiaria. Se obtiene por síntesis química y está disponible en forma liofilizada como acetato. Debe contener no menos de 93,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento del péptido, calculado sobre la sustancia anhidra y libre de ácido acético. Por convención para el rotulado de las preparaciones de Oxitocina, 1 mg de péptido equivale a 600 UI de actividad biológica. Oxitocina debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Higroscópico. Muy soluble en agua y en soluciones diluidas de ácido acético y de etanol.

Sustancias de referencia - Oxitocina SR-FA. Mezcla para validación de Oxitocina/Desmopresina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactivos herméticos, entre 2 y 8 °C. Si la sustancia es estéril el envase debe estar provisto de cierre inviolable.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Determinación del pH <250>

Entre 3,0 y 6,0, determinado sobre una solución de Oxitocina de aproximadamente 20 mg por ml en agua libre de dióxido de carbono.

Aminoácidos

Examinar la Oxitocina empleando un analizador de aminoácidos. [NOTA: para la validación del método emplear un estándar interno apropiado, como *DL*-norleucina].

Solución muestra - Transferir 1,0 mg de Oxitocina a un tubo de vidrio grueso, de 100 mm de longitud y 6 mm de diámetro interno. Agregar una cantidad apropiada de ácido clorhídrico 6 N. Introducir el tubo en una mezcla de congelación a -5 °C, reducir la presión por debajo de 1 mm Hg y sellar. Calentar entre 110 y 115 °C durante 16 horas. Enfriar, transferir el

contenido a un matraz de 10 ml con ayuda de cinco porciones de agua de 0,2 ml cada una y evaporar hasta sequedad sobre hidróxido de potasio a presión reducida. Recolectar el residuo en agua y evaporar a sequedad sobre hidróxido de potasio a presión reducida.

Repetir una vez más estas operaciones. Recolectar el residuo en una solución reguladora apropiada para el analizador de aminoácidos utilizado y diluir hasta un volumen apropiado con la misma solución reguladora.

Procedimiento - Calibrar el analizador de aminoácidos con una mezcla de cantidades equimolares de amoniaco, glicina y la forma *L* de los siguientes aminoácidos: lisina, serina, metionina, histidina, ácido glutámico, isoleucina, arginina, prolina, leucina, ácido aspártico, alanina, tirosina, treonina, valina y fenilalanina, junto con la mitad de la cantidad equimolar de *L*-cistina. Aplicar al analizador de aminoácidos un volumen exactamente medido de *Solución muestra* de manera tal que el pico que origine el aminoácido presente en proporción más alta alcance una altura próxima a la máxima del registrador. Expresar la cantidad de cada aminoácido en moles. Calcular las proporciones relativas de cada aminoácido considerando una sexta parte de la suma de moles de ácido aspártico, ácido glutámico, prolina, glicina, isoleucina y leucina como igual a uno. Los valores deben estar comprendidos entre los límites siguientes:

Aminoácido	Intervalo de valores
ácido aspártico	0,95-1,05
ácido glutámico	0,95-1,05
prolina	0,95-1,05
glicina	0,95-1,05
leucina	0,90-1,10
isoleucina	0,90-1,10
tirosina	0,7-1,05
hemicistina	1,4-2,1
otros	trazas

Péptidos relacionados

Sistema cromatográfico, Solución A, Solución B, Fase móvil, Solución de resolución, Preparación muestra y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo 50 µl de la *Preparación muestra*, registrar el cromatograma y medir las respuestas de todos los picos. A excepción del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra*, ninguna respuesta individual debe ser mayor de 1,5 % de la suma total de las respuestas de todos los picos, incluido el pico principal; y la suma de todos los picos, a excepción del principal, no debe ser mayor de 5 % de la suma total de las respuestas de todos los picos, incluido el principal. Descartar cualquier pico debido al solvente o al conservante antimicrobiano y cual-

quier pico con una respuesta menor de 0,1 % del pico principal.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 5 %, determinada sobre 50 mg.

Ácido acético

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 210 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,2 ml por minuto. El cromatógrafo se debe programar del siguiente modo:

Tiempo (minutos)	Solución A (%)	Solución B (%)	Etapas
0 - 5	95	5	Equilibrio
5 - 10	95 → 50	5 → 50	Gradiente lineal
10 - 20	50	50	Meseta
20 - 22	50 → 95	50 → 5	Retorno a las condiciones iniciales
22 - 30	95	5	Re-equilibrio

Solución A - Diluir 0,7 ml de ácido fosfórico a 1 litro con agua. Ajustar a pH 3 con una solución de hidróxido de sodio al 42 % p/v en agua.

Solución B - Metanol.

Fase móvil - Emplear mezclas variables de *Solución A* y *Solución B*, según se indica en *Sistema cromatográfico*. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Diluyente - *Solución A* y *Solución B* (95:5).

Solución muestra - Pesar exactamente alrededor de 15 mg de Oxitocina, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver con *Diluyente* y completar a volumen con *Diluyente*.

Solución estándar - Preparar una solución de ácido acético glacial que contenga 0,10 g por litro en *Diluyente*.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos. El tiempo de retención del pico correspondiente al ácido acético debe estar comprendido entre 3 y 4 minutos. La línea de base debe presentar un aumento agudo luego del comienzo del gradiente lineal, que corresponde a la elución del péptido. Calcular la cantidad de ácido acético presente en la *Solución muestra*: debe contener entre 6,0 y 10,0 %.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que la Oxitocina está destinada a la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral que no deben someterse a un tratamiento posterior de esterilización, debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que la Oxitocina está destinada a la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral que no deben someterse a un tratamiento posterior de eliminación de endotoxinas bacterianas, debe contener menos de 300 Unidades de Endotoxina por mg de Oxitocina.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 220 nm y una columna de 12 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto. Equilibrar la columna con una mezcla de *Solución A* y *Solución B* (70:30). El cromatógrafo se debe programar del siguiente modo:

Tiempo (minutos)	Solución A (%)	Solución B (%)	Etapas
0 - 30	70 → 40	30 → 60	Gradiente lineal
30 - 30,1	40 → 70	60 → 30	Retorno a las condiciones iniciales
30,1 - 45	70	30	Re-equilibrio

Solución A - Solución de fosfato monobásico de sodio 0,1 M.

Solución B - Acetonitrilo y agua (1:1).

Fase móvil - Emplear mezclas variables de *Solución A* y *Solución B*, según se indica en *Sistema cromatográfico*. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Preparación estándar - Disolver el contenido de un vial de Oxitocina SR-FA en *Solución A* y diluir a 20,0 ml con la misma solución.

Preparación muestra - Disolver una cantidad apropiada de Oxitocina en *Solución A* para obtener una solución de aproximadamente 0,25 mg por ml.

Solución de resolución - Disolver el contenido de un vial de Mezcla para validación de Oxitocina/Desmopresina SR-FA en 0,5 ml de *Solución A*.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Inyectar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimien-*

to: los tiempos de retención deben ser aproximadamente 7,5 y 10 minutos para oxitocina y desmopresina, respectivamente; la resolución R entre los picos de oxitocina y desmopresina no debe ser menor de 5,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 25 μ l) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el contenido de Oxitocina a partir de las respuestas de los picos obtenidos en los cromatogramas de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, considerando la cantidad declarada de Oxitocina SR-FA.

ROTULADO

Indicar en el rótulo el contenido de péptido de oxitocina ($C_{43}H_{66}N_{12}O_{12}S_2$) y, si corresponde, que la Oxitocina es estéril y apirógena.

OXITOCINA

SOLUCIÓN A GRANEL

Definición - La Solución a Granel de Oxitocina es una solución de Oxitocina, un nonapéptido cíclico, disponible como una solución a granel con una concentración no menor a 0,25 mg de Oxitocina por mililitro, en un solvente que puede contener un conservante antimicrobiano apropiado. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad del péptido declarada por mililitro y debe cumplir con las siguientes especificaciones. Por convención, 1 mg de péptido equivale a 600 UI de actividad biológica.

Caracteres generales - Líquido límpido e incoloro.

Sustancias de referencia - Oxitocina SR-FA. Mezcla para validación de Oxitocina/Desmopresina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos herméticos, entre 2 y 8 °C. Si la sustancia es estéril el envase debe estar provisto de cierre inviolable.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Preparación estándar*.

Determinación del pH <250>

Entre 3,0 y 5,0.

Aminoácidos

Examinar la Solución a Granel de Oxitocina empleando un analizador de aminoácidos. [NOTA: para la validación del método emplear un estándar interno apropiado, como *DL-norleucina*].

Solución muestra - Transferir un volumen de Solución a Granel de Oxitocina que contenga aproximadamente 0,25 mg de péptido a un tubo de vidrio grueso, de 100 mm de longitud y 6 mm de diámetro interno. Evaporar hasta sequedad y proceder según se indica para la *Solución muestra* en el ensayo de *Aminoácidos* en *Oxitocina* comenzando donde dice "Agregar una cantidad apropiada de ácido clorhídrico...".

Procedimiento - Proceder según se indica en *Procedimiento* en el ensayo de *Aminoácidos* en *Oxitocina*.

Péptidos relacionados

Sistema cromatográfico, Solución A, Solución B, Fase móvil, Solución de resolución, Preparación muestra y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo 50 µl de la *Preparación muestra*. A excepción del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra*, la respuesta de ningún pico individual debe ser mayor de 1,5 % de la suma total de la respuesta de todos los picos, incluido el principal; y la suma de todos los picos, a excepción del principal, no debe ser mayor de 5 % de la suma total de las respuestas de todos los picos, incluido el principal. Descartar cualquier pico debido al solvente o al conservante antimicrobiano y cualquier pico con una respuesta menor de 0,1 % del pico principal.

Ensayos de esterilidad <370>

Proceder según se indica en *Oxitocina*.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Proceder según se indica en *Oxitocina*.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico, Solución A, Solución B, Fase móvil, Solución de resolución, Preparación estándar y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración* en *Oxitocina*.

Preparación muestra - Emplear la Solución a Granel de Oxitocina.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 25 µl) de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el contenido de Oxitocina a partir de las respuestas de los picos obtenidos en los cromatogramas de la *Preparación muestra* y la *Preparación estándar*, considerando la cantidad declarada de Oxitocina SR-FA.

ROTULADO

Indicar en el rótulo el contenido de péptido de Oxitocina en mg por ml, el nombre del conservante antimicrobiano empleado y si corresponde, que la Oxitocina solución a granel es estéril y apirógena.

PROTAMINA, SULFATO DE

Definición - Sulfato de Protamina es una mezcla de péptidos básicos sulfatados, extraídos del esperma o de los huevos de peces, generalmente de especies de *Salmonidae* y de *Clupeidae*. En solución se une a la heparina inhibiendo su actividad anticoagulante. Calculado sobre la sustancia seca, 1 mg de Sulfato de Protamina debe precipitar no menos de 100 U.I. de heparina y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Polvo blanco o casi blanco. Higroscópico. Moderadamente soluble en agua; prácticamente insoluble en alcohol.

Sustancia de referencia - Heparina Bovina SR-FA o Heparina Porcina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases hermético con cierre inviolable.

ENSAYOS

Identificación

A - Sulfato de Protamina debe formar un precipitado en las condiciones de *Valoración*.

B - Disolver 200 mg de Sulfato de Protamina en agua y diluir a 10 ml con el mismo solvente. Calentar 2 ml de esta solución en un baño de agua a 60 °C y agregar 0,1 ml de una solución preparada del siguiente modo: disolver 1 g de óxido mercurio amarillo en una mezcla de 20 ml de agua y 4 ml de ácido sulfúrico. Mezclar: no se debe formar precipitado. Cuando se enfria la mezcla en un baño de hielo, se debe formar un precipitado.

C - Una solución de Sulfato de Protamina debe cumplir con el ensayo para *Sulfatos* <410>.

D - Disolver 200 mg de Sulfato de Protamina en agua y diluir a 10 ml con el mismo solvente. A 0,5 ml de esta solución agregar 4,5 ml de agua, 1 ml de solución de hidróxido de sodio al 10 % p/v y 1 ml de solución de 1-naftol al 0,02 % p/v y mezclar. Enfriar la mezcla a 5 °C. Agregar 0,5 ml de solución de hipobromito de sodio preparada del siguiente modo: en un baño de hielo mezclar 20 ml de una solución de hidróxido de sodio al 42 % p/v y 500 ml de agua, agregar 5 ml de bromo (SR1) y agitar por rotación hasta disolución completa [NOTA: preparar esta solución en el momento de su uso]. Se debe producir un intenso color rojo.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre -65° y -85°, determinado sobre la sustancia seca.

Solución muestra: disolver 1 g de Sulfato de Protamina en ácido clorhídrico 0,1 N y diluir a 100 ml con el mismo solvente.

Absorbancia

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de Sulfato de Protamina, disolver en 10 ml de agua. Diluir 2,5 ml de esta solución a 5,0 ml con agua. La absorbancia medida entre 260 y 280 nm no debe ser mayor de 0,1.

Sulfato

Pesar exactamente alrededor de 150 mg de Sulfato de Protamina, transferir a un vaso de precipitados y disolver en 15,0 ml de agua. Agregar 5 ml de ácido clorhídrico al 7,3 % p/v. Calentar hasta ebullición y agregar lentamente a la solución hirviendo 10,0 ml de una solución de cloruro de bario al 10 %. Tapar el vaso de precipitados y calentar en un baño de agua durante 1 hora. Filtrar, lavar varias veces el precipitado con agua caliente, secar y calentar el residuo a 600 °C hasta peso constante. Un gramo del residuo equivale a 0,4117 g de sulfato (SO₄). No debe contener menos de 16 % ni más de 24 % de sulfato calculado sobre la sustancia seca.

Límite de hierro <580>

Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Sulfato de Protamina, disolver en agua con ayuda de calor y diluir a 10,0 ml con el mismo solvente (10 ppm).

Límite de mercurio

Pesar exactamente alrededor de 2,0 g de Sulfato de Protamina, transferir a un erlenmeyer de 250 ml con tapa esmerilada, agregar 20,0 ml de una mezcla de ácido nítrico y ácido sulfúrico (1:1). Calentar a reflujo empleando un refrigerante durante 1 hora, enfriar y diluir cuidadosamente con agua. Mantener en ebullición hasta que los vapores nitrosos hayan desaparecido. Enfriar la solución, diluir cuidadosamente a 200 ml con agua, mezclar y filtrar. Transferir 50 ml del filtrado a una ampolla de decantación. Agitar sucesivamente con pequeñas porciones de cloroformo hasta que la fase clorofórmica permanezca incolora. Descartar las fases clorofórmicas. Agregar a la fase acuosa 25 ml de ácido sulfúrico diluido, 115 ml de agua y 10 ml de una solución de clorhidrato de hidroxilamina al 20 % p/v. Titular con solución de ditizona (SR1); luego de cada adición, agitar veinte veces la mezcla y al finalizar la valoración dejar separar las fases y descartar la fase clorofórmica. Titular hasta color verde azulado. Calcular el contenido de mercurio empleando el equivalente en µg de mercurio por ml de solución de ditizona (SR1), determinado en la normalización de la solución de ditizona (SR1): no debe contener más de 10 ppm.

Determinación de nitrógeno

Determinar el contenido de nitrógeno mediante mineralización con ácido sulfúrico, emplear 10 mg y calentar durante 3 a 4 horas. No debe contener menos de 21 % ni más de 26 % calculado sobre la sustancia seca.

Límite de metales pesados

Método VII. Preparar la *Solución estándar* empleando 2 ml de *Solución estándar de plomo (10 ppm)*. No más de 0,002 %.

Pérdida por secado <680>

Secar entre 100 y 105 °C durante 3 horas: no debe perder más de 5,0 % de su peso.

Ensayos de esterilidad <370>

Cuando en el rótulo se indique que Sulfato de Protamina está destinado a la preparación de formas farmacéuticas parenterales, debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Cuando en el rótulo se indique que Sulfato de Protamina está destinado a la preparación de formas farmacéuticas parenterales, no debe contener más de 7,0 Unidades de Endotoxinas por mg de Sulfato de Protamina.

Ensayo de toxicidad anormal <360>

Realizar el ensayo con cinco ratones. Inyectar a cada uno por vía endovenosa, una solución que contenga 0,5 mg de Sulfato de Protamina en 0,5 ml de *Agua para Inyectables*.

VALORACIÓN

Solución de titulación – Preparar una solución acuosa de 170 UI/ml de Heparina Bovina SR-FA o Heparina Porcina SR-FA.

Preparación muestra A - Pesar exactamente alrededor de 15,0 mg de Sulfato de Protamina, disolver en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente.

Preparación muestra B - A 2 ml de la *Solución muestra A* agregar 1 ml de agua.

Preparación muestra C - Diluir 1,0 ml de la *Preparación muestra A* a 3,0 ml con agua.

Procedimiento - Titular cada una de las *Preparaciones muestra A, B y C* por duplicado del siguiente modo: colocar en la celda con tapa del espectrofotómetro, un volumen exactamente medido de la solución que se va a valorar (por ej., 1,5 ml). Ajustar el aparato para medir a una longitud de onda en la región del visible (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*). Agregar pequeños volúmenes de la *Solución de titulación* hasta producir un incremento brusco de la absorbancia y anotar el volumen agregado.

Realizar tres ensayos independientes. Para cada titulación individual, calcular el número de Unidades Internacionales de heparina en el volumen agregado de *Solución de titulación* en el punto final por miligramo de Sulfato de Protamina. Calcular la potencia como la media de 18 valores. Comprobar la linealidad de la respuesta, mediante métodos estadísticos (ver 10. *Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos*). Calcular las tres desviaciones estándar de los resultados obtenidos con cada una de las tres *Preparaciones muestra*. Calcular las tres desviaciones estándar de los resultados obtenidos con cada uno de los tres ensayos independientes. El resultado solo es válido si cada una de las seis desviaciones estándar es menor de 5,0 % del resultado medio.

ROTULADO

Cuando el Sulfato de Protamina esté destinado a la preparación de formas farmacéuticas parenterales, se debe indicar que es estéril y apirógena.

PROTAMINA SULFATO

SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Sulfato de Protamina es una solución estéril de *Sulfato de Protamina en Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 80,0 por ciento de la cantidad declarada de sulfato de protamina y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Sustancia de referencia - Heparina Bovina SR-FA o Heparina Porcina SR-FA.

CONSERVACIÓN

En envases monodosis de vidrio Tipo I, en un refrigerador.

ENSAYOS

Identificación

A - La Solución Inyectable de Sulfato de Protamina debe formar un precipitado en las condiciones de *Valoración*.

B - Calentar 2 ml de la Solución Inyectable de Sulfato de Protamina en un baño de agua a 60 °C y agregar 0,1 ml de una solución preparada según se indica en ensayo de *Identificación B* en *Sulfato de Protamina*: no se debe formar precipitado. Enfriar la mezcla en un baño de hielo: se debe formar un precipitado blanco.

C - Debe responder al ensayo para *Sulfato* <410>.

D - Diluir un volumen de Solución Inyectable de Sulfato de Protamina en agua para obtener una solución de aproximadamente 2 mg de sulfato de protamina por ml. A 5 ml de esta solución agregar 1 ml de solución de hidróxido de sodio al 10 % y 1 ml de solución de 1-naftol al 0,02 % y mezclar. Enfriar la mezcla a 5 °C. Agregar 0,5 ml de *Solución de hipobromito de sodio* preparada según se indica en ensayo de *Identificación D* en *Sulfato de Protamina*. Se debe producir un intenso color rosa.

Determinación de la rotación óptica <170>

Rotación específica: Entre $-0,52^{\circ}$ y $-0,68^{\circ}$.

Solución muestra: Diluir la Solución Inyectable de Sulfato de Protamina en ácido clorhídrico 0,5 N para obtener una solución de aproximadamente 8 mg de sulfato de protamina por ml.

Absorbancia

Diluir la Solución Inyectable de Protamina, si fuera necesario, con agua para obtener una solución de aproximadamente 10 mg de sulfato de protamina por ml. La absorbancia medida entre 260 y 280 nm no debe ser mayor de 0,1.

Determinación del pH <250>

Entre 2,5 y 3,5.

Determinación del contenido extraíble del envase <210>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 7,0 Unidades de Endotoxina por mg de Sulfato de Protamina.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Partículas en inyectables <650>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Solución de titulación - Preparar según se indica en *Sulfato de Protamina*.

Preparación muestra A - Diluir un volumen exactamente medido de Solución Inyectable de Sulfato de Protamina en agua para obtener una solución de aproximadamente 0,15 mg sulfato de protamina por ml.

Preparación muestra B - Diluir un volumen exactamente medido de Solución Inyectable de Sulfato de Protamina en agua hasta obtener una solución de aproximadamente 0,10 mg sulfato de protamina por ml.

Preparación muestra C - Diluir un volumen exactamente medido de Solución Inyectable de Sulfato de Protamina en agua hasta obtener una solución de aproximadamente 0,05 mg sulfato de protamina por ml.

Procedimiento - Proceder según se indica en , *Sulfato de Protamina*.

ROTULADO

Indicar en el rótulo que la dosis administrada de la Solución Inyectable de Sulfato de Protamina es calculada a partir de las determinaciones de la cantidad requerida para producir un tiempo de coagulación aceptable en el paciente.

PRODUCTOS MÉDICOS

APARTADO DE PRODUCTOS MÉDICOS

ÍNDICE

Métodos Generales de Análisis

- <383> - Ensayos de Suturas
- <435> - Envases para Productos Médicos Estériles
- <475> - Esterilización

Monografías

- Algodón Hidrófilo
- Gasa Hidrófila
- Sutura Quirúrgica Absorbible
- Sutura Quirúrgica no Absorbible

383. ENSAYOS DE SUTURAS

IDENTIFICACIÓN

Las suturas no absorbibles pueden identificarse con ensayos químicos. Los materiales de origen natural pueden identificarse también mediante examen microscópico de la morfología de estas fibras. Para materiales sintéticos, puede utilizarse también la identificación por espectrofotometría de absorción en el infrarrojo o calorimetría diferencial de barrido.

Lino

Definición - La sutura de lino estéril se compone de las fibras pericíclicas del tallo de *Linum usitatissimum* L. Las fibras básicas de 2,5 a 5 cm de largo se ensamblan en haces de 30 a 80 cm de longitud y se hilan en longitudes continuas de diámetro predeterminado.

Identificación

A - Cortar el extremo de una sutura. Separar algunas fibras con una aguja o una pinza fina. Cuando se examina al microscopio deben observarse fibras de 12 a 31 μm de ancho, y a lo largo de su longitud presentan paredes gruesas, marcadas algunas veces con finas estriaciones longitudinales y un lumen estrecho. Las fibras se estrechan gradualmente, terminando en una punta fina. Algunas veces se encuentran engrosamientos unilaterales con líneas transversales.

B - Impregnar las fibras aisladas con solución de cloruro de zinc iodado (SR). Las fibras deben tomar un color azul-violeta.

Poliamida-6*

Definición - La sutura quirúrgica estéril de poliamida-6 está constituida por monofilamentos cilíndricos lisos o filamentos trenzados lisos, o bien hilos ligeramente retorcidos revestidos en el mismo material. Se obtiene pasando a través de una matriz determinada un material plástico sintético proveniente de la polimerización de ϵ -caprolactama. Las suturas pueden teñirse con un colorante atóxico

Caracteres generales - Es prácticamente insoluble en solventes orgánicos. No es atacada por soluciones alcalinas diluidas (ej. solución de hidróxido de sodio al 10 %) pero es atacada por ácidos minerales diluidos (ej. solución de ácido sulfúrico al 2 %), ácido acético glacial caliente y solución 70 % p/p de ácido fórmico anhidro.

[NOTA: * el nombre Nylon -6 como sinónimo de poliamida-6 puede usarse en algunos países y no en otros por derechos de propiedad exclusivos.]

Identificación

A - Calentar 50 mg de sutura con 0,5 ml de ácido clorhídrico 25 % p/p en un tubo de ensayo cerrado a 110° C durante 18 horas, y luego dejar reposar durante 6 horas. No deben observarse cristales.

B - 50 mg de sutura se disuelven en 20 ml de una solución 70 % p/p de ácido fórmico anhidro.

Monómeros y oligómeros

La poliamida-6 cumple con un ensayo adicional: en un aparato de extracción continua tratar 1 g de sutura con 30 ml de metanol efectuando tres extracciones por hora durante 7 horas, evaporar a sequedad y secar el residuo a 110 °C durante 10 minutos, dejar enfriar en un desecador y pesar. El residuo no debe pesar más de 20 mg (2 %).

Poliamida- 6/6*

Definición - La sutura quirúrgica estéril de poliamida 6/6 está constituida por monofilamentos cilíndricos lisos o filamentos trenzados lisos, o bien hilos ligeramente retorcidos revestidos en el mismo material. Se obtiene por pasaje a través de una matriz determinada de un material plástico sintético proveniente de la policondensación de hexametilenediamina y ácido adípico. Las suturas pueden teñirse con un colorante atóxico

Caracteres generales - Es prácticamente insoluble en solventes orgánicos. No es atacada por soluciones alcalinas diluidas (ej. solución de hidróxido de sodio al 10 %) pero es atacada por ácidos minerales diluidos (ej. solución de ácido sulfúrico al 2 %), ácido acético glacial caliente y solución 80 % p/p de ácido fórmico anhidro.

Identificación

A - Al contacto con la llama se funde y arde formando un glóbulo residual duro y emite un olor característico parecido al apio.

B - Colocar 50 mg de sutura en un tubo de ignición sostenido en posición vertical y calentar suavemente hasta que se desprenda un humo espeso, cuando el humo llena el tubo retirar de la llama e introducir una tira de papel de nitrobenzaldehído (Sumergir la mitad inferior de una tira de papel de filtro de 10 cm de largo y de 0,8 a 1 cm de ancho, en una solución preparada una hora antes de su uso, disolviendo 0,2 g de nitrobenzaldehído en 10 ml de una solución de hidróxido de sodio 200 g en un litro. Absorber el exceso de reactivo entre dos hojas de papel de filtro y emplear inmediatamente). Aparece lentamente un

color pardo violeta en el papel que se esfuma lentamente en el aire. El color desaparece de inmediato por lavado con ácido sulfúrico 1 M.

C - A 50 mg de sutura agregar 10 ml de ácido clorhídrico 25 % p/p. El material se desintegra en frío y se disuelve en pocos minutos.

D - 50 mg no se disuelven en 20 ml de solución de ácido fórmico anhidro al 70 % p/p pero se disuelven en 20 ml de solución de ácido fórmico anhidro al 80 % p/p.

Polietilentereftalato (poliéster)

Definición - Se obtiene trenzando un número determinado de filamentos muy finos, obtenidos por pasaje de polietilentereftalato a través de una matriz predeterminada; pudiendo ser blanquecino o coloreado con colorantes o pigmentos autorizados

Caracteres generales - Es prácticamente insoluble en la mayoría de los solventes orgánicos, pero es atacado por soluciones alcalinas fuertes. Es incompatible con fenoles.

Identificación

A - 50 mg de sutura se disuelven con dificultad al calentar con 50 ml de dimetilformamida.

B - Añadir 10 ml de ácido clorhídrico 25 % p/p a 50 mg de sutura. El material debe permanecer intacto después de 6 hs de inmersión.

Polipropileno

Definición - La sutura de polipropileno se obtiene pasándola a través de una matriz predeterminada. Se presenta como monofilamentos cilíndricos.

Caracteres generales - El polipropileno es soluble en decahidronaftaleno, 1-cloronaftaleno y tricloroetileno. No es soluble en alcohol, éter y ciclohexanona.

Identificación

A - Se ablanda entre 160 y 170 °C. Arde con llama azul, emitiendo un olor de parafina quemada y de alcohol octílico.

B - Añadir 10 ml de tolueno a 0,25 g de sutura y calentar a reflujo durante 15 minutos. Llevar a ebullición con un condensador de reflujo durante aproximadamente 15 minutos. Colocar unas gotas de la solución sobre un disco de cloruro de sodio, correr y evaporar el solvente en estufa a 80 °C. Examinar por espectrofotometría infrarroja (<460>. *Espectrofotometría infrarroja*), comparándolo con el espectro obtenido para el polipropileno.

C - Añadir 100 ml de agua a 2 g de sutura y hervir bajo condensador de reflujo durante 2 horas. Dejar enfriar. La densidad relativa de la muestra

determinada con una balanza hidrostática, debe estar comprendida entre 0,89 y 0,91 g/ml. <160>

Seda trenzada

Definición - La Sutura Seda Trenzada, se obtiene trenzando un número de hebras según el diámetro requerido de la seda desgomada obtenida de los capullos del gusano de seda *Bombix mori* L. La sutura puede colorearse con pigmentos o colorantes aprobados. Ver 50. *Colorantes de uso farmacéutico*.

Identificación

A - Cortar el extremo de una sutura. Aislar algunas hebras con una aguja o pinza fina. Cuando se examinan al microscopio las hebras pueden presentar estriaciones longitudinales muy finas, paralelas a su eje, la sección transversal es aproximadamente triangular o semicircular, con los extremos redondeados y sin lumen.

B - Impregnar algunas hebras aisladas con solución iodada de yoduro de potasio, preparada disolviendo 2 g de yodo y 4 g de yoduro de potasio en 10 ml de agua, completar a 100 ml con agua. Las mismas toman un color amarillo pálido.

Acero inoxidable

Definición - Las suturas quirúrgicas estériles de acero inoxidable mono y multifilamento tienen una composición química según normas internacionales vigentes. Están formadas por monofilamentos cilíndricos, o filamentos retorcidos o trenzados lisos.

Identificación

Se identifican verificando que su composición está de acuerdo con normas internacionales vigentes.

DIÁMETRO

Se utiliza calibrador del tipo de peso muerto, mecánico o eléctrico, equipado con un dial de lectura directa, un visor digital o una impresora. Emplear un calibre graduado de 0,002 mm o menor. El yunque es de aproximadamente 50 mm de diámetro, y el pie compresor es aproximadamente de 12,70 de diámetro. Graduar el pie compresor y las partes móviles conectadas a éste de manera que se aplique una carga total de 210 ± 3 g a la muestra. Las superficies del pie compresor y del yunque son planas, con desviaciones no mayores de 0,005 mm, y paralelas entre sí con una aproximación de 0,005 mm. Para medir el diámetro de las suturas de 0,4 mm y menor tamaño métrico, retirar el peso adicional del pie compresor para que la carga total sobre la sutura no exceda de 60 g.

Sutura de colágeno - Se mide el diámetro inmediatamente después de haberla retirado del envase primario y extendido sin irregularidades ni tensión. Colocar el hilo entre el centro del yunque y el pie compresor y bajar suavemente el pie hasta que todo su peso descansa sobre la sutura. Medir el diámetro de cada hilo en tres puntos correspondientes, aproximadamente a un cuarto, a la mitad y a tres cuartos de su longitud.

Sutura quirúrgica no absorbible - Colocar el hilo a través del centro del yunque y el pie compresor y bajar suavemente el pie hasta que todo su peso descansa sobre la sutura. Medir las suturas no absorbibles, ya sea que estén envasadas en seco o en líquido, inmediatamente después de haberlas retirado del envase, sin secado ni acondicionamiento previo. Se mide el diámetro de la sutura en tres puntos correspondientes, aproximadamente a un cuarto, a la mitad y a tres cuartos de su longitud. En el caso de suturas trenzadas de tamaños mayores de 000 (tamaño métrico 2), hacer dos mediciones en cada punto, una en ángulo recto respecto de la otra, y emplear el promedio como el diámetro observado en ese punto.

Sutura quirúrgica absorbible sintética - Se procede según se indica para *Sutura quirúrgica no absorbible*.

Suturas de multifilamento - Fijar una porción de la sección designada del hilo en una pinza fija, de manera que el hilo quede sobre el centro del yunque. Mientras se sostiene el hilo en el mismo plano que la superficie del yunque, someter el hilo a

tensión por medios adecuados, como por ejemplo, pasando el extremo libre del hilo alrededor de un cilindro o polea uniéndolo a una pesa de aproximadamente la mitad del valor mínimo de resistencia a la tensión para la sutura de Clase I del tamaño en cuestión, con cuidado de no dejar que el hilo, si fuera retorcido, pierda la torsión. Medir el diámetro en los puntos designados en el hilo y calcular el diámetro promedio según las indicaciones dadas.

ENGARZADO DE AGUJAS

Las suturas quirúrgicas absorbibles (de colágeno y sintéticas) y las no absorbibles pueden tener agujas sujetas firmemente.

Procedimiento - Tomar cinco suturas y colocar una por una en el tensilómetro, sujetando la aguja con la pinza fija, dejando toda la parte engarzada expuesta, y en la misma dirección de la fuerza que ejerce la pinza móvil sobre la sutura. Determinar la fuerza necesaria para desprender la sutura de la aguja. La sutura puede romperse sin desprenderse de la aguja. El engarzado cumple con los requisitos si el promedio de los cinco valores y ningún valor individual es inferior al límite fijado para el tamaño especificado en la *Tabla*.

Si no más de uno de los valores individuales se encuentra fuera de los límites establecidos, repetir la prueba con diez suturas adicionales. Cumple con los requisitos si ninguno de los diez valores adicionales se encuentra fuera de los requisitos del límite individual.

Tabla. Engarzado de aguja estándar para suturas absorbibles y no absorbibles

NÚMERO	Diámetro (mm)		Límites de engarzado de aguja				
	Sutura convencional	Sutura absorbible de colágeno	Sutura no absorbible y absorbible sintética	Promedio (mínimo) (kgf)	Individual (mínimo) (Newton)	Promedio (mínimo) (kgf)	Individual (mínimo) (Newton)
11/0			0,1	0,007	0,069	0,005	0,049
10/0			0,2	0,014	0,137	0,010	0,098
9/0		0,4	0,3	0,021	0,206	0,015	0,147
8/0		0,5	0,4	0,050	0,490	0,025	0,245
7/0		0,7	0,5	0,080	0,784	0,040	0,392
6/0		1	0,7	0,17	1,67	0,08	0,784
5/0		1,5	1	0,23	2,25	0,11	1,08
4/0		2	1,5	0,45	4,41	0,23	2,25
3/0		3	2	0,68	6,67	0,34	3,33
2/0		3,5	3	1,10	10,8	0,45	4,41
0		4	3,5	1,50	14,7	0,45	4,41
1		5	4	1,80	17,6	0,60	5,88
2 y superior		6 y superior	5 y superior	1,80	17,6	0,70	6,86

RESISTENCIA A LA TENSIÓN

Determinar la resistencia a la tensión de las suturas quirúrgicas en un instrumento que emplee el principio de velocidad de carga constante sobre la muestra o el principio de velocidad de elongación constante de la muestra, según se describe a continuación. El aparato tiene dos pinzas para sostener un hilo de la sutura. Una de estas pinzas es móvil. Las pinzas están diseñadas para que la sutura que se va a probar pueda ser fijada sin que se deslice. La longitud ensayada se define como la distancia interior entre las dos pinzas. Debe ser entre 125 a 200 mm y la pinza móvil ser accionada a una velocidad de elongación constante de 30 ± 5 cm por minuto. Medir la resistencia a la tensión de la sutura, ya sea que esté envasada en seco o con líquido, inmediatamente después de haberla retirado del envase, sin secado ni acondicionamientos previos. Sujetar uno de los extremos de la sutura a la pinza del extremo de carga de la máquina, pasar el otro extremo a través de la pinza opuesta, aplicando tensión suficiente para que la muestra quede tirante entre las pinzas, y cerrar la segunda pinza. Realizar tantas determinaciones como las especificadas en la monografía individual. Si la ruptura ocurre en cualquiera de las pinzas, descartar la lectura de la muestra.

Procedimiento para un instrumento que opera por el principio de velocidad de carga constante sobre la muestra - Esta descripción se aplica al instrumento conocido como Comprobador de Plano inclinado. El carro empleado en cualquier prueba es de un peso tal que al ocurrir la ruptura, la posición de la pluma registradora sobre la gráfica queda entre 20 y 80 % de la capacidad que pueda registrarse en la gráfica. La fricción en el carro es suficientemente baja como para permitir que la pluma registradora se aparte de la línea cero de la gráfica en un punto que no exceda el 2,5 % de la capacidad de la gráfica cuando no haya ninguna muestra sujeta entre las pinzas.

Para suturas quirúrgicas de tamaños intermedios y más gruesas, la pinza para sostener la muestra es del tipo rodillo, con una superficie de sujeción plana. El rodillo tiene un diámetro de 19 mm y la superficie de sujeción plana no es menor de 25 mm de longitud. La longitud de la muestra, una vez que se inserta en las pinzas, es de por lo menos 127 mm de un extremo a otro. La velocidad de inclinación del plano del comprobador es tal que alcanza su inclinación máxima de 30° sobre la horizontal en 20 ± 1 segundo desde el comienzo de la prueba.

Para suturas quirúrgicas de menor calibre, la pinza apropiada tiene una superficie de sujeción plana de no menos de 13 mm de longitud. La

velocidad de inclinación del plano es tal que alcanza su inclinación máxima de 30° sobre la horizontal en 60 ± 5 segundos desde el comienzo de la prueba.

Salvo cuando en la monografía individual se indica tracción recta, sin nudo, atar la sutura de prueba realizando un nudo de cirujano con una vuelta de sutura, alrededor de un tubo de goma flexible con un diámetro interno de 6,5 mm y un espesor de pared de 1,6 mm. El nudo de cirujano es un nudo en el cual el extremo libre se pasa primero dos veces por el lazo, en lugar de una vez, y se ajusta tirante, luego se pasa una vez por un segundo lazo y se tensan los extremos de manera que quede un nudo sencillo superpuesto a un nudo doble. Comenzar el primer nudo con el extremo izquierdo sobre el extremo derecho, ejerciendo tensión suficiente para atar el nudo con firmeza. Cuando la muestra de prueba incluya un nudo, colocar la muestra en el dispositivo de prueba con el nudo aproximadamente a media distancia entre las pinzas. Dejar el tubo de goma flexible en su lugar mientras dure la prueba.

Procedimiento para un instrumento que opera por el principio de velocidad de elongación constante de la muestra - Excepto cuando en la monografía individual se indique tracción recta, sin nudo, atar la sutura de prueba por medio de un nudo simple, colocando un extremo del hilo, sostenido con la mano derecha, por encima del otro extremo, sostenido con la mano izquierda, pasando un extremo sobre el hilo y a través del lazo que se formó y luego ajustando el nudo con firmeza. La muestra se coloca en el dispositivo de prueba con el nudo aproximadamente a media distancia entre las pinzas.

[NOTA: *Calibre*: se puede expresar en forma de calibre métrico que representa el grosor de la sutura en décimas de milímetro: métrico 0,1 (0,010-0,019 mm) a métrico 10 (1,00-1,09 mm), o bien, en calibre convencional, que expresa el grosor en forma convencional: 11/0 (0,010-0,019 mm) a calibre 6 (1,00-1,09 mm).]

435. ENVASES PARA PRODUCTOS MÉDICOS ESTÉRILES

En este capítulo se describen los requisitos y métodos de ensayos que deben reunir los materiales y sistemas de envases para ser utilizados como empaque primario en productos médicos que serán sometidos a esterilización terminal y destinados a mantener la esterilidad del producto.

Los materiales empleados para envases de productos médicos se clasifican en:

Materiales porosos: papel en bobinas, resmas, bolsas o componentes de bolsas mixtas termosellables, papel con recubrimiento adhesivo para paquetes termosellables.

Materiales no porosos: telas no tejidas de poliolefinas con o sin recubrimiento adhesivo para bolsas mixtas, film de polietileno, film de polipropileno orientado, laminados de poliolefinas y poliéster, laminas de PET (polietilentereftalato) y PVC para termoformar.

Las materias primas utilizadas en los materiales de embalaje pueden ser vírgenes o recicladas siempre que cumplan con los ensayos descriptos y se conozca su trazabilidad.

Los adhesivos utilizados no deben mostrar reacción, contaminar, transferirse o afectar al producto envasado, antes y después de la esterilización. No deben contener componentes tóxicos en cantidades suficientes como para causar daño a la salud.

La composición química y los ensayos de identificación y caracterización de los polímeros plásticos están descriptos en 420. *Envases primarios de plástico.*

Características generales

El envase del producto médico estéril debe ser tal que:

- Sea barrera microbiana.
- Sea barrera mecánica.
- No presente interacción con el producto médico que contiene.
- Adecuado para el método de esterilización aplicado.

A continuación se describen los ensayos para materiales porosos y no porosos que permiten el cumplimiento de las características generales.

Además se consideran los ensayos vinculados a la funcionalidad del envasado final conteniendo el producto médico estéril y el ensayo de envejecimiento acelerado para determinar la vida útil del envase.

ENSAYOS PARA MATERIALES

Determinación del gramaje

El gramaje es la masa por unidad de área de papel determinada por el método de ensayo normalizado. Se expresa en gramos por metro cuadrado (g.m^2).

La determinación del gramaje es aplicable a papel, papel con recubrimiento adhesivo y tela no tejida con y sin recubrimiento adhesivo.

La masa promedio de un metro cuadrado de papel acondicionado debe estar entre $\pm 5\%$ del valor nominal declarado por el fabricante.

La masa promedio de un metro cuadrado de papel con adhesivo debe estar entre $\pm 7,5\%$ del valor nominal declarado por el fabricante.

La masa promedio para tela no tejida sin recubrimiento adhesivo debe estar entre $\pm 7\%$ del valor nominal declarado por el fabricante.

La masa promedio para tela no tejida con recubrimiento adhesivo debe estar entre $\pm 15\%$ del valor nominal declarado por el fabricante.

Aparatos -

Dispositivo de corte: el dispositivo de corte deberá ser capaz de cortar repetidamente probetas cuya área se encuentre en un entorno de $\pm 1\%$ de un área conocida. Esto debe ser controlado frecuentemente por medición y siempre que se logre la exactitud mencionada anteriormente, el área promedio obtenida en estos controles debe ser utilizada para el cálculo del gramaje. Con ciertos papeles se encontrará, después de llevar a cabo esta determinación de área, que las probetas no pueden ser cortadas con la precisión anteriormente definida; en tales casos, el área de cada probeta deberá ser determinada individualmente.

Balanza: La balanza deberá ser lo suficientemente exacta, en el rango de utilización, para pesar dentro del $0,5\%$ de la masa real. Deberá ser lo suficientemente sensible como para detectar un cambio de $\pm 0,2\%$ de la masa a ser determinada y, si la balanza es del tipo de lectura directa, deberá estar graduada de manera tal que se puedan tomar lecturas con ese grado de precisión.

Se puede usar balanzas especiales para la determinación de gramaje, diseñadas para pesar probetas de un tamaño determinado e indicar directamente su gramaje, si se cumplen totalmente las condiciones antes detalladas y el área de cada probeta no es menor que 500 cm^2 y no mayor que 1.000 cm^2 .

Mientras está en uso, la balanza deberá ser protegida de las corrientes de aire.

Muestreo -

La selección de unidades y la toma de ejemplares de ensayo deberá ser lo más representativo posible. El número de ejemplares de ensayo empleado (por lo menos cinco) deberá ser suficiente para por lo menos 20 probetas.

Preparación de las muestras -

Las muestras deberán acondicionarse a una atmósfera de 23 ± 1 °C y 50 ± 2 % humedad relativa por el tiempo requerido para obtener estas condiciones. Se considera que se ha alcanzado el equilibrio en temperatura y humedad cuando dos pesadas consecutivas de la muestra, efectuadas en un intervalo de no menos de una hora no difieran en más de 0,25 % de la masa total.

Procedimiento -

Para la determinación de gramaje se preparan y se pesan las probetas en las mismas condiciones atmosféricas del acondicionamiento. Utilizando el *Dispositivo de corte*, se corta, de por lo menos 5 ejemplares de ensayo, un mínimo de 20 probetas; si es posible el mismo número de probetas de cada ejemplar de ensayo.

Siempre que sea posible cada probeta deberá tener un área de por lo menos 500 cm^2 y no más de 1.000 cm^2 ; si es necesario, puede estar compuesta de varios trozos más pequeños.

Se determina el área de las probetas por cálculo a partir de las medidas tomadas, redondeando a 0,5 mm.

Se pesa cada probeta y se expresa las masas con tres cifras significativas.

Se calcula el gramaje g , en gramos por metro cuadrado, de cada probeta, por la fórmula siguiente:

$$g = 10.000(m/A)$$

en la cual m es la masa de la probeta, en gramos, y A es el área de la probeta, en cm^2 .

Alternativamente se calcula el gramaje por la fórmula siguiente:

$$g = 10.000(m_{1/2}/\bar{A})$$

en la cual $m_{1/2}$ es la masa promedio de las probetas, en gramos, y \bar{A} es el área promedio de las probetas, en cm^2 .

Si se ha usado una balanza diseñada para pesar probetas de un tamaño determinado, se utiliza la siguiente fórmula:

$$g = g_1(A_1/A)$$

en la cual g_1 es el gramaje indicado de la probeta, en gramos por metro cuadrado, A_1 es el área de la probeta para la cual está calibrada la balanza, en cm^2 , A es el área de la probeta pesada, en cm^2 .

Se calcula el promedio de los resultados y la desviación estándar y se expresan con tres cifras significativas.

Determinación del pH

La determinación del pH (ver 250. *Determinación del pH*) es aplicable a papel y papel con recubrimiento adhesivo.

El pH de un extracto acuoso del papel debe estar comprendido entre 5 y 8.

Principio -

Se extrae una muestra de 2 gramos de material durante 1 hora con 100 ml de agua destilada fría e hirviendo y se mide el pH del extracto.

Reactivos -

Agua destilada o desionizada. La conductividad no debe exceder 0,1 mS/m después de hervir y enfriarse.

Soluciones reguladoras patrón, con valor de pH tal como 4; 6,9 y 9,2.

Muestreo -

Lo selección de unidades y la toma de muestra deberá ser lo más representativo posible.

Preparación de la muestra -

Se corta o rasga la muestra en trozos aproximados de $5 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$, porciones que no hayan sido tocadas por manos descubiertas y asegurándose que las muestras se coloquen solo sobre superficies limpias.

Se mezclan los trozos completamente. Las muestras preparadas se guardan en recipientes limpios y tapados.

Preparación del extracto acuoso: se pesan $2 \pm 0,1$ g, en base a la sustancia seca, de muestra para realizar el *Extracto en caliente* y la misma cantidad para el *Extracto en frío*.

Extracción en caliente: se colocan 100 ml de agua destilada en un frasco con condensador de reflujo y se calienta hasta la temperatura de ebullición. Se desensambla el condensador y el agua casi hirviendo se trasvasa a otro frasco para condensador de reflujo que contiene los trozos de muestra. Se adapta el condensador y se hierve durante 1 hora a fuego moderado. Se permite el enfriamiento rápido hasta temperatura entre 20 y 25 °C con el condensador colocado. Se espera la decantación de las fibras y se trasvasa el extracto sobrenadante a un vaso pequeño. La muestra se realiza por duplicado.

Extracción en frío: se colocan 100 ml de agua destilada en un frasco esmerilado con tapón de vidrio y se agregan los trozos de la muestra. Se tapa el frasco y se deja reposar durante 1 hora entre 20 y 25 °C, agitando por lo menos una vez durante

este tiempo. Se espera la decantación de las fibras y se trasvasa el extracto sobrenadante a un vaso pequeño. La muestra se realiza por duplicado.

Medición del pH -

Se realiza la medición de pH de los extractivos realizados en frío y en caliente. Se expresa el pH como el promedio de las dos determinaciones redondeando a 0,1 unidad. Los resultados individuales no deben diferir en más de 0,2 unidades. Si esto ocurre se repiten las determinaciones y se informa el promedio y rango de todas las medidas.

Determinación del color

La determinación de color es aplicable a papel, papel con recubrimiento adhesivo, tela no tejida con o sin recubrimiento.

El color no se debe lixiviar cuando se realice el extracto acuoso en frío y en caliente de igual forma que para la determinación de pH.

Determinación de cloruros y sulfatos

La determinación de cloruros y sulfatos es aplicable a papel y papel con recubrimiento adhesivo.

El contenido de cloruros como cloruro de sodio no debe exceder el 0,05 %.

El contenido de sulfato como sulfato de sodio no debe exceder el 0,25 %.

Preparación de la muestra -

Se pesan entre 2 y 5 g de muestra, se corta en trozos aproximados de 5 mm × 5 mm.

Procedimiento -

Se transfiere la muestra a un desintegrador y se agregan 250 ± 2 ml de agua destilada a 23 ± 2 °C. Se procede a la acción del desintegrador durante 2 horas.

Se retira una alícuota de la suspensión con una jeringa con filtro de 0,2 µm para prevenir el arrastre de fibras. Es esencial que la alícuota esté libre de material suspendido.

Sobre la alícuota se determina cloruros como ion Cloruro y sulfatos como ion sulfato por cromatografía iónica.

Determinación de la fluorescencia

La determinación de la fluorescencia es aplicable a papel y papel con recubrimiento adhesivo.

Aparatos -

Fuente de radiación ultravioleta, que produzca un pico a 366 nm. La salida luminosa de la lámpara debe ser tal que se obtenga la iluminación requerida de la superficie de la probeta acondicionada.

Preparación de la muestra -

Se corta un trozo del papel en ensayo de 100 mm × 10 mm y se acondiciona de igual forma que para el ensayo de *Determinación del gramaje* a 23 ± 1 °C y 50 ± 2 % de humedad relativa por el tiempo requerido.

Procedimiento -

Se enciende la lámpara y se deja hasta que desarrolle su rendimiento completo. Se ajusta la distancia entre la lámpara y la superficie de la probeta de ensayo de manera tal que la radiación ultravioleta incidente sobre la superficie de la probeta de ensayo sea 300 ± 20 µW/cm².

Se observa el aspecto general de la probeta y la presencia de manchas fluorescentes.

El papel con o sin recubrimiento adhesivo no debe tener más de cinco focos de fluorescencia, cada uno con un eje mayor a 1 mm/dm².

Determinación de la resistencia al estallido en húmedo y en seco

La resistencia al estallido es la máxima presión uniformemente distribuida, aplicada en ángulo recto a su superficie, que una hoja de papel puede soportar bajo las condiciones de ensayo.

La determinación de la resistencia al estallido en húmedo es aplicable a papel y papel con recubrimiento adhesivo.

En seco es aplicable además a tela no tejida con o sin recubrimiento adhesivo.

Para papel, la resistencia en seco no debe ser menor a 230 kPa y en húmedo 35 kPa, empleando un tiempo de inmersión de 10 minutos.

Para papel para la fabricación de paquetes para uso médico que deben ser esterilizados con óxido de etileno o radiación y papel con recubrimiento adhesivo: en seco 200 kPa y en húmedo 35 kPa, con tiempo de inmersión de 10 minutos.

Si será sometido a radiación no es aplicable la resistencia en húmedo.

Principio -

El ensayo consiste en colocar una probeta de ensayo sobre un diafragma circular elástico, se la amordaza rígidamente en el perímetro, pero dejándola curvarse sobre el diafragma. Se bombea fluido hidráulico a velocidad constante, expandiendo el diafragma hasta que la hoja se rompa. La resistencia al estallido de la probeta es el valor máximo de la presión hidráulica aplicada.

Aparatos -

Diafragma: circular, de material elástico, amordazado firmemente con su superficie superior aproximadamente 3,5 mm por debajo del plano superior del elemento de fijación inferior. El material y la construcción del diafragma deberán

ser tales que la presión requerida para expandir al diafragma 9 mm por sobre la superficie superior del elemento de fijación inferior sea de 30 ± 10 kPa.

Sistema de amordazado: para sostener la probeta, firme e uniformemente entre dos superficies anulares planas, que deberán ser suaves (pero no pulidas) y acanaladas. Se debe asegurar que la presión de amordazado esté distribuida en forma pareja. La presión de amordazado deberá ser suficiente para evitar el deslizamiento durante el ensayo, pero no demasiado grande como para dañar la probeta. Normalmente no debe ser menor a 430 kPa.

Sistema hidráulico: para aplicar una presión hidráulica controlada en el lado inferior del diafragma hasta que se produzca el estallido de la probeta. No deberá haber burbujas de aire en el sistema hidráulico ni en el líquido utilizado. La velocidad de bombeo deberá ser de 95 ± 15 ml por min.

Manómetro: tipo Bourdon con indicador de lectura máxima de capacidad adecuada o un transductor de presión calibrado y un registrador de presión con una precisión de 0,2 %.

Preparación de las muestras -

Las probetas de ensayo deberán tener un área mayor que la de las mordazas del aparato y ninguna parte cubierta por las mordazas en un ensayo podrá ser incluida en áreas de ensayo subsiguientes. Las probetas no deben incluir áreas que contengan marcas de agua, pliegues, o daño visible. Deben ser acondicionadas a 23 ± 1 °C y 50 ± 2 % de humedad relativa durante 24 horas.

Procedimiento -

Los ensayos se deberán realizar en la atmósfera normalizada, usada para acondicionar las probetas.

Se levanta la mordaza y se coloca la probeta en una posición que permita usar toda la superficie de amordazado. Luego se aplica la mordaza firmemente sobre la probeta aplicando la presión especificada. Se aplica la presión hidráulica a la velocidad establecida hasta que se produzca el estallido de la probeta. Se lee y registra la presión indicada en el manómetro con tres cifras significativas. Se deberán descartar las lecturas cuando haya ocurrido deslizamiento apreciable de la probeta o cuando el tipo de falla indica que la probeta fue dañada por una presión excesiva o por la rotación de las mordazas durante el amordazamiento.

Si la lectura fuera menor a 70 kPa, se ensaya un número mínimo de hojas simultáneamente para obtener una lectura superior a este valor. Las hojas deben estar dispuestas con uno de los lados (por ejemplo, lado fieltro) en contacto con el otro lado

(por ejemplo, lado tela) y las direcciones de máquina paralelas.

Resultados -

La resistencia al estallido P expresada en kPa, está dada por la fórmula siguiente:

$$P = B/N$$

en la cual B es el valor de la presión hidráulica máxima en kPa, N es el número de hojas ensayadas simultáneamente.

Para la determinación en húmedo se preparan las muestras como en seco, luego se sumergen 10 minutos en agua siguiendo el mismo procedimiento que para tracción en húmedo y luego se realiza la determinación de la resistencia al estallido.

Determinación de la resistencia a la tracción en húmedo y en seco

La resistencia a la tracción es la máxima fuerza de tracción por unidad de ancho que puede soportar el papel antes de romperse, bajo las condiciones definidas de ensayo.

La determinación de la resistencia a la tracción en húmedo y en seco es aplicable a papel, papel con recubrimiento adhesivo y tela no tejida con y sin recubrimiento.

Para papel, la resistencia a la tracción en seco no debe ser menor a 4,40 kN por metro en dirección de máquina y no menor a 2,20 kN por metro en dirección cruzada. En húmedo no debe ser menor a 0,90 kN por metro en dirección de máquina y 0,45 kN por metro en dirección cruzada.

Para papel para la fabricación de paquetes para uso médico que deben ser esterilizados con óxido de etileno o radiación y papel con recubrimiento adhesivo: la resistencia a la tracción en seco debe ser no menor a 4,0 kN por metro en dirección de máquina y 2,0 kN por metro en dirección cruzada. En húmedo, 0,80 kN por metro en dirección de máquina y 0,40 kN por metro en dirección cruzada.

Si el proceso al cual será sometido es radiación no se aplica el ensayo en húmedo.

Para tela no tejida sin o con recubrimiento solo se determina en seco y no debe ser menor a 5,0 kN por metro en dirección de máquina y cruzada.

Principio -

El ensayo consiste en estirar hasta su ruptura una probeta de dimensiones normalizadas a una velocidad de aplicación de carga constante, usando un aparato de ensayo de tracción que mida la fuerza y que registre la tracción máxima.

Aparatos -

Equipo para ensayo de tracción: diseñado para estirar una probeta de dimensiones patrones a una velocidad de aplicación de carga constante y para medir la fuerza de tracción. La velocidad de carga deberá ser ajustada de modo de lograr la ruptura de la probeta en 20 ± 5 segundos.

Equipo para medición de fuerza de tracción: con una precisión de ± 1 %.

Mordazas: para sostener las probetas.

Preparación de las muestras para la determinación en seco -

Las muestras se deberán acondicionar a 23 ± 1 °C y 50 ± 2 % de humedad relativa y las probetas se prepararán y ensayarán en las mismas condiciones.

Se preparan las probetas a partir de ejemplares tomados al azar. No deberán ser incluidas en el área de ensayo arrugas, grietas, o marcas de agua y las probetas no deberán incluir partes de la muestra comprendidas a 15 mm del borde de cualquier hoja o bobina.

Las probetas se cortan una por vez, se corta un número suficiente de probetas como para asegurar 10 resultados válidos obtenidos en cada dirección del papel, es decir en dirección de máquina y en dirección transversal. Los bordes largos de la probeta deberán ser perfectamente rectos, paralelos con una tolerancia de $\pm 0,1$ mm y sin rebordes.

Las dimensiones de las probetas deberán ser las siguientes: el ancho deberá ser 15 mm, 25 mm ó 50 mm, con tolerancia de $\pm 0,1$ mm. El largo deberá ser tal, que la probeta pueda ser colocada en las mordazas sin tocar con las manos la sección que va entre las mismas.

Preparación de las muestras para la determinación en húmedo -

Se preparan las muestras y las probetas igual que para la determinación en seco.

Luego se forma un anillo con la probeta, con la porción central hacia arriba y se sumerge la parte inferior del anillo en agua destilada a 23 ± 2 °C. Se mojan las probetas a saturación, normalmente esto significa un tiempo de inmersión de 1 hora. Luego de la inmersión se sacan las probetas del recipiente, levemente embebidos en agua, se les quita el agua en exceso y se las ensaya de igual forma que en seco.

Procedimiento -

Se ajusta el aparato de acuerdo a las recomendaciones del fabricante.

Se coloca la probeta en las mordazas, se alinea y ajusta la probeta. Se comienza el ensayo, continuando hasta que se rompa la probeta. Se

registra la máxima fuerza de tracción ejercida y el tiempo en que se llegó a la ruptura, redondeando a 1 segundo.

Se ensayan por lo menos diez probetas, cortadas en cada una de las direcciones del papel. Se registran todas las lecturas, excepto las de aquellas probetas que se rompan a menos de 10 mm de las mordazas.

Resultados -

Se calculan y expresan separadamente los resultados obtenidos en cada una de las direcciones del papel. Se calcula la resistencia a la tracción de las probetas, expresada en kN por metro a partir de la fórmula siguiente:

$$S = F/w$$

en la cual S es la fuerza de tracción en kN por metro, F es la fuerza de tracción promedio, en N, y w es el ancho de la probeta en milímetros.

El resultado se expresa con tres cifras significativas.

Determinación de la resistencia al desgarro o rasgado interno

La resistencia al desgarro es la fuerza necesaria para continuar el desgarro comenzado por un corte inicial, en una única hoja de papel. Si el corte se encuentra en dirección de máquina, o si se encuentra transversal a la dirección de máquina, el resultado se expresa indicando la condición.

La determinación de la resistencia al desgarro o rasgado interno es aplicable a papel, papel con recubrimiento adhesivo, tela no tejida con y sin recubrimiento.

Para papel, la resistencia al desgarro no debe ser menor a 550 mN en dirección de máquina y cruzada.

Para papel para la fabricación de paquetes para uso médico que deben ser esterilizados por óxido de etileno o radiación con y sin recubrimiento, debe ser no menor a 300 mN en ambas direcciones.

Tela no tejida con y sin recubrimiento, no menor a 1.000 mN en ambas direcciones.

Principio -

Una probeta conformada por hojas superpuestas, generalmente cuatro, es rasgada a una distancia fijada, usando un péndulo que aplica la fuerza de desgarro moviéndose en un plano perpendicular al plano inicial de la probeta.

El trabajo realizado al desgarrar la probeta se mide por la pérdida de energía potencial de péndulo. La fuerza de desgarro promedio es indicada por una escala ubicada en el péndulo, o por un indicador digital.

La resistencia al desgarro del papel se determina a partir de la fuerza promedio y de la cantidad de hojas que componen la probeta.

Aparatos -

Se utiliza un aparato para determinar la resistencia al desgarro, tipo Elmendorf, de capacidad adecuada para cumplir los requerimientos de ensayo, y masas crecientes o pendientes intercambiables para aumentar la fuerza en desgarro del aparato.

Medios para preparar la probeta, como por ejemplo, una guillotina.

Muestreo -

La selección de unidades y la toma de muestras deberá ser lo más representativa posible. Las muestras deben acondicionarse a una atmósfera de 23 ± 1 °C y 50 ± 2 % de humedad relativa.

Preparación de las muestras -

Se preparan las probetas en la misma atmósfera de acondicionamiento usada para las muestras. No deberá haber arrugas, pliegues u otros defectos visibles en el área de la que se cortará la probeta y ésta no deberá incluir partes de la muestra que se encuentren a menos de 15 mm del borde de la hoja o bobina.

Si en la probeta se encuentran marcas de agua, este hecho deberá ser establecido en el informe.

Se identifican las dos caras del papel. Con la misma cara hacia arriba, se corta de cada ejemplar de ensayo cuatro hojas rectangulares del mismo tamaño, entre 50 ± 2 mm y 76 ± 2 mm de ancho, con los bordes paralelos a la dirección de ensayo; y de un largo tal que después que se haya hecho el corte inicial, ya sea como parte de la preparación de la probeta o con la cuchilla integrada, el largo sin desgarrar sea $43,0 \pm 0,5$ mm.

Se agrupa las hojas cortadas en conjunto de cuatro para formar la probeta.

Alternativamente se agrupan cuatro ejemplares de ensayo con sus direcciones de máquina paralelas y con las caras colocadas de la misma forma, y se corta la probeta como se indica más arriba. El largo no desgarrado será el especificado más arriba.

Los bordes de la hoja que conformen la probeta deberán estar limpios.

Se corta una cantidad de probetas suficiente como para realizar un mínimo de diez ensayos válidos en cada dirección requerida del papel.

Procedimiento -

Se realizan los ensayos en la misma atmósfera de acondicionamiento utilizada para acondicionar las muestras.

Se ajusta y controla el equipo. Se medirán algunos pocos ensayos para seleccionar el péndulo

apropiado, o la combinación de péndulo-masa creciente a ser usadas. Es conveniente realizar el ajuste de modo que el promedio de las lecturas esté en un rango entre el 20 % y el 80 % del total de la escala de lectura.

Se realiza el ensayo en dirección de máquina y en dirección transversal.

Resultados -

Por cada dirección del papel ensayada se calcula el promedio de las lecturas de escala, y a partir de las siguientes fórmulas, la resistencia al desgarro:

$$F = F_1 p / n$$

en la cual F es la resistencia al desgarro en mN, F_1 es el promedio de las lecturas de escala en mN, p es la cantidad de hojas desgarradas simultáneamente, para la cual ha sido calibrada la escala del péndulo para dar una lectura directa de la resistencia al desgarro en mN y n es la cantidad de hojas desgarradas simultáneamente.

La dirección de desgarro puede desviarse de la dirección del corte inicial. Si la desviación promedio excede 10 mm en una o dos de los diez ensayos, se deberá descartar estos resultados y realizar ensayos posteriores para llevar el número de resultados satisfactorios a los diez requeridos. Si la desviación excede 10 mm en más de dos probetas, se deberá incluir estos resultados y registrar este hecho en el informe.

Si en lugar de desgarrarse de manera normal, el papel de cualquier probeta se delamina, presentando una banda ancha de papel delaminado, se debe aplicar el criterio del párrafo anterior a la línea central de la banda desgarrada a través de las probetas.

Si la resistencia al desgarro del papel, o el péndulo, o la combinación péndulo-masa creciente disponible no permite obtener resultados satisfactorios a partir de probetas hechas con cuatro hojas, se deberá utilizar más hojas y aclararlo en el informe.

Determinación de la repelencia al agua

La determinación de la repelencia al agua es aplicable a papel y papel con recubrimiento adhesivo.

Aparatos -

Fuente de luz ultravioleta, con los mismos requisitos que para determinación de fluorescencia.

Desecador.

Cronómetro.

Dosificador de polvo, con un extremo cerrado y el otro con tamiz con un tamaño de apertura nominal entre 0,125 mm y 0,150 mm.

Placa de petri, de aproximadamente 200 mm × 150 mm × 15 mm.

Termómetro de escala adecuada.

Reactivos -

Polvo indicador seco preparado según se describe a continuación: se muelen 20 g de sacarosa en un mortero y se pasa a través de un tamiz con un tamaño de apertura nominal entre 0,063 mm y 0,075 mm. Se seca la sacarosa tamizada en un desecador sobre silicagel o en una estufa regulada entre 105 °C y 110 °C. Se mezclan 10 g de sacarosa seca con 10 mg de fluoresceína sódica seca y se pasa la mezcla cinco veces por el tamiz de apertura nominal entre 0,063 mm y 0,075 mm. Finalmente, se transfiere el polvo indicador seco al dosificador de polvo. El polvo indicador seco en el dosificador se almacena en un desecador o en una estufa entre 105 °C y 110 °C, hasta su uso.

Procedimiento -

Se toman diez porciones de papel a ensayar, cada una de 60 mm × 60 mm, acondicionado a 23 ± 1 °C y 50 ± 2 % de humedad relativa.

Se separan las muestras en dos grupos de cinco, un grupo sobre una cara y el otro sobre la otra. A cada muestra se le hacen dos dobleces de 10 mm de altura y en ángulo recto a lo largo de los dos lados.

Se llena la placa de petri con agua purificada a la temperatura de acondicionamiento hasta una profundidad de 10 mm. Se enciende la lámpara ultravioleta y se deja estabilizar. Se ajusta la distancia de la lámpara de forma tal que la radiación sobre la superficie del agua sea de 300 ± 20 μ W por cm^2 .

Se esparce el polvo indicador sobre la superficie de la muestra hasta formar una película fina. Se deja flotar la muestra debajo de la lámpara ultravioleta y se observa el tiempo para que aparezca la fluorescencia generalizada. Se repite el procedimiento con las nueve porciones restantes.

La repelencia al agua del papel está influenciada considerablemente por la temperatura del agua, la cual se debe mantener entre los límites especificados, 23 ± 1 °C.

La repelencia al agua del papel y papel con recubrimiento adhesivo debe ser tal, que el tiempo de penetración no sea menor a 20 segundos.

Si el papel será de uso en esterilización por radiación no se aplica esta determinación.

Determinación del tamaño de poro

La determinación del tamaño de poro es aplicable a papel y papel con recubrimiento adhesivo.

Principio -

El método consiste en observar la presión requerida para forzar a las burbujas de aire a pasar por los intersticios (poros) de un material humedecido con un líquido o que tenga una película del mismo líquido aplicada en la parte superior de su superficie. La presión junto con la tensión superficial conocida del líquido son usadas para establecer el tamaño de los intersticios del material (poros).

Líquido de ensayo -

El líquido de ensayo debe permitir que el papel sea humedecido completamente, que tenga un bajo poder solvente de los materiales de ensayo, que no produzca hinchazón de las fibras, que tenga una tensión superficial constante, que no sea tóxico, con bajo nivel de inflamabilidad, exento de espuma y de costo moderado. Un líquido que reúne estas condiciones es el etanol.

Aparatos -

El equipo requerido para el ensayo se muestra en la *Figura 1*, y consta de las siguientes partes:

- 1) cabezal de ensayo (1) que consta de: un recipiente cilíndrico de un material apropiado (ejemplo bronce) sobre el cual la muestra "a" se pueda sujetar con un anillo o abrazadera "b" y un tornillo "c". El vaso se ajusta con un empaque de caucho sintético "d" de diámetro interno 50 mm para sellar la muestra.
- 2) Manómetro
- 3) Válvula de corte que sirve para dirigir el aire al cabezal de ensayo.
- 4) Una válvula reguladora de presión.
- 5) Una válvula de corte que dirige el aire al manómetro.
- 6) Depósito de aire de 2,5 litros de capacidad conectado a "1". Esto garantiza que la velocidad de flujo de aire, necesaria para mantener la elevación de la presión requerida, sea tal que la pérdida de aire a través del material, cuando comienza el burbujeo, no disminuya la velocidad de elevación de la presión.
- 7) Suministro de aire.

Usando el equipo representado en la *Figura 1*, se realiza el ensayo de la siguiente manera:

Se abren el suministro de aire y la válvula "3" para dirigir el aire al cabezal a través del recipiente "6" al mismo tiempo se ajusta la válvula "4" para graduar el gradiente de presión requerido. Se mantiene abierta la válvula "5" durante el ensayo. Cuando aparezcan las primeras burbujas en el

material que se está ensayando, se cierra “5” para permitir la lectura de presión en el manómetro “2”.

El equipo para la medición del tamaño de poro equivalente tendrá las siguientes características:

a) debe disponer de los medios adecuados para sujetar la muestra del material de forma que:

- esté horizontal.
- un área circular del material de 50 mm de diámetro será sometida a un incremento constante de presión por la cara inferior del material.
- que no haya fugas del líquido de ensayo.
- que la muestra no se desprenda de las abrazaderas.

b) La tasa de incremento de la presión de aire debe ser de 2,0 kPa por minuto a 2,5 kPa por minuto (220 mm a 250 mm de agua por minuto).

c) el manómetro conectado al cabezal de ensayo debe estar calibrado en kPa (o en mm de agua).

d) El manómetro debe tener un rango adecuado de medición de la presión.

[NOTA 1: las abrazaderas deben estar recubiertas con un material elástico que sea resistente al líquido de ensayo como por ejemplo caucho sintético.]

[NOTA 2: para la mayoría de los materiales se considera apropiado un manómetro que suministre una presión de hasta 6 kPa. Los equipos hasta 10 kPa se recomiendan para mediciones sobre materiales muy cerrados como por ejemplo indumentaria para áreas limpias, campos quirúrgicos.]

Preparación de las muestras -

Después de su recepción se debe manipular el material muy poco, no doblarlo, plancharlo ni someterlo a algún tratamiento diferente al acondicionamiento. Se deben cortar muestras del material de una forma adecuada para su manipulación y sujeción.

Se deben tomar las muestras de diferentes lugares del material evitando los pliegues, de forma que las muestras sean representativas de todo el material. Se recomienda cortar muestras del material de un tamaño de 75 mm × 75 mm.

A menos que se estipule lo contrario, se deben emplear diez especímenes de la muestra del material.

Procedimiento:

1) se realiza el ensayo en condiciones ambientales estandarizadas especificadas, 23 ± 1 °C y 50 ± 2 % de humedad relativa.

2) Se determina la tensión superficial del líquido de ensayo con algún

método apropiado con una precisión de 0,5 mN por metro.

3) Se sumergen aproximadamente 15 mm de la muestra dentro del líquido de ensayo en una placa de petri durante 3 minutos. Se retira la muestra con pinzas y se coloca en el cabezal de ensayo. Se vierten unos pocos ml del líquido de ensayo sobre la superficie del material en cantidad suficiente para cubrirlo completamente antes de someterlo a la presión de prueba. Se registra la temperatura del líquido de ensayo.

[NOTA: el material muy abierto se puede analizar más fácilmente si se permite que la presión del aire aumente sobre la parte posterior de la muestra antes de verter el líquido de ensayo para cubrir completamente la superficie del material.]

4) Después de aumentar la presión del aire aparecen burbujas en diferentes sitios sobre la parte superior de la superficie; se observa ésta permanentemente mientras se incrementa la presión. En el momento en que aparece la primera burbuja se registra el valor de la presión expresada en mm de columna de agua.

5) Se ensayan los demás especímenes hasta obtener el número de resultados requerido.

Resultados -

Cálculo y expresión de los resultados: se calcula el radio del poro R equivalente, en μm , de cada muestra por medio de la siguiente fórmula:

$$R = 20T/D.P.G$$

o la fórmula simplificada:

$$R = 204T/P$$

en la cual T es la tensión superficial del líquido de ensayo a la temperatura de análisis expresada en mN por metro; G es la aceleración de la gravedad en mm por s^2 ; D es la densidad del agua a la temperatura de ensayo, en mg por mm^3 y P es la presión de la burbuja, expresada en mm de agua.

Se calcula el radio promedio del poro y se expresa el resultado como diámetro del poro.

[NOTA 1: el error introducido al tomar D igual a 1 mg por mm^3 para la densidad relativa del agua a la temperatura de la atmósfera normalizada es pequeño comparado con la variabilidad de los resultados del ensayo.]

[NOTA 2: de forma similar, aunque se sabe que G varía alrededor del 0,5 % de lugar a lugar, el

error introducido al asumir un valor constante de 9.810 mm por s², es pequeño comparado con la variabilidad del ensayo.]

Desarrollo de la fórmula para el cálculo del radio del poro equivalente: para un tubo cilíndrico, la presión P expresada en Pascales, necesaria para forzar el líquido a través de él, está dada por la fórmula siguiente:

$$P = 2T\cos Q/R$$

en la cual T es la tensión superficial del líquido en N por metro; Q es ángulo de contacto en la interfase líquido-sólido-aire, expresado en grados; y R es el radio del tubo, en metros.

El ángulo de contacto es muy difícil de medir y por lo tanto se escoge un líquido que humedece completamente el material, por lo tanto el valor del $\cos Q$ sea 1 y la ecuación se convierte en la siguiente expresión:

$$P = 2T/R$$

Esta ecuación es la misma que la ecuación simplificada mencionada para la expresión del radio del poro.

La presión se mide normalmente en mm de columna de agua, debido a que se emplea un manómetro de agua o a que el manómetro ha sido calibrado en mm de columna de agua. Por lo tanto:

$$P = Pb.D.G$$

en la cual Pb es la presión equivalente a la columna de agua, en mm de columna de agua; D es la densidad del agua, en mg por mm³; G es la aceleración debida a la gravedad, en mm por s².

Para papel, el diámetro máximo equivalente al tamaño de poro no debe ser mayor a 50 micrones con un valor medio de 35 micrones.

Para papeles que se usarán para esterilización por óxido de etileno y radiación, con y sin recubrimiento adhesivo, el promedio de los diámetros de poro, debe ser menor o igual a 20 micrones y ninguno de los valores obtenidos debe ser mayor a 30 micrones.

Determinación de la permeabilidad al aire

La permeabilidad al aire está definida como el flujo medio de aire que pasa a través de una unidad de área sometida a una unidad de diferencia de presión, en una unidad de tiempo, en condiciones específicas. Utilizando el principio de medida conocido como GURLEY

La determinación de la permeabilidad al aire es aplicable a papel, papel con recubrimiento y tela no tejida con o sin recubrimiento.

Para papel no debe ser menor de 3,4 $\mu\text{m}/\text{Pa.s}$ con una presión de aire de 1,47 kPa.

Papel para ser utilizado en esterilización por óxido de etileno y radiación con y sin recubrimiento adhesivo, no debe ser menor de 0,2 $\mu\text{m}/\text{Pa.s}$ y no mayor de 6,0 $\mu\text{m}/\text{Pa.s}$

Para tela no tejida sin recubrimiento: no debe ser menor a 1 $\mu\text{m}/\text{Pa.s}$ con una presión de aire de 1,47 kPa.

Para tela no tejida con recubrimiento no debe ser menor a 0,3 $\mu\text{m}/\text{Pa.s}$ con una presión de 1,47 kPa.

Principio -

La presión de aire es ejercida por el peso de un cilindro vertical flotando en un líquido.

La probeta del material a ensayar está en contacto con el aire comprimido y el cilindro baja de manera uniforme mientras el aire pasa a través de la probeta. A partir de él se calcula la permeabilidad al aire del material de la probeta.

Aparatos -

Aparato de medida de resistencia al aire tipo GURLEY

Preparación de la muestra -

El material es acondicionado en condiciones ambientales estandarizadas especificadas, 23 ± 1 °C y 50 ± 2 % de humedad relativa.

El muestreo se realiza del modo más representativo posible

Cuando el aparato a utilizar posee las mordazas de fijación en la parte superior del cilindro interior, el tamaño de las probetas conveniente es 50 mm \times 120 mm. Para el aparato que tiene el sistema de fijación en la base, el tamaño de las probetas apropiado es 50 mm \times 50 mm.

Procedimiento -

Se ensayan cinco probetas con una cara hacia arriba y las otras cinco probetas con la otra cara hacia arriba.

El ensayo se realiza en las mismas condiciones atmosféricas que las utilizadas para el acondicionamiento de las muestras.

Se coloca el aparato sobre una superficie horizontal para que los cilindros queden verticales. El cilindro exterior debe estar lleno de aceite hasta una altura de 120 mm.

Cuando el aparato tiene la fijación en la base, se eleva el cilindro interior hasta que su borde quede sujeto por la presilla, se fija la probeta entre las mordazas, se suelta la presilla y se baja el cilindro interior hasta que flote.

Para el aparato que tiene la fijación en la parte superior, se eleva el cilindro interior con una mano, se fija la probeta con la otra mano y luego se baja el cilindro interior y se lo deja flotar en el aceite.

Se mide el tiempo en segundos que tarda el borde del cilindro exterior en enfrentar las marcas de los dos primeros intervalos consecutivos de 50 ml a partir del punto cero; o sea que se mide el tiempo necesario para el pasaje de 100 ml de aire, con la siguiente precisión:

- menor o igual a 60 segundos, se redondea a 0,2 segundos;
- entre 61 y 180 segundos, se redondea a 1 segundos;
- mayor a 180 segundos, se redondea a 5 segundos.

En el caso de papeles relativamente impermeables, la lectura puede tomarse al final del primer intervalo de 50 ml.

Para papeles muy abiertos puede cronometrarse el tiempo a mayor volumen de aire.

Resultados -

Se calcula la permeabilidad al aire con dos cifras significativas a partir de la fórmula siguiente:

$$P = 127/t$$

en la cual P es la permeabilidad al aire en, $\mu\text{m}/\text{Pa}\cdot\text{seg}$, y t es el tiempo promedio necesario para el pasaje de 100 ml de aire, en segundos. Si se utiliza un volumen distinto a 100 ml, la fórmula será:

$$P = 1,27V/t$$

en la cual V es el volumen cuyo tiempo de pasaje se cronometró, en ml, y los otros términos son los definidos anteriormente.

Si se necesita la desviación estándar, se calcula a partir de las medidas duplicadas del tiempo y se corrige utilizando la fórmula siguiente:

$$P = 127/t$$

Si la resistencia medida al aire es significativamente diferente en las dos caras y se requiere reflejarlo en el informe, se ensayarán diez muestras de cada cara.

Determinación de la absorción superficial de agua (Método de Cobb)

La determinación de la absorción superficial es aplicable a papel con y sin recubrimiento adhesivo.

La absorción superficial de agua es la masa calculada de agua, absorbida por 1 m^2 de papel, en un tiempo especificado.

La absorción superficial de cada uno de los lados del papel, papel para óxido de etileno y radiación con y sin recubrimiento, no debe ser mayor a 20 g por m^2 , empleando un tiempo de exposición de 60 segundos.

Reactivos y aparatos -

- Agua destilada o desionizada a $23 \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$.
- Papel secante con gramaje de $250 \pm 25\text{ g}$ por m^2 .
- Medidor de absorción de agua. Puede utilizarse cualquier tipo de aparato que permita:
 - a) un contacto inmediato y uniforme del agua con la parte de la probeta sujeta a ensayo.
 - b) una remoción rápida y controlada del agua no absorbida por la probeta al final del periodo de contacto.
 - c) una remoción rápida de la probeta sin riesgo de contacto con agua fuera del área de ensayo.

El aparato consiste en una base rígida con una superficie plana lisa y un cilindro de metal rígido con un diámetro interno de $112,8 \pm 0,2\text{ mm}$ (correspondiente a un área de ensayo de aproximadamente 100 cm^2) y con un medio que permita el ajuste firme a la placa base. El borde del cilindro en contacto con la probeta debe ser plano y alisado, con un espesor suficiente como para evitar que corte la probeta.

- Rodillo de metal, con una superficie lisa, de 200 mm de ancho, un diámetro de $90 \pm 10\text{ mm}$ y una masa de $10 \pm 0,5\text{ kg}$.
- Balanza con una precisión de 1 mg.
- Cronómetro graduado en segundos, capaz de realizar medidas de hasta por lo menos 30 minutos.
- Cilindro graduado, u otros medios para medir alícuotas apropiadas.

Preparación de la muestra -

Las muestras deben ser representativas y previamente acondicionadas a $23 \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$ y $50 \pm 2\%$ de humedad relativa.

Se preparan las probetas de ensayo en las mismas condiciones atmosféricas en las que se prepararon las muestras. Se debe evitar tocar el área de ensayo con las manos o los dedos. Se cortan de los ejemplares de ensayo por lo menos diez probetas de un tamaño suficiente como para exceder el diámetro del cilindro en por lo menos 10 mm, cuidando que el área de ensayo no tenga dobleces, quiebres, hendiduras u otros defectos.

Procedimiento -

El ensayo se realiza en las mismas condiciones atmosféricas en las que se acondicionaron las muestras.

Se pesa la probeta redondeando a 1 mg y se coloca con la superficie a ser ensayada hacia arriba sobre la placa base. Se coloca el cilindro con el borde alisado en contacto con la probeta y se lo ajusta lo suficientemente firme para evitar que se escape el agua entre ambos. Se vierte dentro del cilindro $100 \pm 5\text{ ml}$ de agua e inmediatamente se activa el cronómetro. A los 45 ± 1 segundos,

teniendo cuidado que el agua no entre en contacto con la superficie de la probeta fuera del área de ensayo se quita el exceso de agua. Se quita la probeta del cilindro y se coloca, con la cara de ensayo hacia arriba, sobre una hoja de papel secante previamente colocada sobre una superficie rígida plana.

Luego de 60 ± 2 segundos después de haber iniciado el ensayo, se coloca una segunda hoja de papel secante sobre la superficie de la probeta y se quita el exceso de agua, usando el rodillo de mano, con dos pasadas sin ejercer presión alguna sobre el rodillo.

Inmediatamente después del secado se dobla la probeta con el lado húmedo hacia adentro y se pesa nuevamente, de modo que el incremento en masa debido a la absorción de agua pueda ser determinado antes de que se produzca cualquier pérdida por evaporación.

Las probetas deben descartarse si el agua pasó a través de la misma, o muestra señales de pérdidas alrededor del área ajustada, o muestra exceso de agua después del secado.

Resultados -

Se calcula la absorción de agua A , expresada en gramos por metro cuadrado, con una cifra decimal para cada probeta, por la fórmula siguiente:

$$A = (m_2 - m_1)F$$

en la cual A es la absorción de agua en g por m^2 , m_1 es la masa seca en g de la probeta, m_2 es la masa húmeda en g de la probeta, F es igual a $10.000/\text{área}$ de ensayo (para aparatos normales esto es 100 cm^2).

Para cada lado ensayado se calcula la absorción de agua promedio redondeando a $0,5 \text{ g por } m^2$ y la desviación estándar.

Determinación de la impermeabilidad o ausencia de poros en film y laminados plásticos

Aparatos y reactivos -

1- esponja normal, hecha de un bloque de esponja de celulosa con unas dimensiones nominales de $110 \text{ mm} \times 75 \text{ mm} \times 32 \text{ mm}$ unida con adhesivo a prueba de agua a una placa metálica de $110 \text{ mm} \times 75 \text{ mm} \times 12 \text{ mm}$ de modo que la masa total es 800 ± 50 gramos.

2- Bandeja, no menor de 15 mm de profundidad y dimensiones mínimas de $130 \text{ mm} \times 95 \text{ mm}$.

3- Papel absorbente, blanco, filtro de absorción media o media rápida o papel de cromatografía.

4- Superficie de vidrio plano.

5- Solución acuosa de tinción, 1 g por 100 ml de rojo amaranto que contenga 0,005 % de cetrimida como agente humectante.

Preparación de las muestras -

Se toman cinco bolsas mixtas (pouch) o tramos de rollo no menor a 250 mm de largo y se remueve la capa de plástico identificando la cara externa para determinación en laminados plásticos. Se toman cinco envases flexibles plásticos para el caso de film plásticos de la misma medida.

Procedimiento -

Se coloca un pedazo de papel absorbente de tamaño similar a la muestra sobre el vidrio plano y se coloca la cara interna de la película a ser ensayada en contacto con el papel absorbente.

[NOTA: para bolsas mixtas o rollos con fuelle, el ensayo debe ser realizado sobre una sola capa de lámina plástica incluyendo el área que se encuentra doblada.]

Se vierte la tinta en la bandeja y se coloca la esponja en la bandeja por un minuto. Se retira la esponja removiendo el exceso de tinta con el borde de la bandeja.

Se coloca la esponja sobre la muestra asegurándose que la esponja no esté a menos de 15 mm del borde y se deja por 2 minutos. Se retira la esponja y se examina el papel absorbente buscando manchas causadas por la penetración de la tinta. Se repite el procedimiento para el resto de las muestras.

Se informa el número de muestras que permitieron que se manchara con la tinta el papel absorbente.

La película plástica debe estar libre de perforaciones.

Determinación del factor de rompimiento de la película plástica:

El factor de rompimiento de la película plástica no debe ser menor de 20 Newtons por 15 mm de ancho.

Principio -

El ensayo consiste en estirar hasta la ruptura una probeta normalizada de película plástica a una determinada velocidad de ensayo, utilizando un aparato de ensayo de tracción que mida fuerza.

Aparatos -

Equipo para ensayo de tracción que se adapte a las características de las probetas y las condiciones de ensayo.

Preparación de las muestras -

Las muestras deben ser acondicionadas a 23 ± 2 °C y 50 ± 5 % de humedad relativa por no menos de 40 horas previas al ensayo.

El número de muestras a ensayar será de cinco en el caso de materiales isotrópicos. Para materiales anisotrópicos, se utilizará un mínimo de diez muestras, cinco para dirección normal y cinco en dirección de la anisotropía.

Las muestras consisten en tiras de ancho y espesor uniforme, con un mínimo de 50 mm más largas que la mordaza de separación utilizada. El ancho de las tiras no debe ser menor que 5,0 mm ni mayor a 25,4 mm.

Se debe tener especial atención al corte de las tiras para prevenir marcas y roturas dentro de lo posible que pueden causar falla prematura.

La variación de espesor de las tiras puede ser del 10 % para materiales de 0,25 mm de espesor o menos y dentro del 5 % en el caso de materiales con espesor mayor a 0,25 mm pero menor que 1,00 mm.

La longitud estándar de las tiras será de 250 mm.

Procedimiento -

Se mide el área de sección transversal de la muestra a varios puntos a lo largo de su longitud. Se mide el ancho con una exactitud de 0,25 mm o mayor. Se mide el espesor con una exactitud de 0,0025 mm o mayor para films menores que 0,25 mm de espesor y con una exactitud de 1 % o mayor para films mayores a 0,25 mm pero menores que 1,0 mm de espesor.

Se coloca la probeta muestra entre las mordazas. Se selecciona un rango de carga tal que la falla en la muestra ocurra por encima de los dos tercios. La separación inicial de las mordazas dependerá del porcentaje de elongación que tenga el material. Se especifica en *Tabla 1*.

La velocidad de ensayo debe ser calculada desde el requerimiento inicial de tensión como se indica en *Tabla 1*.

La tasa de separación de las mordazas puede calcularse como:

$$A = B.C$$

en la cual *A* es la tasa de separación de las mordazas en mm por minuto, *B* es la distancia inicial entre las mordazas en mm, y *C* es la tensión inicial en mm/mm.min.

Se mide la máxima fuerza aplicada que rompió la película.

Resultado -

El factor de rompimiento se calculado dividiendo la máxima fuerza por el ancho mínimo de la muestra. Los resultados se expresan en fuerza

por unidad de extensión en ancho, usualmente N/15 mm de ancho.

Determinación de la resistencia a la delaminación de las láminas plásticas en bolsas mixtas

El ensayo es aplicable a todos los envases mixtos.

Preparación de las muestras -

Se toman diez bolsas mixtas y se llenan hasta la mitad con gasa de algodón.

Procedimiento -

Se sellan las muestras de acuerdo a las recomendaciones del fabricante con una selladora de calor.

Se colocan las muestras en un esterilizador. El ciclo de operación debe ser ajustado a los límites definidos por el fabricante para el material de empaque y los parámetros validados del ciclo operativo.

Se lleva a cabo el ciclo, se retiran y examinan las muestras visualmente.

Resultados -

Se reporta el número de muestras que han estallado y el número de láminas de plástico en las cuales se presenta desprendimiento de las capas o se opacan.

El envase no debe estallar y la lámina plástica no debe delaminarse ni opacarse.

ENSAYOS FUNCIONALES PARA ENVASADO FINAL

Determinación de la pelabilidad en los productos papel/laminado plástico

Equipos

Regla graduada en intervalos de 0,5 mm.

Procedimiento -

Lenta y cuidadosamente se despega el termosellado con las manos. Visualmente se revisa que el termosellado se extienda a lo largo de todo el ancho y largo de las líneas de sellado y que no haya un desprendimiento de papel mayor a 10 mm desde las líneas de sellado.

Cuando el termosellado se desprende generalmente se muestra una apariencia mate donde el sellado se llevó a cabo, pero la apariencia brillante se conserva donde no hubo un sellado satisfactorio.

Se mide el ancho del termosellado en la cara interna del plástico en cinco partes diferentes.

Resultados -

Se reporta el promedio y anchos mínimos del termosellado (con aproximación a 0,5 mm) y cualquier tipo de imperfección en la línea de sellado o desprendimiento del papel mayor a 10 mm del borde del sellado.

El sello debe cubrir el ancho total y el largo total de las líneas individuales del termosellado y no debe haber rasgado de papel más de 10 mm desde el borde de la línea de termosellado.

Determinación de la resistencia de la línea de termosellado para bolsas mixtas

Aparatos -

a- Esterilizador, conforme al proceso validado.

b- Medidor de tensión con una tasa de separación continua, con una variación de ± 10 mm por minuto que permita determinar la resistencia a la tensión al momento de falla con una precisión de ± 1 %.

Preparación de las muestras -

a- Seco: se cortan cinco tiras de $15 \pm 0,1$ mm de ancho y con un largo suficiente para usar el equipo con la bolsa mixta a ensayar, a ángulo recto o perpendicular a la línea de sellado, quedando ésta aproximadamente en el centro de la tira.

b- Seco-esterilizado: se corre el ciclo de esterilización y se preparan cinco tiras como está indicado en *a*.

c- Húmedo: se preparan cinco tiras como en *a*. Inmediatamente antes de ensayar la muestra se sumerge la parte central en agua purificada a 23 ± 2 °C con la línea de sellado al centro de la sección húmeda. Después de un minuto de inmersión se retira la tira, se remueven los excesos de agua con un trozo de papel absorbente y se ensaya.

d- Húmedo esterilizado: se corre el ciclo de esterilización y se preparan las muestras de acuerdo a *c*.

Procedimiento -

Se sujeta la punta de la lámina de plástico en una de las pinzas de la máquina y la otra punta de papel en la otra pinza dejando un pequeño margen desde la punta. Se despega el sello a una tasa de separación de 200 ± 10 mm por minuto y se registra la fuerza máxima.

Resultados -

Se reporta la resistencia del termosellado de cada muestra en Newtons por 15 mm de ancho.

La resistencia del termosellado con muestra seca no debe ser menor a 1,5 N por 15 mm de ancho, antes y después de someterse al proceso de esterilización.

La resistencia del termosellado con muestras húmedas no debe ser menor a 1,2 N por 15 mm de ancho, antes y después de someterlo al proceso de esterilización.

Determinación de fugas por emisión de burbujas

Este método cubre la determinación completa de fugas en envases flexibles no porosos conteniendo headspace (espacio libre superior).

La sensibilidad es limitada a 1.10^{-5} atm.cm³/s (1.10^{-6} Pa.m³/s).

Pequeñas fugas pueden no ser detectadas por este método. Los efectos visco-elásticos de los productos, o el aire atrapado, puede ser significativo y ocluir pequeñas aberturas.

La presión positiva dentro del envase después del vacío puede forzar a tapar pequeñas fugas. El tamaño de la fuga que puede ser detectado es dependiente del producto que contiene, de la naturaleza del material de envase y de los parámetros seleccionados del ensayo.

Aparatos -

Cámara de vacío: contenedor transparente capaz de resistir aproximadamente 1 atm de presión diferencial, adecuada con una tapa ajustada. Manómetro para vacío, un tubo de entrada de la fuente de vacío y un tubo de salida a la atmósfera que puede conectarse con la tapa de la cámara. Los tubos de entrada y salida pueden ser equipados con válvulas manuales. Adjunto a la parte inferior de la tapa, un plato con las dimensiones aproximadas de la cámara.

Reactivos -

Fluido de inmersión: se debe usar un fluido de inmersión que no degrade el envase a ensayar. Fluidos con baja tensión superficial son más sensibles, como por ejemplo, agua, agua tratada con un agente humectante, alcohol desnaturalizado, aceite mineral.

Muestras -

El número de muestras a usar puede ser variable acorde con la naturaleza del producto, el costo, el tamaño, y el tamaño del lote de producción. El envase puede estar con o sin contenido.

Las muestras y el fluido deben estar en equilibrio con la temperatura ambiente.

Procedimiento -

1- Sumergir la muestra en el fluido contenido en la cámara. La superficie

superior de la muestra debe estar cubierta por no menos de 25 mm de fluido. Una o más muestras pequeñas pueden ensayarse al mismo tiempo, siempre que todas las partes de los envases bajo ensayo puedan ser observados.

2- Colocar la tapa a la cámara de vacío, cerrar la válvula de salida, aplicar vacío lentamente (1 inHg/s) hasta el nivel de vacío seleccionado. El nivel de vacío elegido debe ser lo más largo posible para asegurar óptima sensibilidad del ensayo. El factor límite puede incluir la fragilidad del envase, el grado de expansión del envase y la presión de vapor del fluido.

3- Durante el aumento del vacío, observar la muestra sumergida por fugas, en forma de progresión continua de burbujas del envase. Burbujas aisladas causadas por aire atrapado no son consideradas. Además considerar el incremento aproximado del volumen del envase. La presión diferencial del ensayo está inversamente relacionada con el aumento de volumen en la muestra; por lo tanto un incremento significativo del volumen disminuye o desmerece la severidad del ensayo. Envases flexibles con una pequeña cabeza o espacio libre no pueden ser realmente evaluados por este método.

4- El vacío debe ser sostenido por un espacio de tiempo especificado [NOTA: 30 segundos es lo recomendado.]

5- Liberar el vacío, remover la tapa y examinar la muestra para ver presencia de fluido dentro del envase.

Interpretación de resultados -

1- Si hay burbujas definidas durante la aplicación de vacío se considera que la muestra falló el ensayo.

2- Si hay fluido dentro del envase, falló el ensayo.

3- Si no hay burbujas y no hay fluido dentro del envase, la muestra pasó el ensayo.

Determinación de fugas en el sellado por penetración de colorante

El método de determinación de fugas por medio de penetración de colorante detecta una fuga igual o mayor a la producida por un canal de 50 micrones en la unión del sellado de un envase formado por un film transparente y un material de papel poroso.

El método se encuentra limitado a materiales porosos que pueden retener la solución colorante y prevenir la decoloración del área de sellado por un mínimo de 20 segundos. Papeles no recubiertos son especialmente susceptibles a fugas y deben ser evaluados cuidadosamente de un lado y otro. El método requiere que la solución colorante tenga buen contraste con el color original del envase.

Este procedimiento de penetración de colorante es aplicable solo para fugas individuales en el sellado del envase.

Aparatos y reactivos -

Dispositivo para aplicación del colorante dentro del envase que puede ser una jeringa con aguja.

Microscopio o lente óptico con una resolución de 5X a 20X.

Solución de colorante: solución acuosa con 0,5 % de Tritón X-100 y 0,05 % de azul de tolueno. La solución se prepara agregando a un recipiente apropiado el 10 % de la cantidad de agua requerida; luego se agrega el Tritón y se bate la mezcla. Una vez que el Tritón se dispersa, el remanente de agua puede ser volcado y se agrega la tintura de azul de tolueno. Otro colorante o tintura fluorescente puede utilizarse pero su precisión debe ser determinada.

Muestras -

Las muestras de envases a las cuales se determinará fuga, deberán contener producto dentro. Los envases deben estar libres de condensaciones o de cualquier otra forma de agua líquida. La existencia de agua en la parte defectuosa del sellado puede volver la fuga indetectable por este método. Las muestras deben ser acondicionadas antes del ensayo a 23 ± 2 °C y 50 ± 2 % de humedad relativa por 24 horas.

Procedimiento -

Limpiar el envase previo a la aplicación del colorante. Inyectar suficiente colorante para cubrir la longitud de la unión a una profundidad de 5 mm. Permitir a la solución tomar contacto con el sellado por un tiempo mínimo de 5 segundos y un tiempo máximo de 20 segundos. Las fallas serán detectadas durante este periodo, pero más allá de este tiempo, la solución colorante ingresará al material poroso y dará color a la totalidad del sellado.

Girar el envase lo necesario como para exponer todo el sellado a la solución colorante. Inyectar si es necesario más colorante para asegurar la completa exposición del sellado.

Examinar con lente óptico el área de sellado a través del lado transparente del sellado.

Las fallas en el sellado serán detectadas porque el colorante ingresará rápidamente al área adyacente

a la falla, haciendo una mancha más grande que el tamaño de ésta.

La evidencia de penetración de colorante al otro lado del sellado o en el interior de éste debe ser tomada como indicador de presencia de un sitio de fuga.

La evidencia de penetración de colorante a través del material poroso formando un área húmeda no debe ser tomada como presencia de un sitio de fuga.

Este método no es cuantitativo. Del ensayo no se desprenden indicadores del tamaño de la fuga.

Ensayo de envejecimiento acelerado de envases de productos médicos estériles

El ensayo de envejecimiento acelerado permite determinar en forma rápida los efectos del pasaje del tiempo y efectos ambientales sobre la integridad de envases estériles y las propiedades físicas de sus materiales constitutivos relacionadas con la seguridad y función del material de empaque.

El ensayo se basa en la suposición de que las reacciones químicas involucradas en el deterioro de los materiales y sus propiedades siguen la función de Arrhenius. Esta función manifiesta que un aumento o disminución de 10 °C en la temperatura de un proceso homogéneo resulta en cambios de aproximadamente 2 a 2,5 tiempos en la velocidad de reacción química Q_{10} .

Aparatos -

Estufa o gabinete con circulación de aire a la temperatura y humedad relativa seleccionados para el ensayo, con controladores capaces de mantener los parámetros seleccionados y con los límites de tolerancia propuestos.

Preparación de las muestras -

Previo a la determinación del ensayo se deberá realizar la caracterización de los materiales de envases a ensayar como:

- morfología (vítrea, amorfa, semicristalina, altamente cristalina, porcentaje de cristalinidad, etc.).
- transiciones térmicas: T_m (temperatura de fusión); T_g (temperatura de transición vítrea); T_a (temperatura de distorsión por calor).
- Aditivos, agentes ayuda proceso, catalizadores, etc.

La caracterización del material de empaque establecerá los límites de temperatura de ensayo a utilizar.

Las muestras deberán ser sometidas al proceso de esterilización validado al que se someterá normalmente el empaque.

El número de muestras a utilizar deberá ser representativo del lote de producción. Se recomienda como mínimo un número de 5 muestras para cada tiempo ensayado.

Procedimiento -

1- Selección de la temperatura de ensayo: la temperatura de ensayo se selecciona teniendo en cuenta las características del material. Altas temperaturas no son recomendables, porque si bien acortan los tiempos de envejecimiento acelerado, pueden tener un efecto sobre el material que no ocurre en tiempo real o a temperatura ambiente y, a temperaturas mayores a 60 °C los cambios en los sistemas poliméricos no son lineales. Las temperaturas deben estar por debajo de las que produzcan transiciones térmicas en el material como por ejemplo menor de 10 °C de su T_g .

2- Determinación del Factor de envejecimiento acelerado (F_{EA}). Es el índice de tiempo calculado para producir los mismos cambios en el envase que en tiempo real.

$$F_{EA} = Q_{10}^{(T_{EA} - T_{TR}) / 10}$$

en la cual T_{EA} es la temperatura a la cual se realizará el ensayo de envejecimiento; y T_{TR} es la temperatura que representa las condiciones de almacenamiento real. El valor de Q_{10} para estos ensayos se estandariza en 2.

3- Se determina el t_{EA} (tiempo de ensayo para el envejecimiento acelerado) como:

$$t_{EA} = \text{tiempo real o deseado} / F_{EA}$$

Se determinan además los intervalos de tiempo a usar para realizar los ensayos, además del tiempo cero y el tiempo de envejecimiento acelerado.

4- Se definen las propiedades del material a ensayar a los distintos tiempos, utilizándose el ensayo de integridad y el ensayo de resistencia física tales como la resistencia de sellado, la integridad de sello, la resistencia a la tracción, la resistencia al desgarro, la resistencia al impacto, etc. Se definen las cantidades de muestras a evaluar y los criterios de aceptación de acuerdo a la propiedad a evaluar. Las propiedades seleccionadas del envase a evaluar serán aquellas que resulten las más críticas para el

envejecimiento, resultante del stress del tiempo.

5- Se realiza el ensayo sometiendo las muestras luego del proceso de esterilización a la estufa con la temperatura de ensayo determinada.

6- Se evalúan las propiedades del material a los tiempos establecidos del ensayo.

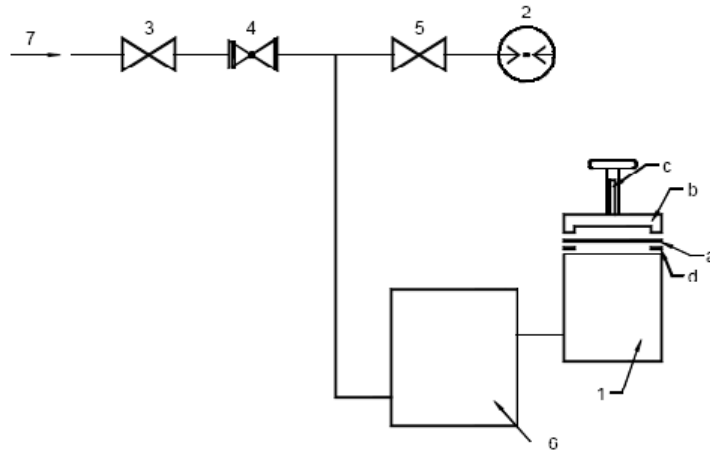
Resultados:

- a) Si los resultados del ensayo de envejecimiento acelerado se encuentran dentro de los límites de aceptación, entonces la durabilidad del envase puede asumirse al tiempo real presumido para el ensayo.
- b) Si los resultados del ensayo de envejecimiento acelerado no se encuentran dentro de los límites de aceptación, se debe evaluar una durabilidad menor o a tiempo real.
- c) Los resultados del ensayo siempre deben comprobarse a tiempo real para considerar validada la fecha de caducidad.

Tabla 1 - Determinación del factor de rompimiento de la película plástica

<i>% de elongación a la rotura</i>	<i>Tasa de tensión inicial (mm/mm.min)</i>	<i>Separación inicial de mordazas (mm)</i>	<i>Tasa de separación de mordazas (mm/min)</i>
menor que 20	0.1	125	12.5
entre 20 y 100	0.5	100	50
mayor que 100	10.0	50	500

Figura 1 – Equipo para la determinación del tamaño de poro



1-Cabezal de ensayo.

2-manómetro.

3-válvula de corte.

4-válvulas reguladoras de presión.

5-válvula de corte.

6-depósito de aire.

7-suministro de aire.

a- muestra

b- abrazadera

c- tornillo

d- empaque de caucho.

475. ESTERILIZACIÓN

Se denomina esterilización al proceso validado por medio del cual se obtiene un producto libre de microorganismos viables. El proceso de esterilización debe ser diseñado, validado y llevado a cabo de modo de asegurar que es capaz de eliminar la carga microbiana del producto o un desafío más resistente.

Dado que la esterilidad no puede demostrarse de manera absoluta sin causar la destrucción completa de todas las unidades del lote de producto terminado, se define la esterilidad en términos probabilísticos, en donde la probabilidad de que una unidad de producto esté contaminada es aceptablemente remota. Se considera que un producto crítico es estéril cuando la probabilidad de que un microorganismo esté presente en forma activa o latente es igual o menor de 1 en 1.000.000 (coeficiente de seguridad de esterilidad 10^{-6}).

Para llevar a cabo los procesos de esterilización se requiere:

- Instalaciones y suministros calificados;
- Equipamiento calificado y con mantenimiento preventivo periódico;
- Precauciones para disminuir la carga microbiana inicial del producto hasta un valor mínimo;
- Procesos de esterilización validados;
- Personal calificado y entrenado;
- Controles sobre el ambiente y sobre el personal;
- Monitoreo y registro de los procesos de rutina.

La validación es el procedimiento que permite obtener, registrar e interpretar datos con el fin de demostrar que un equipo o proceso cumple en todas las ocasiones con las especificaciones predeterminadas. Aplicado a los procesos de esterilización, la validación evalúa la aptitud del esterilizador y califica su funcionamiento con la carga del producto. Consta de las siguientes actividades secuenciales documentadas:

- Calificación de la Instalación
- Calificación Operativa
- Calificación de Desempeño

Calificación de la Instalación

Implica demostrar en forma documentada que todos los aspectos de la instalación y los suministros del equipo son los correctos y se cumplen las especificaciones del fabricante.

Consiste en verificar el cumplimiento de las especificaciones de diseño y de las características de construcción, verificar la correspondencia de

todos los componentes del equipo y planos; verificar la calidad, capacidad, presión, tipo y pureza (de ser aplicable) de todos los suministros. Los instrumentos destinados a evaluar las variables críticas del proceso se deben calibrar frente a un estándar o patrón de referencia nacional. En el caso que exista un programa que ejecute el proceso de esterilización (microprocesador), el mismo debe validarse por un procedimiento establecido.

Calificación operativa

Su objetivo es verificar que todos los componentes del equipo funcionan de acuerdo a lo especificado. Para este efecto se deben poner a prueba de operación normal todos los dispositivos del equipo y evaluar la uniformidad y reproducibilidad de las variables críticas del proceso, sin carga de producto.

Calificación o certificación de desempeño

Implica demostrar en forma documentada que el equipo produce un producto apropiado (coeficiente de seguridad de esterilidad 10^{-6}) cuando opera de acuerdo con las especificaciones del proceso.

Para estos efectos, es necesario definir el tipo y patrón de carga a esterilizar considerando los artículos y sus respectivos empaques. El patrón de carga es un aspecto crítico en relación a la distribución del calor o del agente esterilizante dentro de la cámara.

La Calificación de desempeño incluye la Calificación de Parámetros físicos y la Calificación microbiológica

Calificación de desempeño física - La primera fase en la Calificación de desempeño consiste en desarrollar perfiles de temperatura en la carga, evaluando la efectividad de la penetración del calor en el producto, y caracterizar los cambios de presión a lo largo del ciclo.

Calificación de desempeño microbiológica - Consiste en validar los ciclos en cuanto a la capacidad de eliminación de microorganismos utilizando indicadores biológicos incorporados a los productos, o en su defecto utilizando productos simulados inoculados con portadores biológicos. Durante la calificación microbiológica se debe verificar que finalizado el ciclo se ha alcanzado en el producto la probabilidad de supervivencia de 10^{-6}

Habitualmente cuando el producto es termoestable se utiliza la aproximación de sobremuerte, en este enfoque no se tiene en cuenta el tipo ni la cantidad de microorganismos

contenidos inicialmente en el producto a esterilizar, utilizando como referencia solamente la población y resistencia del bioindicador.

El segundo enfoque, aproximación de supervivencia, es aplicable solamente al desarrollo y validación de ciclos en los que el producto puede ser alterado por el proceso de esterilización, por ejemplo, la esterilización por calor húmedo de productos sensibles al calor.

Se denomina esterilización terminal al proceso aplicable cuando el producto se esteriliza en su envase definitivo. Cuando la naturaleza del producto impide su esterilización terminal se debe proceder a esterilizar en forma separada cada uno de sus componentes por cualquiera de los métodos de esterilización terminal descriptos a continuación, seguido de un proceso de preparación aséptica del producto final.

Los procesos de preparación aséptica de productos estériles a partir de componentes preesterilizados deben también ser certificados y validados; algunos puntos críticos de la validación del proceso incluyen ensayos de eficacia de los sistemas de filtración de aire y el procesamiento de un producto simulado estéril.

Métodos y condiciones de esterilización

Se debe llevar a cabo el proceso de Esterilización por alguno de los métodos que se describen a continuación, teniendo en cuenta las características del producto médico, como por ejemplo su resistencia térmica.

Clasificación

- Físicos
 - Calor húmedo,
 - Calor seco,
 - Radio-esterilización,
 - Filtración.
- Químicos
 - Óxido de etileno,
 - Vapor a baja temperatura con formaldehído,
 - Plasma de peróxido de hidrógeno.

Esterilización por calor húmedo Vapor de agua saturado

Es el método de elección siempre que sea aplicable. Su efecto esterilizante se fundamenta en la acción del calor transmitido por el vapor saturado a presión superior a la normal sobre los componentes celulares, produciendo coagulación proteica, ruptura de DNA y RNA y pérdida de material de bajo peso molecular, logrando así inactivación de los microorganismos. Los parámetros críticos del proceso son temperatura,

tiempo y vapor saturado, siendo la temperatura de referencia para el proceso 121 °C. La selección del tipo de ciclo de esterilización a emplear depende de la configuración del producto y de la capacidad del mismo y del empaque para soportar las temperaturas, la presión y el calor transferidos. Los factores que pueden influenciar la esterilización de los productos son: tipo de empaque según su densidad y porosidad, composición y complejidad del dispositivo en cuanto a diseño y resistencia térmica, y el tipo de carga en el esterilizador, homogénea o heterogénea, volumen de la cámara ocupado, etc.

Los ejemplos de tiempos de exposición en ciclos de vapor saturado son 134 °C para un tiempo de exposición mínimo de 3 minutos y, 121 °C para un tiempo de exposición mínimo de 15 minutos. Pueden ser utilizadas relaciones tiempo-temperatura distintas de las mencionadas. En todos los casos debe validarse cada proceso en particular.

Un ciclo típico de esterilización por vapor consta de una etapa inicial de eliminación previa del aire de la cámara y de los productos, lo que se consigue habitualmente por medio de vacío fraccionado alternado con inyecciones de vapor saturado, seguido de la etapa de esterilizado o tiempo de contacto con el vapor saturado a la temperatura preestablecida; finalmente se procede al secado del material, etapa fundamental para mantener las propiedades barrera del envase.

Cuando el material no admite ser sometido a la acción del vacío se utiliza la remoción previa del aire por desplazamiento gravitacional; en estos casos se omite la etapa de secado posterior al esterilizado, ya que la naturaleza de los productos (generalmente líquidos en envases flexibles o rígidos), no lo requiere.

Controles de proceso

- Ensayo de eliminación del aire y penetración del vapor ó Test de Bowie-Dick,
- Temperatura en la cámara y en la carga,
- Presión en cámara,
- Indicador químico de proceso,
- Indicador biológico.

No puede utilizarse para procesar materiales termosensibles, alterables por la humedad, sustancias oleosas, grasas, polvos y materiales eléctricos.

Concepto de F_0 y aplicación a la esterilización por vapor

El valor de F_0 de un proceso de esterilización por vapor saturado es la letalidad lograda en el producto en su envase definitivo, expresada en

términos de tiempo equivalente en minutos, a una temperatura de 121 °C, referenciando la carga biológica del producto a la de un microorganismo hipotético que posee un valor Z de 10 °C

El valor Z relaciona la resistencia al calor de un microorganismo con los cambios de temperatura.

Z se define como el cambio de temperatura en grados centígrados requerido para modificar el tiempo de reducción decimal D en un factor de 10, siendo D para una dada temperatura de esterilizado, el tiempo requerido para reducir el número de microorganismos viables a un 10 por ciento del número original.

La utilización del concepto matemático de F_0 es particularmente útil en la esterilización de productos termosensibles a temperaturas inferiores a 121 °C, ya que permite calcular el tiempo equivalente a 121 que produciría el mismo efecto letal que el tiempo de exposición a las temperaturas y condiciones reales a las que es sometido el producto.

El F_0 total de un proceso tiene en cuenta las fases de calentamiento y enfriamiento del ciclo y se puede calcular por integración de las tasas de letalidad con respecto al tiempo, a intervalos distintos de temperatura a la que está siendo sometido el producto a esterilizar.

Cuando se diseña y se valida un ciclo de esterilización por vapor tomando como base el concepto de F_0 , el criterio microbiológico es el de aproximación de supervivencia, en lugar del más habitual criterio de sobremuerte; debiendo el proceso entregar al producto la mínima cantidad de calor (F_0 mínimo) para alcanzar el nivel de seguridad de esterilidad de 10^{-6} , sin afectar adversamente sus características por excesivo calentamiento.

En estos procesos es preciso tomar precauciones para asegurar que se consigue en forma repetitiva una garantía adecuada de esterilidad, debiéndose demostrar que los parámetros microbiológicos garantizan un nivel de aseguramiento de esterilidad de 10^{-6} o menor.

Esterilización por calor seco

El mecanismo de acción microbicida se basa en la acción oxidante del aire seco caliente que circula por convección forzada a través de los productos.

Los parámetros críticos del proceso son temperatura y tiempo, siendo las relaciones sugeridas, 160 °C durante 2 horas y 170 °C durante 1 hora. Estas temperaturas se relacionan con el tiempo de exposición después de haberse logrado la temperatura específica en el punto más frío de la carga y no incluye tiempos de calentamiento.

El método de calor seco se utiliza también para la esterilización y despirogenación simultánea de envases de vidrio, ya sea operando en lotes o como un proceso continuo, en este último caso como parte integral de un proceso de llenado aséptico de producto. En los procesos de despirogenado las temperaturas empleadas son más elevadas que las requeridas con fines de esterilización únicamente, utilizándose habitualmente 250 °C por 5 minutos; la implementación de un proceso continuo como parte de un llenado aséptico requiere un control estricto de la calidad microbiológica del aire circulante en la cámara durante el esterilizado y el enfriamiento posterior.

Para los procesos de despirogenado, el programa de validación debe incluir en la calificación de desempeño la demostración de la destrucción de endotoxinas por debajo del límite permitido en el ensayo de referencia (ver 330. *Ensayo de endotoxinas bacterianas*).

Controles de proceso

- Temperatura en distintos puntos de la cámara y de la carga
- Indicador químico de proceso e indicador biológico.

El método permite la esterilización de polvos, aceites, soluciones no acuosas, y el despirogenado de materiales resistentes al calor (ejemplo, envases de vidrio). Debido a que el aire caliente se estratifica debe utilizarse circulación forzada en los equipos.

Esterilización por radiación

La radio-esterilización se basa en la aplicación de radiación ionizante procedente de una fuente de radioisótopos de Co^{60} o Cs^{137} emisoras de radiación gamma, o de un haz de electrones de alta energía, obtenida con un acelerador de electrones o de un generador de rayos X. En ambos casos el parámetro crítico del proceso es la dosis absorbida por el producto.

Aunque históricamente se ha utilizado 25 kGy como dosis absorbida de referencia, la preselección de esta dosis debe ser convalidada experimentalmente; en muchos casos es recomendable la utilización de dosis menores o mayores que la de referencia, dependiendo de las propiedades del material, el grado de contaminación del producto, y el coeficiente de seguridad de esterilidad buscado.

En la radio-esterilización la determinación de la dosis se debe establecer dentro de un rango de dosis máxima-dosis mínima que asegure que las propiedades del artículo no se vean alteradas.

La validación de un proceso de esterilización por radiación incluye el estudio de la compatibilidad de los artículos a esterilizar con la radio-esterilización, evaluando el posible deterioro o degradación; el establecimiento del patrón de carga del producto; la demostración mediante dosímetros que se ha alcanzado la dosis de esterilización preestablecida, el mapeo de dosis en el contenedor de esterilización (incluyendo la identificación de zonas de dosis máxima y dosis mínima); y la determinación del tiempo de exposición para lograr esta distribución de dosis en el producto.

Es aplicable sobre una amplia variedad de productos, aunque se debe considerar la posibilidad de cambios cualitativos luego de la aplicación de este método, puesto que produce ruptura de uniones químicas en las macromoléculas, y formación de especies reactivas (radicales libres) que pueden provocar alteraciones variadas en los materiales.

Filtración

Este método está indicado para soluciones lábiles al calor. Los microorganismos presentes son removidos mediante el pasaje de la solución a través de un medio filtrante de tamaño de poro adecuado. Los elementos que entren en contacto con la solución deben ser estériles, el ambiente de contaminación controlada y la técnica aséptica.

A pesar de que las sustancias que han sido filtradas por este método se denominan “estériles”, por estar libres de bacterias y hongos y sus esporas, éstas pueden contener virus activos que no son removidos por el filtro.

Otros factores fundamentales a tener en cuenta son la posible adsorción de drogas, aditivos o conservadores por el material filtrante, el contenido de endotoxinas y la carga microbiana de la solución; éste último factor condiciona la selección de otros parámetros críticos del proceso, tales como la presión de filtración y la velocidad de filtración.

Los materiales de filtración disponibles actualmente incluyen acetato de celulosa, nitrato de celulosa, acrílicos, policarbonato, poliéster, PVC, nylon, vinilo, PTFE, y membranas metálicas entre otros. En todos los casos las membranas deben tener la capacidad de retener el 100% de un cultivo de 10^7 de *Pseudomonas diminuta* (ATCC 19146) por cm^2 de superficie de la membrana a una presión de no menos de 30 psi (2,0 bares). La clasificación nominal de estas membranas es de 0,2 o 0,22 μm dependiendo del fabricante.

Las membranas diseñadas para la retención de Micoplasmas deben tener un tamaño nominal de 0,1 μm .

La integridad del dispositivo filtrante debe ser verificada antes y después del procedimiento a los efectos de determinar la eficacia del proceso. Dentro de las metodologías habitualmente utilizadas para este fin se incluyen los ensayos de punto de burbuja, difusión y mantenimiento de la presión. Los valores de aceptación deben ser provistos por el fabricante del dispositivo.

La esterilización por filtración no garantiza la eliminación de virus, micoplasmas ni priones. La presencia de estos agentes debe evitarse mediante selección, control y manejo adecuado de la materia prima.

Esterilización por óxido de etileno

El óxido de etileno es un agente alquilante que reacciona con grupos químicos presentes de los ácidos nucleicos y proteínas de los microorganismos. Su utilización como alternativa a métodos físicos se justifica exclusivamente cuando por su naturaleza el producto pueda sufrir alteraciones por calor.

Los parámetros críticos del proceso son temperatura, concentración del gas, humedad relativa porcentual y tiempo de esterilizado.

El proceso de esterilización consta de varias etapas secuenciales:

- Preacondicionamiento del producto,
- Ciclo propiamente dicho: remoción del aire, acondicionamiento del producto, inyección del gas, esterilizado y desgasificación o lavado del gas de la cámara,
- Aireación forzada del producto, la que puede efectuarse en la misma cámara del esterilizador o en una cámara o recinto independiente.

Usualmente también se utilizan instalaciones independientes para preacondicionar la carga hasta lograr la temperatura y humedad relativa requeridos para el proceso, minimizando así el tiempo de acondicionamiento del producto en la cámara del esterilizador.

La validación del proceso exige requisitos adicionales a los necesarios para procesos basados en la acción del calor; tales como la caracterización estricta de las variaciones de presión en cámara a lo largo de las distintas etapas del ciclo, la medición del tenor de humedad relativa en las etapas de preacondicionamiento y acondicionamiento, la medición de la concentración de gas en el esterilizado, y la determinación de las condiciones de aireación forzada de los productos esterilizados de modo de lograr niveles de residuos y productos

de reacción compatibles con los límites máximos permitidos.

Controles de proceso

- temperatura de la cámara y de la carga,
- control directo o indirecto de la humedad relativa porcentual en cámara y de la concentración de gas en cámara alcanzada en el esterilizado,
- tiempo de esterilizado,
- indicador químico de proceso e indicador biológico.

El método tiene aplicación sobre amplia variedad de productos médicos, permitiendo operar aún a temperaturas inferiores a 40 °C. El óxido de etileno es tóxico, inflamable y explosivo, por lo que se requiere para la operación de los esterilizadores establecimientos equipados con las instalaciones y medidas de seguridad necesarias para el almacenamiento y manipuleo correcto de este producto.

La emisión ambiental debe estar controlada, por tratarse de una sustancia cancerígena e irritante de mucosas, piel y vías respiratorias. La aireación posterior a la esterilización implica tiempos de cuarentena prolongados.

La esterilización con óxido de etileno no es compatible con soluciones acuosas ni grasas; sin embargo, está documentada la esterilización por óxido de etileno de drogas en polvo alterables por radio-esterilización.

Esterilización con plasma de peróxido de hidrógeno

Es un procedimiento de esterilización que se basa en la oxidación de moléculas biológicas mediante el plasma generado por acción de energía de radiofrecuencia, utilizando como precursor vapor de peróxido de hidrógeno, a baja temperatura y a presión subatmosférica. El vapor de peróxido de hidrógeno se disocia en la etapa de plasma del ciclo de esterilización en radicales libres y otras especies microbicidas activas. Tras la etapa de plasma se recombinan los radicales libres en forma de moléculas estables, dando origen en su mayor parte a agua y oxígeno.

Los esterilizadores poseen un catalizador que descompone el peróxido de hidrógeno para el tratamiento de los gases descargados de la cámara, garantizando de este modo una emisión ambiental controlada para el operador.

Los parámetros críticos del proceso son concentración de peróxido de hidrógeno en cámara, energía de radiofrecuencia, presión y tiempo en las etapas de difusión de la solución de peróxido de hidrógeno y de generación de plasma.

El proceso es corto, no deja residuos tóxicos, y permite esterilizar a temperaturas iguales o menores de 50 °C.

El producto a procesar debe estar perfectamente seco, existiendo restricciones de difusión del agente esterilizante con respecto a los lúmenes; es incompatible con celulosa, polvos y líquidos.

Esterilización con vapor a baja temperatura y formaldehído

El método basa su acción esterilizante en la actividad alquilante del formaldehído, sustancia que reacciona inactivando grupos químicos esenciales de los ácidos nucleicos y proteínas de los microorganismos, en sinergismo con vapor de agua a presión subatmosférica.

Los parámetros críticos del proceso son temperatura, concentración del formaldehído, humedad relativa porcentual y tiempo de esterilizado.

Básicamente el proceso consiste en realizar vacíos fraccionados alternados con inyecciones de solución de formaldehído, eliminando así el aire de la cámara y facilitando la penetración completa y reproducible del agente esterilizante en la carga.

En la etapa de esterilizado el producto permanece en contacto con el agente esterilizante a presión y temperatura constantes el tiempo especificado para el proceso; por último se procede a la eliminación o lavado con vapor de agua de los residuos del agente químico del producto y de los empaques, seguido del secado final del producto.

Controles de proceso

- temperatura de la cámara,
- control directo de la concentración del formaldehído,
- tiempo de esterilizado,
- indicador químico de proceso e indicador biológico.

La temperatura del ciclo oscila en general entre 60 y 80 °C

La validación del proceso exige requisitos adicionales a los necesarios para procesos basados en la acción del calor; tales como la caracterización estricta de las variaciones de presión en cámara a lo largo de las distintas etapas del ciclo, la medición de la concentración de gas en la etapa de esterilización, y la determinación de las condiciones de aireación de los productos esterilizados

Finalizado el proceso, quedan residuos de formaldehído y sustancias de reacción aún

detectables en los productos, no estando aún claramente definidos los límites máximos permitidos.

El método no es compatible con soluciones, grasas ni polvos.

La emisión ambiental debe estar controlada, por tratarse de una sustancia cancerígena e irritante.

Almacenamiento

La vida útil de los productos médicos estériles estará determinada por el envejecimiento de los componentes y por la integridad de su envase, por lo que el almacenamiento debe realizarse de manera que se preserve la integridad del mismo, respetando las condiciones ambientales indicadas por el fabricante.

El riesgo de daño del envase se relaciona con el cuidado en la manipulación del mismo durante la esterilización, el transporte y el almacenamiento.

Indicadores biológicos

Los indicadores biológicos son preparaciones normalizadas de microorganismos seleccionados que se utilizan para valorar la eficacia de los procedimientos de esterilización. Habitualmente se presentan bajo la forma de una población de esporas bacterianas dispuestas sobre un soporte inerte o portador (disco o tira de papel de filtro, vidrio, o plástico). Pueden emplearse también indicadores biológicos con más de una especie de bacteria sobre un mismo soporte. El portador inoculado se encuentra dentro de un empaque o envase primario que lo protege de cualquier deterioro o contaminación, pero que permite el pasaje del agente esterilizante.

En otras presentaciones el indicador biológico se presenta en un envase primario autocontenido que incluye un medio de cultivo estéril; en este caso el diseño del envase ofrece mínima resistencia al paso del agente esterilizante.

En ambos casos los envases primarios se vehiculizan en un envase secundario de forma que los bioindicadores puedan ser transportados y almacenados en condiciones adecuadas. En el rótulo de los indicadores biológicos deberá figurar el nombre del organismo de ensayo empleado como microorganismo de referencia, el nombre o abreviatura de la colección de cultivo y el número de referencia de la especie, el número de lote, la indicación del método de esterilización para el cual el indicador biológico puede ser utilizado, el número de esporas viables por transportador, datos

de la resistencia del microorganismo de ensayo y la fecha de vencimiento.

El fabricante del bioindicador debe además suministrar con el producto instrucciones de uso, incluyendo las condiciones para la recuperación de los organismos en ensayo después del proceso de esterilización y las instrucciones para su disposición final.

Una tercera forma de bioindicadores la constituyen suspensiones de esporas que se incorporan a unidades representativas del producto a esterilizar, o en su defecto a productos simulados. A estos bioindicadores se los llama productos inoculados, preparados a partir de suspensiones de esporas de población y resistencia conocida.

La elección del organismo indicador para el método de esterilización se realiza de acuerdo a los siguientes requisitos:

- Resistencia elevada de la cepa de ensayo al método de esterilización previsto, en comparación a la resistencia de todos los microorganismos patógenos y de los que pueden producir contaminación en el producto.

- La cepa de ensayo no debe ser patógena.

- La cepa de ensayo debe poder cultivarse con facilidad.

Se recomienda que se coloquen los indicadores biológicos en los lugares menos accesibles al agente esterilizante y bajo las mismas condiciones de empaque que el material a procesar.

Después de la incubación, la existencia de crecimiento de los microorganismos de referencia que han sido sometidos al proceso de esterilización demuestra que dicho procedimiento ha sido ineficiente.

- Para esterilización por vapor se recomienda el uso de las esporas de *Geobacillus stearothermophilus*, ATCC 7953. El número de esporas viables por soporte debe ser no menor de 1×10^5 y el valor de D a 121°C superior a 1,5 minutos. Se debe verificar que luego de la exposición de los indicadores al calor húmedo a $121 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 6 minutos queden esporas capaces de germinar y que no haya crecimiento del microorganismo de referencia después que los indicadores biológicos hayan sido expuestos al agente esterilizante durante 15 minutos.

- En el caso de la esterilización por calor seco, se recomiendan las esporas de *Bacillus atrophaeus* ATCC 9372. El número de esporas viables por soporte debe ser no menor de 1×10^5 y el valor D a 160°C debe estar comprendido entre 5 y 10 minutos.

- Cuando se utiliza radiación ionizante, los indicadores utilizados contienen esporas de *Bacillus pumilus* (ATCC27.142, NCTC 10327, NCIMB 110692 o CIP 77.25). El número de esporas por soporte debe ser mayor de 1×10^7 y el valor de *D* mayor a 1,9 kGy. Se debe comprobar que no haya crecimiento de los microorganismos de referencia luego de una exposición de los indicadores biológicos a 25 kGy (dosis mínima absorbida).

- Para el sistema de *Esterilización por Plasma de peróxido de hidrógeno* se recomienda el uso de esporas de *Geobacillus stearothermophilus*, ATCC 7953.

- En el caso de esterilización por óxido de etileno se recomiendan las esporas de *Bacillus atrophaeus* ATCC 9372. El número de esporas viables por soporte debe ser superior a 1×10^6 (valores de población nominal mínima para uso en monitoreos de rutina; para ensayos de validación o aplicaciones especiales puede requerirse

poblaciones nominales mayores) y el valor *D* no debe ser menor de 12,5 minutos cuando se expongan a 600 ± 30 mg/l de óxido de etileno, 60 ± 10 % de humedad relativa y 30 ± 1 °C, y/o 2,5 minutos cuando se expongan a 600 ± 30 mg/l de óxido de etileno, 60 ± 10 % de humedad relativa y 54 ± 1 °C.

- Cuando se utiliza el *Vapor a baja temperatura con formaldehído* se recomienda el uso de esporas de *Geobacillus stearothermophilus*, NCBI 8224, DSM 6790, ATCC 7953, ATCC 10149 y ATCC 12980. El número de esporas viables por soporte debe ser mayor de 1×10^5 .

Ensayo de Esterilidad

Proceder según se indica en 370. *Ensayos de Esterilidad*.

ALGODÓN HIDRÓFILO

Definición – El Algodón Hidrófilo está constituido por los pelos de las semillas de diferentes especies de *Gossypium* (Malváceas), exento de sustancias extrañas y sustancias grasas; blanqueado y cardado, dispuesto en capas uniformes.

Características generales – El pelo está constituido por una célula tubular, aplanada, retorcida, algo engrosada en los bordes; de hasta 4 cm de largo y 40 µm de ancho, insoluble en solventes ordinarios.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

Identificación

El Algodón Hidrófilo se colorea de violeta por agregado de una solución de cloruro de cinc iodurada, preparada disolviendo 2 g de cloruro de cinc y 0,2 g de ioduro de cinc, en cantidad suficiente de agua destilada reciente hervida y enfriada, hasta completar un volumen de 100 ml y luego filtrar.

Sustancias solubles en agua

Colocar 10 g, pesados con exactitud, en un vaso de precipitados que contenga 1000 ml de agua y llevar a ebullición moderada durante 30 minutos, agregando agua, según sea necesario, para mantener el volumen. Verter el agua en otro vaso a través de un embudo y extraer el exceso de agua del algodón, presionando con una varilla de vidrio. Lavar el algodón en el embudo con dos porciones de 250 ml de agua hirviendo, presionando el algodón después de cada lavado. Filtrar la combinación del extracto y los lavados hasta obtener un volumen pequeño, transferir a una cápsula tarada de porcelana o platino, evaporar hasta sequedad y secar el residuo a 105 °C hasta peso constante: el residuo no pesa más de 35 mg (0,35%)

Sustancias tensioactivas

Transferir una porción de 20 ml del líquido obtenido en *Sustancias solubles en agua* a una probeta de 25 ml. Agitar enérgicamente 30 veces en 10 segundos. Dejar reposar durante 10 minutos. No debe quedar espuma. [NOTA: se acepta un pequeño anillo de espuma que quede en la probeta.]

Acidez o alcalinidad

Sumergir aproximadamente 10 g de Algodón Hidrófilo en 100 ml de agua destilada hasta embeberse. Dejar en reposo durante 2 horas. Transferir dos porciones de 25 ml a dos cápsulas de porcelana blanca. Agregar a una de ellas 3 gotas de solución

de fenofaleína (SR) y una gota de solución de anaranjado de metilo (SR) a la segunda: no debe producirse coloración rosada en ninguna de las dos cápsulas.

Colorantes

Pesar exactamente alrededor de 10 g de Algodón Hidrófilo. Macerar durante 6 hs en 100 ml de alcohol a temperatura ambiente, agitando en forma intermitente. Examinar el líquido a través de una capa de 20 cm de profundidad, sobre fondo blanco: podrá presentar coloración amarillenta pero no azul o verde. Iluminar con luz ultravioleta: no debe observarse fluorescencia.

Jabones y resinas

Transferir el líquido obtenido en *Colorantes* a un recipiente previamente pesado, evaporar hasta sequedad en un baño de agua o en plancha calefactora, completar el secado en estufa a 102 ± 2 °C hasta peso constante, enfriar en desecador hasta temperatura ambiente y pesar: el residuo no debe ser mayor del 0,5 %.

Humedad

Pesar exactamente alrededor de 10 g de Algodón Hidrófilo. Secar en estufa a 102 ± 2 °C hasta peso constante. Enfriar en desecador hasta temperatura ambiente y pesar: no debe perder más de 7 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

Pesar exactamente alrededor de 5 g de Algodón Hidrófilo y colocar en una cápsula de porcelana previamente pesada. Calentar suavemente hasta que se carbonice, luego en una mufla a 800 ± 50 °C hasta calcinación total. Enfriar en desecador hasta temperatura ambiente y pesar: el peso del residuo no debe ser mayor de 0,2 %.

Materias grasas

Precaución – El éter es un solvente altamente inflamable. No calentar a llama directa. Realizar el ensayo bajo campana.

Pesar exactamente alrededor de 10 g de Algodón Hidrófilo. Colocar el Algodón Hidrófilo en un extractor Soxhlet, con un colector (matraz o balón) previamente pesado. Extraer con éter etílico durante 5 horas, ajustando la velocidad de extracción para que el éter circule no menos de 4 veces por hora calentando el colector sobre plancha metálica o manto calefactor. El extracto etéreo en el colector no debe mostrar indicios de color azul, verde o pardo. Evaporar el extracto hasta sequedad, completar el secado en estufa a 102 ± 2 °C hasta peso constante: el residuo no deberá ser mayor al 0,6 %.

Poder hidrófilo (tiempo de inmersión)

Tomar un trozo de Algodón Hidrófilo de aproximadamente 0,5 g. Colocarlo sobre la superficie de un litro de agua contenida en una probeta de 6 cm de diámetro interno: el trozo debe embeberse totalmente en un tiempo no mayor a 3 segundos y llegar al fondo de la probeta en no más de 10 segundos.

GASA HIDRÓFILA

Definición – La Gasa Hidrófila es un tejido de algodón, de tejido de punto tipo tubular o tejido plano tipo rectilíneo, limpiada, blanqueada, desengrasada y sin apresto, de color blanco, suave al tacto, no quebradiza y no crujiente al apretarla con la mano. No debe contener blanqueador óptico. Puede suministrarse en diversas medidas de largo y ancho.

Características generales - La Gasa Hidrófila con tejido de punto debe tener no menos de 4 pasadas por cm, 4 cadenas por cm, con una suma de ambos de 10. En gasa de tejido plano, no menos de 10 hilos por cm en urdimbre y no menos de 6 hilos por cm en trama (16 hilos por cm^2). Debe pesar entre 22 y 36 gramos por m^2 .

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

ENSAYOS

[NOTA: acondicionar toda la Gasa Hidrófila durante no menos de 4 horas en una atmósfera de 65 ± 2 % de humedad relativa a una temperatura de $21 \pm 1,1$ °C antes de realizar el ensayo de *Masa y Tiempo de inmersión*. Retirar la Gasa Hidrófila de su envoltura antes de colocarla en las condiciones atmosféricas detalladas. Si se presenta en rollos, cortar la cantidad necesaria para las diversas pruebas, excluyendo los dos últimos metros cuando la cantidad total de gasa disponible así lo permita.]

Longitud

Desplegar o desenrollar, aplanar sin extender y medir su longitud a lo largo de la línea central: el largo no debe ser menor del 98,0 % del valor declarado en el rótulo.

Ancho

Proceder según se indica en *Longitud*. Medir el ancho en tres puntos diferentes: el promedio de las tres mediciones debe ser no menor del 98,0 % del valor declarado en el rótulo.

Peso por m^2

Pesar exactamente alrededor de 10 g de Gasa Hidrófila. Puede tratarse de un conjunto de trozos rectangulares o cuadrados, cortados con una tijera, correspondientes a la misma unidad de muestreo. Extender los trozos, determinar el área de cada uno y sumarlas. Calcular el peso por la fórmula siguiente:

$$P/A$$

en la cual P es el peso en g de gasa tomada y A es la suma de las áreas en m^2 . El peso se debe encontrar entre 22 y 36 g por m^2 .

Sustancias solubles en agua

Pesar exactamente alrededor de 10 g de Gasa Hidrófila y transferir a un vaso de precipitados. Agregar 250 ml de agua destilada a ebullición y mantener entre 95 y 100 °C durante 10 minutos, agitando y comprimiendo la gasa con una varilla de vidrio. Filtrar el líquido, lavar la Gasa Hidrófila con pequeñas porciones de agua destilada a ebullición, agitando y comprimiendo repetidas veces la gasa. Combinar los líquidos de lavado y dejar enfriar. Transferir a un matraz aforado de 250 ml y homogeneizar. Evaporar hasta sequedad 200 ml de este líquido en una cápsula de porcelana previamente pesada y completar el secado en estufa a 105 ± 2 °C hasta peso constante. Enfriar en desecador hasta temperatura ambiente y pesar: el peso del residuo no debe ser mayor 0,25 %.

Sustancias tensioactivas

Transferir una porción de 20 ml del líquido obtenido en *Sustancias solubles en agua* a una probeta de 25 ml. Agitar enérgicamente 30 veces en 10 segundos. Dejar reposar durante 10 minutos. No debe quedar espuma. [NOTA: se acepta un pequeño anillo de espuma que quede en la probeta.]

Almidón

A una porción de 20 ml del líquido obtenido en *Sustancias solubles en agua* agregar una gota de solución de yodo (SR): no debe producirse coloración violácea, roja o azul.

Solubilidad en hidróxido de tetraaminocobre (II)

Solución de hidróxido de tetraaminocobre (II) – Disolver 55 g de sulfato cúprico en un vaso de precipitados que contenga 700 ml de agua destilada. Agregar 35 g de cloruro de amonio, agitando continuamente. Agregar hidróxido de potasio en cantidad necesaria para precipitar totalmente el hidróxido de cobre (II). Centrifugar y lavar el precipitado con agua. Este precipitado debe mantenerse húmedo durante todo el procedimiento y usarse en esas condiciones. Disolver el hidróxido de cobre (II) obtenido en 200 ml de hidróxido de amonio.

Procedimiento – Sumergir una porción de 5 g de Gasa Hidrófila previamente deshinchada en un vaso de precipitados que contenga *Solución de hidróxido de tetraaminocobre (II)*: se debe disolver totalmente en 10 minutos.

Acidez o alcalinidad

Sumergir aproximadamente 10 g de Gasa Hidrófila en 100 ml de agua destilada hasta embeberse. Dejar en reposo durante 2 horas. Transferir dos

porciones de 25 ml a dos cápsulas de porcelana blanca. Agregar a una de ellas 3 gotas de solución de fenoftaleína (SR) y una gota de solución de anaranjado de metilo (SR) a la segunda: no debe producirse coloración rosada en ninguna de las dos cápsulas.

Colorantes

Pesar exactamente alrededor de 10 g de Gasa Hidrófila y macerar con etanol en un erlenmeyer tapado durante 6 horas. Examinar el líquido a través de una capa de 20 cm de profundidad, sobre fondo blanco: podrá presentar coloración amarillenta pero no azul o verde.

Blanqueador óptico

Irradiar el líquido obtenido en *Colorantes* con luz ultravioleta, a 365 nm: no debe presentar fluorescencia.

Jabones y resinas

Transferir el líquido obtenido en *Blanqueador óptico* a un recipiente previamente pesado, evaporar hasta sequedad en un baño de agua o en plancha calefactora, completar el secado en estufa a 105 ± 2 °C hasta peso constante, enfriar en desecador hasta temperatura ambiente y pesar: el residuo no debe ser mayor del 0,5 %.

Humedad

Pesar exactamente alrededor de 10 g de Gasa Hidrófila. Secar en estufa a 105 ± 2 °C hasta peso constante. Enfriar en desecador hasta temperatura ambiente y pesar: no debe perder más de 7 % de su peso.

Determinación del residuo de ignición <270>

Pesar exactamente alrededor de 5 g de Gasa Hidrófila y colocar en una cápsula de porcelana previamente pesada. Calentar suavemente hasta que se carbonice, luego en una mufla a 500 ± 50 °C hasta calcinación total. Enfriar en desecador hasta temperatura ambiente y pesar: el peso del residuo no debe ser mayor de 0,2 %.

Materias grasas

Precaución – El éter es un solvente altamente inflamable. No calentar a llama directa. Realizar el ensayo bajo campana.

Pesar exactamente alrededor de 10 g de Gasa Hidrófila. Colocar la Gasa Hidrófila en un extractor Soxhlet, con un colector (matraz o balón) previamente pesado. Extraer con éter etílico durante 5 horas, ajustando la velocidad de extracción para que el éter circule no menos de 4 veces por hora calentando el colector sobre plancha metálica o manto calefactor. El extracto etéreo en el colector no debe mostrar indicios de color azul, verde o pardo. Evaporar el extracto hasta sequedad, com-

pletar el secado en estufa a 105 ± 2 °C hasta peso constante: el residuo no deberá ser mayor al 0,6%.

Poder hidrófilo (tiempo de inmersión)

Tomar un trozo de gasa de aproximadamente 0,5 g y comprimirlo adecuadamente. Colocarlo sobre la superficie de un litro de agua contenida en una probeta de 6 cm de diámetro interno: el trozo debe embeberse totalmente en un tiempo no mayor a 3 segundos y llegar al fondo de la probeta en no más de 10 segundos.

Esterilización <475>

Los procedimientos apropiados son calor húmedo o radiación. La esterilización por óxido de etileno resulta inadecuada a causa de la retención de etilenglicol considerada sustancia tóxica.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

ROTULADO

Indicar en el rótulo la denominación del producto, el tipo de hilado y de tejido, la longitud, el ancho y el número de piezas contenidas. Indicar si la Gasa Hidrófila es estéril, debiéndose incluir en el envase un indicador químico de viraje que certifique el proceso de esterilización. Indicar que el contenido puede no ser estéril si el envase muestra señales de daño o de haber sido previamente abierto.

SUTURA QUIRÚRGICA ABSORBIBLE

Definición – La Sutura Quirúrgica Absorbible es una hebra estéril, que puede ser metabolizada o degradada en tejido vivo y se elabora a partir de colágeno (llamada *Sutura de colágeno* o *Catgut*) proveniente de mamíferos sanos o de un polímero sintético (llamada *Sutura sintética absorbible*). La *sutura sintética absorbible* estéril proviene de uno o mas polímeros o copolímeros sintéticos, que al ser introducida en un organismo vivo es absorbida sin provocar irritación indebida de los tejidos.

Características generales - La *Sutura Quirúrgica Absorbible de colágeno (Catgut)* se prepara con segmentos uniformes y firmemente retorcidos obtenidos de la hendidura longitudinal del tejido submucoso del intestino delgado de mamíferos sanos de acuerdo a normas que permitan garantizar el origen y procesamiento de la materia prima, para evitar el riesgo de transmisión de agentes causantes de encefalopatía espongiforme transmisible. Por ello debe asegurarse que los intestinos provengan exclusivamente de animales nacidos y criados en países categorizados con nivel de riesgo I(uno) establecido por la Organización Internacional de Epizootias y demostrando trazabilidad con procedimiento acorde a Buenas Prácticas de Fabricación y Control.

La sutura de colágeno podrá ser simple es decir, no tratada previamente por cualquier proceso que pueda alterar su absorción media normal, o lenta, es decir tratada por procedimientos químicos con el fin de retardar el tiempo de absorción, siempre que las sustancias no reduzcan la aceptabilidad por parte de los tejidos.

La sutura preparada a partir de polímero sintético puede presentarse en forma de monofilamento o de multifilamento. Debe ser absorbida por tejidos de mamíferos vivos, y puede ser tratada para modificar su resistencia a la absorción. Su diámetro y resistencia a la tensión corresponden a la designación de tamaño que se indica en el rótulo, dentro de los límites que se describen en la presente monografía. Puede presentar modificaciones con respecto al cuerpo o la textura. Puede ser impregnada o tratada con agentes de recubrimiento, reblandecimiento o antimicrobianos apropiados. Puede teñirse con un colorante atóxico <50> *Colorantes de uso farmacéutico*.

CONSERVACIÓN

En seco o en líquido en envases diseñados de manera tal que la esterilidad se mantenga hasta que se

abra el envase. La sutura de colágeno estéril se preserva en soluciones conservantes a las que pueden agregarse antimicrobianos pero no antibióticos, dentro de un envase primario individual de cierre hermético que mantenga la esterilidad y permita su retiro y uso en condiciones asépticas. Para proteger el envase primario es imprescindible un envase secundario. Pueden colocarse una cantidad de dichos envases en un embalaje protector.

ENSAYOS

[NOTA: si la Sutura está envasada con un líquido, realizar las cuatro pruebas siguientes dentro de los 2 minutos después de retirarla del mismo.]

Longitud

Medir la longitud de la sutura mientras la hebra está extendida sin irregularidades ni tensión, en una superficie plana. La longitud de cada hebra no debe ser menor de 95% de la longitud declarada en el rótulo.

Diámetro (ver 383. *Ensayos de suturas*)

Sutura de colágeno - Medir el diámetro de diez hebras de sutura. El diámetro promedio, y no menos de veinte de las mediciones de la muestra de diez hebras está dentro de los valores del diámetro promedio descrito en la *Tabla 1* para su respectivo tamaño. Ninguna de las mediciones individuales es menor que el punto medio del intervalo para el tamaño próximo inferior ni mayor que el punto medio del intervalo para el tamaño inmediato superior.

Sutura sintética absorbible - Medir el diámetro de diez hebras de sutura. El diámetro promedio de las hebras que se mide está dentro de las tolerancias descritas en la *Tabla 2* para su respectivo tamaño. Ninguna de las mediciones individuales es menor que el punto medio del intervalo para el tamaño próximo inferior ni mayor que el punto medio del intervalo para el tamaño inmediato superior.

Resistencia a la tensión (ver 383. *Ensayos de suturas*)

Sutura de colágeno - Medir la resistencia a la tensión en no menos de diez hebras de sutura. La resistencia a la tensión, se determina como la resistencia mínima de cada hebra probada y calculada como la resistencia promedio de cualquier lote. En caso de que sólo una hebra no cumpla con el límite para hebras, repetir la prueba con no menos de veinte hebras adicionales: los requisitos de la prueba se cumplen si ninguna de las hebras adicionales está por debajo del límite para hebras y si la resistencia promedio de todas las hebras probadas no es inferior al límite establecido en la *Tabla 1*:

Tabla 1

Convencional	Tamaño métrico (calibre N°)	Diámetro promedio (mm)		Resistencia a la tensión del nudo (kgf)		Resistencia a la tensión del nudo (N)	
		Mínimo	Máximo	mínimo del promedio	mínimo cuerda individual	mínimo del promedio	mínimo cuerda individual
9/0	0,4	0,040	0,049	0,030	0,010	0,29	0,10
8/0	0,5	0,050	0,069	0,045	0,025	0,44	0,25
7/0	0,7	0,070	0,099	0,07	0,055	0,69	0,54
6/0	1	0,10	0,149	0,18	0,10	1,7	0,9
5/0	1,5	0,15	0,199	0,38	0,20	3,7	1,9
4/0	2	0,20	0,249	0,77	0,40	7,5	3,9
3/0	3	0,30	0,339	1,25	0,68	12,2	6,6
2/0	3,5	0,35	0,399	2,00	1,04	19,6	10,1
0	4	0,40	0,499	2,77	1,45	27,1	14,2
1	5	0,50	0,599	3,80	1,95	37,2	19,1
2	6	0,60	0,699	4,51	2,40	44,2	23,5
3	7	0,70	0,799	5,90	2,99	57,8	29,3
4	8	0,80	0,899	7,00	3,49	68,6	34,2

Sutura sintética absorbible - Medir la resistencia a la tensión en no menos de diez hebras de sutura. La resistencia a la tensión mínima de

cada tamaño, calculada como resistencia promedio de cada lote individual, se establece en la *Tabla2*:

Tabla 2

convencional	Tamaño métrico (N° de calibre)	Diámetro promedio (mm)		Resistencia a la tensión (kgf)	Resistencia a la tensión (N)
		Mínimo	Máximo	Promedio mínimo	Promedio mínimo
12/0	0,01	0,001	0,009	-	-
11/0	0,1	0,010	0,019	-	-
10/0	0,2	0,020	0,029	0,025*	0,25*
9/0	0,3	0,030	0,039	0,050*	0,49*
8/0	0,4	0,040	0,049	0,07	0,69
7/0	0,5	0,050	0,069	0,14	1,37
6/0	0,7	0,070	0,099	0,25	2,45
5/0	1	0,10	0,149	0,68	6,67
4/0	1,5	0,15	0,199	0,95	9,32
3/0	2	0,20	0,249	1,77	17,4
2/0	3	0,30	0,349	2,68	26,3
0	3,5	0,35	0,399	3,90	38,2
1	4	0,40	0,499	5,08	49,8
2	5	0,50	0,599	6,35	62,3
3	6	0,60	0,699	7,29	71,5
4	7	0,70	0,799	-	-

* medida por tracción recta/sin nudo.

Engarzado con aguja

La sutura que posee la aguja engarzada sin ojo cumple con los requisitos según se indica en *Sujeción de agujas en 383. Ensayos de suturas.*

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Colorante extraíble (si la sutura está teñida)

preparar la *Solución de comparación* que corresponda al colorante extraíble de la Sutura combinando las *Soluciones Colorimétricas* (SC) en las proporciones indicadas a continuación y agregando agua, si fuera necesario, hasta obtener 10,0 partes de solución.

Composición de la solución de referencia (partes en volumen)				
Colorante de Sutura (Colorante extraíble)	Partes de Cloruro Cobaltoso (SC)	Partes de Cloruro Férrico (SC)	Partes de Sulfato cúprico (SC)	Agua
Marrón amarillento	0,2	1,2	-	8,6
Rojo rosado	1,0	-	-	9,0
Azul verdoso	-	-	2,0	8,0
Violeta	1,6	-	8,4	-

Pesar una cantidad de sutura, equivalente a no menos de 250 mg, y colocarla en un matraz o erlenmeyer que contenga 1,0 ml de agua por cada 10 mg de muestra. Tapar y dejar en reposo a $37,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas. Enfriar, decantar el agua de la sutura y compararla con la *Solución de comparación*: si se presenta color, este no debe ser más intenso que el color de la *Solución de comparación* apropiada.

Ensayo de compuestos solubles de cromo

Colocar 250 mg de muestra en un matraz con 25 ml de agua purificada. Tapar el matraz y dejar en reposo a $37,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas. Dejar enfriar y decantar. Colocar 5 ml de esta solución en un tubo de ensayo y añadir 2 ml de una solución de 1,5- difenilcarbazida al 1 % P/V en alcohol y 2 ml de ácido sulfúrico 1 M. La solución resultante no se debe colorear más intensamente que otra solución preparada en forma simultánea usando 5 ml de solución con $2,83 \mu\text{g}$ por ml de dicromato de potasio en lugar de los 5 ml del extracto de la sustancia examinada (1 ppm cromo).

ROTULADO

Indicar en el rotulado de la sutura el material del que está hecha, el calibre, longitud y tipo de sutura, de corresponder tamaño y tipo de aguja. El calibre de la sutura se debe designar por el tamaño métrico (número de calibre), pudiendo incluir equivalencia con otros sistemas de medida. Se debe indicar la composición del líquido de envasado que se utilice.

SUTURA QUIRÚRGICA NO ABSORBIBLE

Definición – Hebra estéril flexible de procedencia animal, vegetal, metálica o sintética, resistente al efecto metabólico y físico de los tejidos de mamíferos vivos y compatible con ellos.

Características generales - Puede presentarse en forma de mono o multifilamento. Si es una hebra multifilamento, los filamentos individuales pueden combinarse mediante hilado, torsión, trenzado o por cualquier combinación de éstos. Su diámetro y resistencia a la tensión corresponden a los límites especificados para el tamaño que se indica en el rótulo. Puede recibir tratamientos para modificar la textura, la capilaridad, y otras características de superficie. Puede ser impregnada o tratada con un agente adecuado de recubrimiento de reblandecimiento o antimicrobiano. Puede teñirse con un colorante atóxico. <50> *Colorantes de uso farmacéutico*. La Sutura Quirúrgica No Absorbible se clasifica como: Sutura *Clase I*: compuesta de seda o fibras sintéticas en forma de monofilamento, torcidas o trenzadas en donde el recubrimiento, si existe, no afecta significativamente el grosor (por ejemplo, seda, poliéster o poliamida (Nylon) trenzados; polipropileno o poliamida (Nylon) monofilamento. Sutura *Clase II*: compuesta de fibras de algodón o de lino o fibras recubiertas naturales o sintéticas en donde el recubrimiento afecta significativamente el grosor pero no contribuye significativamente a la resistencia (por ejemplo, suturas de seda virgen). Sutura *Clase III*: compuesta de alambre metálico monofilamento o multifilamento

CONSERVACIÓN

Conservar la sutura en envases diseñados de manera tal que la esterilidad se mantenga hasta la apertura de los mismos. Es imprescindible un envase secundario y puede colocarse una cantidad de dichos envases en un embalaje protector.

ENSAYOS

Identificación

Proceder según se indica en *Identificación* en 383. *Ensayos de suturas*, de acuerdo al material correspondiente.

Longitud

Medir la longitud de la sutura mientras la hebra está extendida sin irregularidades y sin tensión, en una superficie plana. La longitud de cada hebra no debe ser menor de 95% de la longitud declarada en el rótulo.

Diámetro (ver 383. *Ensayos de suturas*)

Medir el diámetro de diez hebras de Sutura. El diámetro promedio de las hebras que se miden debe encontrarse dentro de las tolerancias descriptas en *Tabla* para el tamaño declarado en el rótulo. En el caso de suturas trenzadas o retorcidas, ninguno de los diámetros observados debe ser menor que el punto medio del intervalo para el tamaño próximo inferior o mayor que el punto medio del intervalo para el tamaño inmediato superior.

Resistencia a la tensión (ver 383. *Ensayos de suturas*)

Medir la resistencia a la tensión en no menos de diez hebras de sutura. Promediar todas las observaciones obtenidas: la resistencia a la tensión promedio no debe ser menor que la establecida en *Tabla* para la clase y tamaño declarado en el rótulo.

Tabla. Resistencia a la tensión, para sutura quirúrgica no absorbible.

Tamaño métrico (calibre N°)	Convencional	Diámetro promedio (mm)		Resistencia a la tensión promedio (kgf)			Resistencia a la tensión promedio (Newton)		
		Mín.	Máx.	mínimo Clase I	mínimo Clase II	mínimo Clase III	mínimo Clase I	mínimo Clase II	mínimo Clase III
0,01	12/0	0,001	0,009	0,001*	-	0,002*	0,01*	-	0,02*
0,1	11/0	0,010	0,019	0,006*	0,005*	0,02*	0,06*	0,05*	0,20*
0,2	10/0	0,020	0,029	0,019*	0,014*	0,06*	0,194*	0,14*	0,59*
0,3	9/0	0,030	0,039	0,043*	0,029*	0,07*	0,424*	0,28*	0,68*
0,4	8/0	0,040	0,049	0,06	0,04	0,11	0,59	0,39	1,08
0,5	7/0	0,050	0,069	0,11	0,06	0,16	1,08	0,59	1,57
0,7	6/0	0,070	0,099	0,20	0,11	0,27	1,96	1,08	2,65
1	5/0	0,10	0,149	0,40	0,23	0,54	3,92	2,26	5,30
1,5	4/0	0,15	0,199	0,60	0,46	0,82	5,88	4,51	8,04
2	3/0	0,20	0,249	0,96	0,66	1,36	9,41	6,47	13,3
3	2/0	0,30	0,339	1,44	1,02	1,80	14,1	10	17,6
3,5	0	0,35	0,399	2,16	1,45	3,40*	21,2	14,2	33,3*
4	1	0,40	0,499	2,72	1,81	4,76*	26,7	17,8	46,7*
5	2	0,50	0,599	3,52	2,54	5,90*	34,5	24,9	57,8*

6	3 y 4	0,60	0,699	4,88	3,68	9,11*	47,8	36,1	89,3*
7	5	0,70	0,799	6,16	-	11,4*	60,4	-	112*
8	6	0,80	0,899	7,28	-	13,6*	71,4	-	133*
9	7	0,90	0,999	9,04	-	15,9*	88,6	-	156*
10	8	1,00	1,099	-	-	18,2*	-	-	178*
11	9	1,100	1,199	-	-	20,5*	-	-	201*
12	10	1,200	1,299	-	-	22,8*	-	-	224*

* la resistencia a la tensión de Suturas Quirúrgicas no Absorbibles se mide con nudo excepto para diámetros menores a 8/0 (métrico 0,4) y para suturas monofilamento (metálicas) Clase III de diámetros mayores que 2/0 (métrico 3)

Las suturas no absorbibles de plata deben cumplir con la resistencia a la tensión de las suturas de Clase I pero se prueban de la misma manera que las suturas de Clase III.

Si los ensayos de resistencia a la tensión para suturas no absorbibles Clase I y II se realizan con suturas no estériles, los valores tabulados son aproximadamente 25% superiores.

Engarzado con agujas

Las suturas que tienen agujas ciegas adheridas deben cumplir con los requisitos según se indica en *Sujeción de Agujas en 383. Ensayos de suturas*

Ensayos de esterilidad <370>

Las suturas declaradas estériles deben cumplir con los requisitos.

Colorante extraíble (si la Sutura está teñida)

Proceder según se indica en *Colorante extraíble en Sutura Quirúrgica Absorbible*, pero en lugar de dejar en reposo a $37,0 \pm 0,5$ °C durante 24 horas, tapar el matraz con un embudo de vástago corto, calentar hasta ebullición, mantener durante 15 minutos, enfriar y restablecer el volumen mediante el agregado de agua, si fuera necesario, para reponer la pérdida por evaporación.

ROTULADO

Indicar en el rotulado de la sutura el material del que está hecha, el calibre, longitud y tipo de sutura, de corresponder tamaño y tipo de aguja. El calibre de la sutura se debe designar por el tamaño métrico (número de calibre), pudiendo incluir equivalencia con otros sistemas de medida.

PRODUCTOS RADIOFARMACÉUTICOS

APARTADO DE PRODUCTOS RADIOFARMACÉUTICOS

ÍNDICE

Textos de Información General

<1110> - Preparaciones radiofarmacéuticas

Monografías

- Cianocobalamina (^{57}Co)
 - Cápsulas
 - Solución
- Galio (^{67}Ga), Citrato de
 - Solución Inyectable
- Indio (^{111}In), Cloruro de
 - Solución
- Indio (^{111}In) Oxina
 - Solución
- Indio (^{111}In), Pentetato de
 - Solución Inyectable
- m*-Iodobencilguanidina (^{131}I)
 - Solución Inyectable
- Sodio, Ioduro (^{123}I) de,
 - Solución
- Sodio, Ioduro (^{131}I) de,
 - Solución
- Sodio, Pertecneciato ($^{99\text{m}}\text{Tc}$) de
 - Solución Inyectable
- Talio (^{201}Tl), Cloruro de
 - Solución Inyectable
- Tecnecio ($^{99\text{m}}\text{Tc}$) Albúmina Humana
 - Solución Inyectable
- Tecnecio ($^{99\text{m}}\text{Tc}$) Azufre Coloidal
 - Solución Inyectable
- Tecnecio ($^{99\text{m}}\text{Tc}$), Gluconato de
 - Solución Inyectable
- Tecnecio ($^{99\text{m}}\text{Tc}$) Macroagregados de Albúmina
 - Suspensión Inyectable
- Tecnecio ($^{99\text{m}}\text{Tc}$), Medronato de
 - Solución Inyectable
- Tecnecio ($^{99\text{m}}\text{Tc}$), Pentetato de
 - Solución Inyectable
- Tecnecio ($^{99\text{m}}\text{Tc}$), Succímero de
 - Solución Inyectable

1110. PREPARACIONES RADIOFARMACÉUTICAS

Los conceptos generales del presente capítulo serán de aplicación a las monografías sobre Preparaciones Radiofarmacéuticas incluidas en esta Farmacopea.

A los fines pertinentes la manipulación y el empleo de preparaciones radiofarmacéuticas deben ajustarse a todas las normas, regulaciones, disposiciones nacionales y/o internacionales vigentes en materia de radioprotección emanadas de la Autoridad Nuclear competente y de la Autoridad Sanitaria jurisdiccional de acuerdo a su competencia.

DEFINICIONES

Preparación Radiofarmacéutica (Radiofármaco) - Es todo producto farmacéutico que, una vez terminado y listo para ser empleado, contiene uno o más nucleídos radiactivos (radioisótopos), incluidos con un propósito médico.

Generador de radionucleídos - Cualquier sistema que incorpora un radionucleído *madre* fijado a una matriz apropiada, a partir del cual se produce un radionucleído *hija*, la que se eluye o separa de la *madre* por cualquier método apropiado. La *hija* será empleada en una preparación radiofarmacéutica.

Juego de reactivos (kit) para preparaciones radiofarmacéuticas - Es todo producto farmacéutico para ser reconstituido y/o combinado con radionucleídos en la preparación radiofarmacéutica final, usualmente con anterioridad a su administración. El procedimiento para combinar el radionucleído con el juego de reactivos se denomina marcación radiactiva. Estos productos estarán sujetos a las normas generales establecidas para medicamentos y en particular, cuando sea pertinente, a las previstas para medicamentos inyectables. La calidad de estos productos se debe establecer teniendo en cuenta los criterios de pureza especificados en este capítulo y en las monografías correspondientes.

Pureza radionucleídica - Es la fracción porcentual de radiactividad del radionucleído declarado de una preparación radiofarmacéutica en relación a su radiactividad total. Las impurezas radionucleídicas relevantes se indican con sus límites, cuando son previsibles, en las monografías correspondientes.

Pureza radioquímica - Es la fracción porcentual de radiactividad del radionucleído declarado que está presente en la preparación radiofarmacéutica en la forma química declarada en relación a la radiactividad total de ese radionucleído. Las

impurezas radioquímicas relevantes se indican con sus límites, cuando son previsibles, en las monografías correspondientes.

Pureza química - Es la fracción porcentual de la masa de sustancia bajo la forma química indicada y la masa total de materia contenida en la fuente, exceptuando los excipientes y disolventes eventuales.

Biodistribución o Distribución biológica - A los efectos de este capítulo se entiende por Biodistribución como la fracción de la actividad administrada que se localiza en los diferentes tejidos, órganos o sistemas del organismo.

Portador isotópico - Se refiere a un isótopo estable del mismo elemento que el radionucleído correspondiente a la preparación radiofarmacéutica, presente o agregado a la preparación radiactiva en la misma forma química que se encuentra el radionucleído.

Actividad (A) - Es el número de núcleos radiactivos que desintegra en la unidad de tiempo. La unidad de actividad en el Sistema Internacional es 1 Becquerel o 1 Becquerelio (Bq) que corresponde a 1 desintegración por segundo.

Actividad específica - Es la radiactividad de un radionucleído por unidad de masa del elemento o de la forma química de la que forma parte.

Concentración de actividad - Es la radiactividad de un radionucleído por unidad de volumen o de masa de la preparación radiactiva.

Radiactividad total - Es la radiactividad del radionucleído expresado por unidad de la forma de la preparación radiofarmacéutica (frasco, cápsula, ampolla, generador, etc.).

Autorradiólisis - Es el proceso de descomposición de las moléculas de un sistema como consecuencia de la interacción directa o indirecta de las partículas y/o radiaciones emitidas por un nucleído radiactivo. Su importancia depende del tiempo y de la concentración de actividad.

Fuente radiactiva - Material radiactivo empleado por su propiedad de emitir radiaciones ionizantes.

Fuente sellada - Fuente radiactiva preparada para ser empleada de tal manera que la sustancia radiactiva no se encuentre en contacto directo con el medio ambiente. Está constituida por material radiactivo firmemente incorporado a materiales sólidos e inactivos o contenido en un envase sellado con resistencia suficiente para prevenir cualquier dispersión del material radiactivo y cualquier posibilidad de contaminación, en las condiciones normales de empleo.

Fuente no sellada - Fuente radiactiva prevista para ser empleada de tal manera que la sustancia radiactiva se encuentre en contacto directo con el medio ambiente. En una fuente no sellada, el material radiactivo es directamente accesible. Generalmente, se admite que pueda ser sometida a manipulaciones físicas o químicas, durante el transcurso de las cuales puede ser transferida de un envase a otro. Las preparaciones radiofarmacéuticas entran dentro de esta categoría.

Fecha de vencimiento (ver. *Consideraciones Generales*) - Se establece teniendo en cuenta las propiedades radiactivas del producto y los resultados de estudios de estabilidad de la forma farmacéutica final.

Fecha de elaboración - Fecha en la que ha finalizado el ciclo productivo de la preparación farmacéutica.

Fecha de ensayo - Fecha (y hora en caso de corresponder) en la que es efectivamente realizado el ensayo para radiactividad.

Fecha de calibración - Fecha y hora asignada en forma arbitraria en la que se calcula la radiactividad del producto para conveniencia del usuario.

MEDICION DE RADIATIVIDAD

Uno de los objetivos del control de calidad de las preparaciones radiofarmacéuticas consiste en determinar su actividad y controlar su pureza. Con tal objeto se emplean distintos detectores que basados en que las partículas o radiaciones que con ellos interactúan producen fenómenos que permiten medir la cantidad y eventualmente la energía de las partículas y radiaciones detectadas.

En los detectores se puede emplear la ionización de gases, la formación de pares electrón-vacante positiva en semiconductores o combinación de semiconductores o el fenómeno de centelleo tanto en sólidos como en líquidos. Cada uno de estos detectores tiene sus aplicaciones y posibilidades que deben ser conocidas por el profesional que los emplea. En todos los casos, como resultado de la interacción entre la partícula o radiación con el detector se producirán cargas que pueden hacerse evidentes registrando la actividad mediante pulsos (caídas de tensión sumamente breves) o mediante una diferencia de potencial a la salida del detector. Una u otra forma de registro depende del producto, de la resistencia, R , y de la capacidad, C , acoplada al detector. Cuando el producto RC , denominada constante de tiempo, es menor que el tiempo transcurrido entre la llegada de una partícula o radiación y la próxima, tendremos un circuito diferenciador y se obtiene un pulso por cada partícula o radiación detectada. La magnitud de la

caída de tensión de dicho pulso se denomina altura de pulso y es directamente proporcional a la energía de la partícula o radiación detectada. Es la forma más frecuente de detectar actividades y se emplea cuando la actividad de la muestra es constante durante el tiempo de medición. Cuando esto no es el caso, se aumenta el valor de RC de forma tal de no detectar cada pulso separadamente sino en forma acumulada. Tendremos entonces un circuito integrador, en el que a la salida del detector se genera una diferencia de potencial que es proporcional al número de pulsos por segundo y a la actividad de la muestra. En el caso particular de las cámaras de ionización es posible registrar directamente la intensidad de corriente que circula a través de ella, valor que, una vez llegado a saturación, es proporcional a la actividad de la muestra radiactiva. La pendiente inicial de la curva de intensidad en función de tiempo, $[(di/dt)_{t=0}]$, también es proporcional a dicha actividad.

Independientemente del método de su determinación, el número de pulsos por segundo será proporcional a la actividad. El factor de proporcionalidad es la eficiencia de medición del detector, E , que se expresa en pulsos o cuentas por desintegración.

La eficiencia de medición está determinada esencialmente por la eficiencia intrínseca (la tracción detectada por partícula que entra al volumen sensible del detector), la geometría (la fracción de partículas emitidas que llega al detector), el factor de corrección por el tiempo muerto del detector, el factor de corrección por retrodispersión, el factor de corrección por autoabsorción y autodispersión en la muestra. El tiempo muerto de un detector está relacionado con el tiempo que debe transcurrir luego de la detección de un pulso para que el detector pueda volver a detectar otro pulso. Si durante este tiempo muerto, τ , entra una partícula o radiación al detector éste no la detectará. En este caso se produce una pérdida por coincidencia. Cuanto mayor es τ , más importantes serán las pérdidas por coincidencia. Si se simboliza como n al número de pulsos por segundo corregidos por errores de coincidencia y como m al número de pulsos observado, se verifica que $t = [(1/m) - (1/n)]$. Si se prepara una serie de muestras de actividad creciente es posible determinar experimentalmente el tiempo muerto. Una vez conocido éste, la corrección de la actividad medida observada se realiza con la ecuación siguiente:

$$n = m / (1 - m\tau)$$

La retrodispersión se define como el reenfoque de una partícula o radiación emitida en una dirección que teóricamente no debiera ser detectada a una dirección en la que es detectada. En el caso de las partículas beta este reenfoque se realiza por choque con los electrones de los átomos que componen el soporte de la muestra radiactiva. En el caso de los fotones gamma la retrodispersión de fotones se debe a que generalmente el fotón proveniente del efecto Compton tiene una distribución angular de 180° , o sea es enfocado hacia la fuente emisora de fotones. La autoabsorción y autodispersión se refieren respectivamente a los fenómenos en función de los cuales una partícula o una radiación emitida en una fuente sólida o líquida es absorbida o dispersada por ésta.

Esta somera descripción de los factores que influyen en el número de pulsos registrados por segundo, demuestra que el cálculo teórico de la eficiencia es prácticamente imposible por lo que en general se la determina con *Patrones de referencia* debidamente certificados. En todos los casos, cuando se determina el número de pulsos por segundo bruto de una muestra radiactiva debe restársele el número de pulsos por segundo sin la muestra, denominado fondo. Esta diferencia será el número de pulsos por segundo *neto*. A los efectos de definir las condiciones óptimas de medición, conviene tener en cuenta, además de la eficiencia, un parámetro denominado cifra de mérito, que se define como E^2/fondo .

Las determinaciones de radiactividad varían estadísticamente debido fundamentalmente a la naturaleza aleatoria intrínseca del fenómeno radiactivo. La estadística que sigue la desintegración radiactiva es Binomial, que se aproxima a la de Poisson cuando la probabilidad es muy baja, tal como sucede en las desintegraciones radiactivas. En este caso, la desviación estándar de cada medición es igual a la raíz cuadrada del número de pulsos acumulados. Toda determinación de radiactividad deberá estar acompañada por la clara expresión del error de la determinación, dado por el valor medio ± 2 desviaciones estándar. La determinación repetida del número de pulsos por segundo de una muestra radiactiva dará valores acordes con una distribución normal. Las desviaciones de estos valores de una distribución normal se pueden determinar mediante la prueba del "chi" cuadrado (χ^2), que se emplea frecuentemente para comprobar el funcionamiento correcto de los equipos de detección de radiactividad.

Cámara de ionización - Es un aparato basado en la ionización de gases al que se le aplica un

campo eléctrico moderado a los fines de coleccionar en los electrodos correspondientes los electrones y los iones positivos formados en el fenómeno de ionización. La intensidad de corriente por unidad de actividad es una constante conocida como factor de calibración que es característica para cada nucleído en una cámara de ionización dada. Dicho factor viene determinado por el fabricante y una cámara calibrada en estas condiciones, conocida con el nombre de activímetro, puede emplearse para una determinación aproximada de la actividad de un determinado nucleído. Todo activímetro debe estar calibrado y certificado por la Autoridad Nuclear competente con la periodicidad que ésta determine. La actividad de cada preparación radiofarmacéutica debe ser determinada por el usuario antes de su administración al paciente, razón por la cual todo centro de medicina nuclear debe contar con un activímetro debidamente certificado y controlado con la periodicidad que la Autoridad Nuclear competente determine.

Contadores proporcionales - Son detectores basados en la ionización de gases, cuyo campo eléctrico es mayor que el de la cámara de ionización. Su aplicación rutinaria prácticamente está restringida a los radiocromatógrafos mono y bidimensionales. Estos son instrumentos que permiten la detección y ubicación de una o más zonas radiactivas en un radiocromatograma y además generalmente disponen de un integrador de áreas para determinar la actividad correspondiente a cada zona. Los contadores proporcionales requieren la renovación permanente del gas, que debe secarse previamente y que se ioniza cuando entra una partícula en el volumen sensible del detector, por lo cual se los suele denominar también contador de flujo.

Tubo Geiger Müller - El tubo Geiger Müller también se basa en la ionización de gases pero a diferencia de la cámara de ionización y de los contadores proporcionales, en estos detectores el campo eléctrico es tan alto que se produce la ionización de todo el gas contenido en el tubo detector, por lo que la altura del pulso primario será mayor pero será imposible determinar la naturaleza y energía de las partículas o radiaciones detectadas. Es un detector pequeño, generalmente portátil y que funciona con pilas. El registro de la actividad se realiza en forma auditiva y/o con un instrumento indicador analógico. Se emplea como monitor, es decir que, permite detectar cualitativamente la presencia de material radiactivo en un lugar determinado. Todo laboratorio que emplea material radiactivo debe contar por lo menos con un monitor para realizar este control.

Cristal de centelleo sólido de NaI(Tl).
Espectrometría gamma - Es un detector apto para determinar la actividad de nucleídos que emiten fotones gamma y/o X con buena eficiencia, permitiendo además estimar la energía de dichos fotones con regular precisión. El detector generalmente es un cristal de NaI activado con Talio para acelerar la desexcitación de los electrones del cristal y disminuir así la duración de los pulsos [NaI(Tl)]. En la práctica los fotones gamma emitidos por nucleídos empleados en preparaciones radiofarmacéuticas generalmente interactúan por efecto fotoeléctrico y Compton. 'En el primero el fotón entrega toda su energía a un electrón orbital, arrancándolo de su órbita. Este electrón a su vez excita a los electrones del cristal de centelleo, los que al desexcitarse emiten fotones visibles o del ultravioleta cercano, que inciden en el fotocátodo de un fotomultiplicador que amplifica el electrón primario producido en el fotocátodo. Una vez amplificado el pulso, su altura es proporcional a la energía del fotón gamma incidente. El factor de proporcionalidad depende únicamente de las condiciones electrónicas del espectrómetro y, en condiciones apropiadas, se mantiene constante en función del tiempo. Por lo tanto, la forma del espectro de altura de pulsos y la eficiencia de detección deben mantenerse constantes en función del tiempo. La proporcionalidad entre la altura del pulso debido al efecto fotoeléctrico y la energía del fotón debe controlarse mediante la calibración de energías, realizando un gráfico de la energía de los fotones gamma determinados en función de la base del discriminador en la que se observa la máxima actividad del pico producido por esta interacción. Sin embargo, en dicho pico se integran además los fotones de retrodispersión (ver más abajo), y los fotones de aniquilación cuando el radionucleído emite partículas beta positivas y/o emite fotones de suficiente energía como para formar pares electrón-positrón. Por este motivo el pico producido por todos estos efectos se denomina pico de energía plena (PEP). El mencionado control debe realizarse con la frecuencia establecida por la Autoridad Nuclear pertinente. De la misma manera debe controlarse periódicamente la eficiencia de medición con patrones apropiados y el cumplimiento de la prueba del χ^2 .

Dado que los fotones provenientes de una desintegración dada poseen la misma energía, la altura de los pulsos provenientes de la interacción de los fotones gamma por efecto fotoeléctrico tendrán aproximadamente la misma altura, con una distribución estadística más o menos precisa que depende de varios factores, entre ellos el tamaño del cristal. Estos pulsos provenientes de la interacción

de fotones por efecto fotoeléctrico generalmente forman, junto con lo ya mencionado anteriormente, el PEP, cuyo ancho a mitad de altura se define como resolución. Si dicha resolución es razonable, es posible estimar con alguna precisión la energía de los fotones gamma o X emitidos por el radionucleído.

En la interacción Compton un fotón incide en un electrón, de dicha interacción resulta un fotón de menor energía y diferente dirección de propagación, el electrón adquiere el resto de energía. La energía transferida es variable por lo que los electrones Compton tendrán una distribución continua de energía y el espectro de altura de pulsos también lo será. En el espectro de altura de pulsos aparecerá también un pico de retrodispersión, originado por la interacción Compton del fotón gamma con el entorno. En el caso de los emisores de positrones se observará un efecto fotoeléctrico correspondiente a 511 keV.

La determinación de la altura de los pulsos detectados se puede realizar mediante un discriminador espectrométrico, cuya función consiste en dejar pasar solamente aquellos pulsos cuya altura está comprendida entre un valor base (base del discriminador) y un valor techo. La diferencia de tensión entre la base y el techo del discriminador se denomina ancho de ventana o canal. Cuando este canal es muy pequeño y deja pasar los pulsos cuya altura está comprendida por ej., entre un valor dado y un 1 % del discriminador total, el número de pulsos por segundo registrado en cada canal será un espectro de altura de pulsos y permitirá determinar la ubicación del fotopico, la de la distribución Compton y la del pico de retrodispersión. Sin embargo, cuando el espectrómetro de centelleo sólido se emplea para medir el número de pulsos por segundo en condiciones óptimas de eficiencia, se debe abrir el canal o ventana de forma tal que abarque por ej., la totalidad del pico de energía plena. Otra posibilidad consiste en eliminar el techo y efectuar la determinación con un espectrómetro simple, en cuyo caso, si bien puede aumentar algo la eficiencia, en general suele disminuir la cifra de mérito. La altura de pulsos también se puede analizar con un convertidor analógico digital asociado a un espectrómetro multicanal.

En los casos en que la energía de los fotones de una probable impureza radionucleídica es mucho mayor que la de los fotones del radionucleído de interés, la espectrometría gamma con un cristal de NaI(Tl) permite su detección con una razonable probabilidad.

Detectores de semiconductores - Son detectores de estado sólido para la detección de partículas y

radiaciones pero con una excelente resolución de energías, por ello son insustituibles para la determinación de energías de partículas o radiaciones con la precisión apropiada para establecer fehacientemente la pureza radionucleídica de una muestra radiactiva dada.

Los semiconductores son sustancias como el silicio (Si) o el germanio (Ge), que poseen cuatro electrones en su órbita de valencia. Cuando el átomo integra un sólido cristalino esos electrones poseen una energía intermedia entre la de un metal y un aislante para pasar a la banda de conducción. Si una partícula o una radiación interactúa con un semiconductor se produce su ionización al igual que en el caso de un gas. Sin embargo, dado que los semiconductores son sólidos, la energía que entrega la partícula o radiación arranca electrones de los átomos del semiconductor, los que pasan a la banda de conducción; la energía necesaria para ello es aproximadamente la décima parte de la que se requiere para formar un par de iones en un gas. En la órbita electrónica de los átomos del retículo cristalino de los cuales la partícula o radiación arrancó un electrón, quedará un *agujero* o *vacante* positiva. Los electrones y las *vacantes* se desplazan en un campo eléctrico con la misma velocidad. Por lo tanto el número de pares electrón-agujero positivo es unas diez veces el número de pares de iones formados en gases y además la velocidad de formación de los pulsos es sustancialmente mayor. Por todo ello, la precisión de la proporcionalidad entre la altura del pulso obtenido y la energía de la partícula o radiación incidente es mucho mayor que en la de cualquier otro aparato de detección de radiactividad.

Cierto tipo de detectores de silicio (de ion implantado) permiten determinar las energías de partículas alfa y beta con alta precisión. Otra clase de detectores del mismo semiconductor permite realizar espectrometría de alta resolución de fotones de baja energía (rayos X y gamma hasta 100 keV aproximadamente). Para realizar espectrometría gamma de mayores energías se emplean detectores de GeHP (hiperpuro).

Dado que la energía que requiere el electrón en estos cristales para pasar a la banda de conducción es muy baja, se los debe mantener permanentemente a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, para lo cual están montados sobre una barra de cobre que está sumergida en su mayor extensión en nitrógeno líquido contenido en un crióstato. Cuando se emplean estos detectores es imprescindible conectarlos con un analizador espectrométrico multicanal de varios miles de canales para poder apreciar en el registro la precisión de la respuesta del detector.

Espectrometría de centelleo líquido - Este tipo de detector es fundamentalmente empleado para la determinación de actividades de emisores de partículas beta de energía media o baja y partículas alfa.

En el caso de partículas beta de alta energía es posible emplear como alternativa la determinación de actividad por medición de la radiación de *erenkov* en el mismo espectrómetro. En este último caso es suficiente disolver el radionucleído en agua.

En la espectrometría de centelleo se prepara una solución centelleadora en la que la muestra radiactiva se encuentra en íntimo contacto con un solvente apropiado y uno o más sustancias que tienen la propiedad de emitir fotones cuando se desexcitan luego de una excitación (fluorescencia). La energía de la partícula beta se transfiere al solvente y luego a la o las sustancias centelleadoras, de manera tal que el número de fotones que llega al fotomultiplicador también es proporcional a la energía de la partícula beta que les dio origen. Sin embargo, dado que en este caso la muestra radiactiva y el centelleador forman un conjunto, las eventuales diferencias de las propiedades físicas, químicas o fisicoquímicas en cada una de las muestras analizadas puede variar en forma significativa. Por esta razón debe admitirse que en este tipo de detectores el factor de proporcionalidad entre la altura del pulso y la energía de la partícula beta varía de muestra en muestra. Esto implica que cada muestra tendrá su propio espectro de altura de pulsos y su eficiencia. La eficiencia de la cadena de transferencia de energía de la partícula beta al solvente, a la o las sustancias centelleadoras y finalmente la salida de los fotones del recipiente que contiene la solución centelleadora para incidir en el fotocátodo del fotomultiplicador, puede disminuir por varios factores, como ser, entre otros, la presencia de sustancias químicas, coloreadas o no, la falta de homogeneidad de la solución centelleadora y aún problemas en las paredes del recipiente que contiene la solución centelleadora. Se denomina *quenching* o *extinción* al fenómeno por el cual disminuye la eficiencia de esta cadena de transferencia de energía. Un aumento de *quenching* trae como consecuencia el corrimiento del espectro de altura de pulsos a alturas menores (hacia la izquierda) y una disminución de la eficiencia de medición. Por estos motivos, el resultado de una medición de radiactividad con estos aparatos solamente es válido si se expresa el resultado en Bq.

Determinación de la actividad - La determinación experimental de la actividad con detectores distintos a los ya mencionados en este capítulo puede ser necesaria en los centros de

producción de radioisótopos. Al respecto cabe mencionar que tanto el activímetro como los espectrómetros de centelleo líquido permiten determinar A pero requieren su calibración con patrones debidamente calibrados y certificados.

En general existen dos tipos de métodos para determinar A sin recurrir a patrones previamente calibrados. Uno de ellos es el método de coincidencia, que en general, puede ser beta-gamma o gamma-gamma o aún más complejo y suele requerir aparatos sofisticados y un cabal conocimiento del esquema de desintegración del nucleído en cuestión.

Otro método para determinar la actividad de emisores de partículas cargadas sin recurrir a patrones previamente calibrados es el que hace uso de los detectores 4π , que son dos contadores proporcionales iguales enfrentados y unidos entre sí. La muestra es una microgota de volumen conocido depositada en el centro de la esfera formada por ambos contadores sobre una folia ultradelgada. Dado que la geometría y todos los demás factores que modifican la eficiencia de medición son iguales a 1, la actividad medida expresada en pulsos por segundo será igual al número de partículas emitidas por segundo. Si en la desintegración de un núcleo se emite una sola partícula, dicho resultado será igual a A. El conocimiento del esquema de desintegración es esencial para la aplicación de este método, que es conceptualmente simple pero requiere una considerable habilidad experimental.

CRITERIOS GENERALES PARA EL CONTROL DE CALIDAD DE LAS PREPARACIONES RADIOFARMACEUTICAS

Los ensayos específicos que deben satisfacer cada preparación radiofarmacéutica se describen en la monografía correspondiente. A continuación se describen los ensayos generales.

Pureza radionucleídica - La pureza radionucleídica de una preparación radiofarmacéutica se determina verificando la identidad de todos los radionucleídos presentes y su actividad (A). Esta última debe ser informada para un tiempo determinado, la precisión de esta indicación depende del período de semidesintegración del radionucleído en cuestión, debiendo indicar, día, hora y eventualmente minutos. El método de detección a emplear dependerá del radionucleído a evaluar.

Debido a que cada radionucleído posee su propio período de semidesintegración, la pureza radionucleídica de una preparación radiofarmacéutica dada puede sufrir cambios desde

el momento de su producción. El requerimiento de pureza radionucleídica establecido en cada caso debe cumplirse a lo largo de todo el período de validez de cada preparación radiofarmacéutica. Cuando el período de semidesintegración del radionucleído es muy corto, a menudo resulta difícil o imposible efectuar la determinación de la pureza radionucleídica antes de la liberación de la preparación radiofarmacéutica a los centros de empleo. En este caso, la determinación de esta pureza constituye un valioso control de proceso.

Pureza radioquímica - La determinación de la pureza radioquímica requiere la separación de las diferentes sustancias que contienen el radionucleído y la estimación de la fracción de radiactividad asociada con la sustancia declarada. Las impurezas radioquímicas pueden originarse por uno o más de los siguientes factores: problemas en la producción del radionucleído; problemas en los subsiguientes procedimientos radioquímicos; problemas derivados de defectuosos procedimientos de separación o purificación durante la elaboración de la preparación radiofarmacéutica y la aparición de impurezas radioquímicas durante el almacenamiento de la preparación radiofarmacéutica, especialmente aquéllas debidas a los procesos de autorradiólisis.

El requerimiento de la pureza radioquímica de cada preparación radiofarmacéutica debe mantenerse hasta la fecha de vencimiento del producto. Para su determinación puede emplearse cualquier procedimiento analítico de separación. En la práctica los más usuales son las cromatografías en papel y en placa delgada (ver 100. *Cromatografía*) y eventualmente la electroforesis (ver 300. *Electroforesis*). Debe cuidarse que los pulsos por segundo permitan ser determinados sin cometer errores por coincidencia apreciables. En algunos casos puede ser necesario agregar un portador isotópico. Las posiciones en que se encuentra radiactividad y su intensidad se determinan por autorradiografía y posterior densitometría de la placa revelada con metodología normalizada o por determinación de los pulsos por segundo a lo largo de toda la corrida, mediante un radiocromatógrafo mono o bidimensional con accesorios apropiados. En la práctica se cortan las zonas de interés de acuerdo a posiciones predeterminadas en la puesta a punto del método y se determinan los pulsos por segundo con un detector apropiado. Las relaciones entre los pulsos por segundo determinados provee la relación entre las concentraciones de las distintas sustancias radiactivas que componen la preparación radiofarmacéutica.

Actividad específica y concentración de actividad - El cálculo de la actividad específica puede efectuarse mediante la división de la concentración de actividad por la concentración de la sustancia en cuestión, en tanto la pureza radionucleídica y la pureza radioquímica hayan sido previamente certificadas. La actividad específica y la concentración de actividad cambian en función del tiempo, por lo que deben ser establecidas para un determinado tiempo, especificando la fecha, las horas y minutos, de acuerdo con el período de semidesintegración del radionucleído.

Pureza química - La constatación de la pureza química de la preparación radiofarmacéutica requiere la determinación cuantitativa de cada una de las especies químicas que contiene la preparación y deben ser especificadas en la monografía correspondiente junto con el método que debe emplearse a tal fin.

Controles Físico-Químicos - Además de la determinación de pH, debe controlarse el aspecto físico de un radiofármaco en el momento de la producción, recepción, luego de la marcación (cuando corresponda) y antes de ser administrado.

Se recomienda efectuar la observación directa del producto marcado interponiendo un vidrio plomado o indirectamente a través de un espejo. Cualquier desviación del color y claridad de una solución debe ser analizada, ya que puede reflejar cambios en el radiofármaco que podrían alterar eventualmente su comportamiento biológico.

El tamaño de las partículas coloidales debe determinarse mediante los métodos físicos indicados en cada caso en <290>. *Distribución de tamaño de partículas en polvos*. El control de su número y tamaño en macroagregados y microsferas se efectuará en un microscopio óptico con un ocular micrométrico.

Controles biológicos

a) Biodistribución

Toda preparación radiofarmacéutica que se emplea con fines médicos tanto para estudios diagnósticos como para fines terapéuticos debe localizarse preferentemente en el órgano o sistema cuya forma, función o metabolismo se desea evaluar.

Por ello es imprescindible efectuar un prolijo estudio de biodistribución en el desarrollo de toda preparación radiofarmacéutica.

La monografía correspondiente provee los detalles para la ejecución del estudio y los valores límites que deben cumplirse para cada preparación radiofarmacéutica. Una distribución biológica acorde con los requerimientos, asegurará en principio una distribución de las sustancias radiactivas en el ser humano tal que se concentre

una radiactividad mayor que un cierto mínimo en el órgano blanco y una actividad menor que un cierto máximo en las áreas que no son blanco.

El estudio deberá desarrollarse según: a cada uno de tres animales se les administra por la vía que corresponda la preparación a ensayar. Si es relevante a los fines del estudio, la especie, sexo, cepa y masa y/o edad de los animales se especifican en la monografía correspondiente. La administración de la preparación radiofarmacéutica se realiza igual que en el ser humano. Es conveniente establecer una relación apropiada entre la actividad administrada al animal y al ser humano.

Una vez administrada la preparación se ubica a cada animal en una jaula separada, si es necesario, colectando orina y heces y previniendo la contaminación de la superficie corporal del animal. Una vez transcurrido el tiempo especificado, los animales se sacrifican por un método apropiado, que, en el caso de requerirlo así las especificaciones de la monografía correspondiente, debe permitir recolectar una cantidad suficiente de sangre. Se disecan los órganos y sistemas especificados, se los lava y seca y, si así está establecido se determina su masa para poder calcular la concentración de actividad. Se determina la radiactividad de los órganos y sistemas separados, respetando la geometría de la medición en cada caso. La distribución biológica se calcula según los casos, relacionando la actividad de cada órgano o sistema con la actividad inyectada o con la suma de las actividades de los órganos y del remanente del animal. En algunos casos puede ser conveniente determinar también la concentración de actividad de los órganos.

En general se admite que una preparación radiofarmacéutica cumple con los requisitos de distribución biológica si en dos de los tres animales ensayados se obtienen resultados acordes a los criterios especificados. En las preparaciones radiofarmacéuticas de radionucleídos con período de semidesintegración corto o muy corto, la autorización de liberación de los lotes para su empleo es generalmente realizada antes de la obtención de los resultados del ensayo. En este último caso, el ensayo constituye un control de proceso.

b) Endotoxinas bacterianas o piretógenos.

Para ciertas preparaciones radiofarmacéuticas, se encuentra indicado el ensayo de endotoxinas bacterianas. Este ensayo debe realizarse conforme a lo establecido en <330>. *Ensayo de endotoxinas bacterianas*. El límite de endotoxinas bacterianas para cada preparación se encuentra especificado en la monografía correspondiente.

Si la preparación radiofarmacéutica contiene sustancias que provocan interferencias con este ensayo de tal forma que inhiban o activen la reacción y no resulte posible eliminar dichos factores, será necesario realizar el ensayo de pirogénos, según se establece en <340>. *Ensayo de pirogénos*. El volumen y la actividad que se inyecten al conejo será calculada teniendo en cuenta los valores de volumen y actividad que se inyectan en el humano, ateniéndose a las normas nacionales y/o internacionales de radioprotección.

Cuando el período de semidesintegración del radionucleído presente en la preparación sea corto, la autorización de liberación de los lotes para su empleo es generalmente realizada antes de la obtención de los resultados del ensayo. En este último caso, el ensayo constituye un control de proceso. Se aconseja por lo tanto, comprobar previamente la ausencia de pirogénos en los componentes empleados en las preparaciones radiofarmacéuticas.

c) Toxicidad.

En el desarrollo de una nueva preparación radiofarmacéutica es necesario considerar el balance riesgo-beneficio que resulta de su empleo en seres humanos. Uno de los riesgos está relacionado con la toxicidad. Cuando corresponda, la misma será establecida de acuerdo a las normas fijadas en <360>. *Ensayo de toxicidad anormal* debiendo considerarse el volumen a inyectar determinado en la monografía correspondiente.

Controles microbiológicos-Esterilidad - Las preparaciones radiofarmacéuticas que se administran por vía parenteral deben ser elaboradas empleando precauciones que eliminen la contaminación microbiana y aseguren su esterilidad. El ensayo de esterilidad debe realizarse según lo establecido en <370>. *Ensayo de esterilidad*. No obstante ello, la realización del ensayo de esterilidad de preparaciones radiofarmacéuticas puede presentar dificultades especiales debidas, por ej., al pequeño tamaño de los lotes y a los riesgos de irradiación para el analista.

Por otra parte, y debido a que el período de semidesintegración de la mayoría de los radionucleídos empleados en medicina nuclear es mucho más corto que el tiempo que demanda la finalización del ensayo, no siempre es posible esperar el resultado del mismo antes de autorizar la liberación para uso del lote. El ensayo constituye entonces un control de la elaboración. Por lo expuesto, la validación del proceso de elaboración empleado resulta crítica en estos casos.

Cuando la preparación radiofarmacéutica contenga un agente bacteriostático, la naturaleza y concentración del mismo deben estar especificadas en la monografía correspondiente e indicada en el rótulo del envase.

Rotulado - El envase de la preparación radiofarmacéutica deberá contener, además de lo establecido para rotulado de medicamentos, la siguiente información: volumen, actividad total y/o concentración de actividad con indicación de día y hora, día y hora límite de empleo de la preparación radiofarmacéutica, nombre y concentración del agente bacteriostático o estabilizador agregado, vía de administración, si fuera necesario, especificar cualquier condición especial de almacenamiento y las indicaciones correspondientes a material radiactivo, de acuerdo a las normas pertinentes fijadas por la Autoridad Nuclear competente.

Almacenamiento - Las preparaciones radiofarmacéuticas deben ser almacenadas en envases herméticos, con el blindaje apropiado a las normas de radioprotección nacionales y/o internacionales vigentes. En el caso de preparaciones radiofarmacéuticas con radionucleídos de períodos de semidesintegración medianos o largos, durante su almacenamiento los envases y las soluciones pueden colorearse debido a la radiación emitida.

Período de vida útil - El período de vida útil de una preparación radiofarmacéutica expresado en días, horas, etc., debe estar claramente indicado en el rótulo del envase. Para las preparaciones radiofarmacéuticas marcadas con radionucleídos cuyos períodos de semidesintegración no exceden los 60 días, el intervalo de empleo no puede superar tres períodos de semidesintegración. Para los radionucleídos con períodos de semidesintegración más largos, ese intervalo no debe exceder los 6 meses.

Los factores que determinan estos límites incluyen la disminución de la radiactividad del radionucleído que obliga a administrar una masa mayor de sustancia a medida que transcurre el tiempo.

El período de vida útil de los juegos de reactivos (kits) se determinará de acuerdo a las normas generales establecidas para medicamentos.

Por otra parte, la descomposición por autorradiólisis que depende fuertemente del tiempo y puede alterar la pureza radioquímica de la preparación, juega un papel importante en la fijación de estos límites que serán especificados en la monografía correspondiente.

CIANOCOBALAMINA (⁵⁷Co)

CÁPSULAS

Sinonimia - Vitamina B₁₂ ⁵⁷Co.

Definición - Las Cápsulas de Cianocobalamina (⁵⁷Co) contienen vitamina B₁₂ marcada con cobalto-57. El cobalto-57 es un isótopo radiactivo del cobalto que se obtiene por irradiación del níquel con protones. No menos de 90 por ciento del cobalto-57 debe estar en forma de cianocobalamina. Las Cápsulas de Cianocobalamina deben cumplir con los requisitos para *Cápsulas rígidas* (ver 1050. *Formas Farmacéuticas*), salvo excepción justificada y autorizada. Deben cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Cápsulas de gelatina rígida. El cobalto-57 decae por captura electrónica, emite radiaciones gamma y tiene un período de semidesintegración de 271,8 días.

Sustancia de referencia - Cianocobalamina SR-FA

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos herméticos, en un sitio frío.

ENSAYOS

Identificación

A - Obtener y registrar el espectro de radiaciones gamma mediante un sistema de espectrometría gamma de alta resolución debidamente calibrado. La identificación y cuantificación se llevará a cabo con datos según la siguiente tabla:

Radio-nucleido	T _{1/2}	E _γ (keV)	Intens. % ⁽¹⁾
Co-57	271,8 d	122,1	85,5
		136,5	10,7

⁽¹⁾ N° de fotones por cada 100 desintegraciones.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Pureza radioquímica*. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución estándar*.

Actividad específica

No menos de 18,5 kBq (0,5 μCi) por μg de cianocobalamina.

Contenido de cianocobalamina

Determinar el contenido en μg por ml de cianocobalamina. Proceder según se indica en *Valoración en Cianocobalamina*.

Disgregación <310>

Deben cumplir con los requisitos, con la excepción de emplear una sola cápsula en lugar de seis.

Uniformidad de contenido

Determinar en no menos de diez Cápsulas de Cianocobalamina, la actividad de cada cápsula con un activímetro debidamente calibrado y en idénticas condiciones geométricas. Calcular la actividad media por cápsula. Ninguna cápsula debe presentar una actividad que difiera en más del 10 % del valor medio. La desviación estándar relativa no debe ser mayor de 3,5 %.

Pureza radionucleídica

Obtener y registrar el espectro de radiaciones gamma empleando un sistema de espectrometría gamma de alta resolución debidamente calibrado. El espectro corresponde al cobalto-57. Determinar las cantidades relativas de cobalto-57, cobalto-56, cobalto-58 y cobalto-60 y de otras impurezas radionucleídicas presentes, cuyos datos nucleares más importantes se indican en la siguiente tabla:

Radio-nucleido	T _{1/2}	E _γ (keV)	Intens. % ⁽¹⁾
Co-56	77,236 d	511	39,2
		846,8	99,9
		1037,8	14,0
		1238,3	66,4
		1771,3	15,5
		2598,4	17,0
		otros	< 10 c/u
Co-58	70,83 d	511	30,0
		810,8	99,45
		otros	< 1 c/u
Co-60	5,271 a	1173,2	99,85
		1332,5	99,98
		otros	< 0,01 c/u

⁽¹⁾ N° de fotones por cada 100 desintegraciones.

La actividad debida al cobalto-60 no debe ser mayor al 1 % de la radiactividad total y no más de 2 % de la radiactividad es debida al cobalto-58, cobalto-60 y otras impurezas radionucleídicas.

Pureza radioquímica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 361 nm, un detector gamma ajustado para cobalto-57 y una columna de acero inoxidable de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 μm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Solución reguladora pH 3,5 - Disolver 10 g de fosfato dibásico de sodio en agua, ajustar a pH 3,5 con ácido fosfórico y diluir a 1 litro con agua.

Fase móvil - Solución reguladora pH 3,5 y metanol (74: 26). [NOTA: emplear dentro de los dos días de su preparación].

Solución muestra - Disolver el contenido de una Cápsula de Cianocobalamina en 1,0 ml de agua y dejar reposar durante 10 minutos. Centrifugar a 2.000 rpm durante 10 minutos. Emplear el sobrenadante.

Solución estándar - Transferir 10 mg de Cianocobalamina SR-FA a un matraz aforado de 100 ml, disolver en *Fase móvil* y completar a volumen con el mismo solvente. Transferir 2 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con *Fase móvil*. [NOTA: emplear dentro de la hora de su preparación].

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 100 μ l) de la *Solución estándar* y la *Solución muestra* y registrar los cromatogramas durante tres veces el tiempo de retención de cianocobalamina. Determinar las respuestas de los picos empleando el detector gamma y calcular el porcentaje de cobalto-57 en forma de cianocobalamina, por la fórmula siguiente:

$$100(r_M/r_T)$$

en la cual r_M es la respuesta del pico correspondiente a cianocobalamina-Co-57 obtenida a partir de la *Solución muestra* y r_T es el total de las respuestas de los picos en el radiocromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra*. No menos del 90 % de la radiactividad total se encuentra como cianocobalamina-Co-57.

RADIATIVIDAD

La actividad media determinada en *Uniformidad de contenido* no debe ser menor de 90,0 % y no más de 110,0 % de la actividad debida al cobalto-57 declarada en el rótulo.

ROTULADO

Proceder según se indica en *Rotulado en 1110. Preparaciones radiofarmacéuticas*.

CIANOCOBALAMINA (⁵⁷Co)

SOLUCIÓN

Sinonimia - Vitamina B₁₂ ⁵⁷Co.

Definición - La Solución de Cianocobalamina (⁵⁷Co) es una solución destinada a la administración por vía oral, que contiene vitamina B₁₂ marcada con cobalto-57. El cobalto-57 es un isótopo radiactivo del cobalto que se obtiene por irradiación del níquel con protones. La Solución de Cianocobalamina (⁵⁷Co) debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la actividad, debida al cobalto-57, declarada en el rótulo. No menos del 90 por ciento del cobalto-57 debe estar en forma de cianocobalamina. Debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Solución límpida, incolora o ligeramente rosada. El cobalto-57 decae por captura electrónica, emite radiaciones gamma y tiene un período de semidesintegración de 271,8 días.

Sustancia de referencia - Cianocobalamina SR-FA.

CONSERVACIÓN

Proceder según se indica en *Almacenamiento en 1110. Preparaciones radiofarmacéuticas.*

ENSAYOS

Identificación

A - Obtener y registrar el espectro de radiaciones gamma empleando un sistema de espectrometría gamma de alta resolución debidamente calibrado. La identificación y cuantificación se llevará a cabo con datos según se indican en *Tabla en Identificación A en Cápsulas de Cianocobalamina (⁵⁷Co).*

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Pureza radioquímica.* El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe corresponder con el obtenido con la *Solución estándar.*

Determinación del pH <250>

Entre 4,0 y 6,0.

Contenido de cianocobalamina

Proceder según se indica en *Valoración en Cianocobalamina.* Determinar el contenido en µg de cianocobalamina por ml.

Pureza radionucleídica

Obtener y registrar el espectro de radiaciones gamma empleando un sistema de espectrometría gamma de alta resolución debidamente calibrado.

El espectro corresponde al cobalto-57. Determinar las cantidades relativas de cobalto-57, cobalto-56, cobalto-58 y cobalto-60 y de otras impurezas radionucleídicas presentes, cuyos datos nucleares más importantes son los descritos en *Tabla en Pureza radionucleídica en Cápsulas de cianocobalamina.*

La actividad debida al cobalto-60 no debe ser mayor al 1 % de la radiactividad total y no más de 2 % de la radiactividad es debida al cobalto-58, cobalto-60 y otras impurezas radionucleídicas.

Pureza radioquímica

Sistema cromatográfico, Solución reguladora pH 3,5, Fase móvil y Solución estándar - Proceder según se indica en *Pureza radioquímica en Cápsulas de Cianocobalamina (⁵⁷Co).*

Solución muestra - Emplear la Solución de Cianocobalamina (⁵⁷Co).

Procedimiento - Proceder según se indica en *Pureza radioquímica en Cápsulas de Cianocobalamina (⁵⁷Co).* Determinar la respuesta de los picos empleando el detector gamma y calcular el porcentaje de cobalto-57 en forma de cianocobalamina, por la fórmula siguiente:

$$100 (r_M/r_T)$$

en la cual los términos son los definidos en la citada monografía. No menos del 90 % de la radiactividad total se encuentra como cianocobalamina-Co-57.

RADIATIVIDAD

Medir la actividad de la Solución de Cianocobalamina empleando un activímetro debidamente calibrado (ver *1110. Preparaciones radiofarmacéuticas.*)

ROTULADO

Proceder según se indica en *Rotulado en 1110. Preparaciones radiofarmacéuticas.*

GALIO (⁶⁷Ga), CITRATO DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Citrato de Galio (⁶⁷Ga) es una solución estéril de galio-67 en forma de citrato de galio isotónica preparada por adición de cloruro de sodio y citrato de sodio. Puede adicionarse un conservante antimicrobiano apropiado. El galio-67 es un isótopo radiactivo del galio obtenido por irradiación con protones de cinc enriquecido en cinc-68. El galio-67 puede separarse del cinc por extracción con solventes o por cromatografía en columna. La Solución Inyectable de Citrato de Galio (⁶⁷Ga) debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la actividad del galio-67 declarada en la fecha y hora establecidas en el rótulo. No menos del 99 por ciento de la actividad corresponde al galio-67 y no menos del 97 por ciento al galio-67 en forma de citrato. El galio-66 no representa más del 0,2 por ciento de la radiactividad total. Debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Solución límpida e incolora. El galio-67 decae por captura electrónica orbital emitiendo radiaciones gamma, con un período de semidesintegración de 3,261 días.

CONSERVACIÓN

Proceder según se indica en *Almacenamiento en 1110. Preparaciones radiofarmacéuticas.*

ENSAYOS

Identificación

A - Registrar el espectro de las radiaciones gamma empleando un sistema de espectrometría gamma de alta resolución debidamente calibrado. El espectro corresponde al Galio-67, según datos de la siguiente tabla:

Radio-nucleido	T _{1/2}	E _γ (keV)	Intensidad % ⁽¹⁾
Ga-67	3,261 d	91,3	3,1
		93,3	37,8
		184,6	20,9
		300,2	16,8
		otros	< 5 c/u

⁽¹⁾ N° de fotones por cada 100 desintegraciones.

B - A 0,2 ml de Solución Inyectable de Citrato de Galio (⁶⁷Ga), agregar 0,2 ml de una solución de

cloruro férrico 1 g por litro y ácido clorhídrico al 0,1 % v/v y mezclar. Comparar el color con el de una solución de alcohol bencílico 9 g por litro y cloruro de sodio 7 g por litro tratada del mismo modo. Solamente debe aparecer coloración amarilla en la solución muestra.

Determinación del pH <250>

Entre 4,5 y 8,0.

Pureza química

Ácido acético diluido - Transferir 12 g de ácido acético glacial a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua.

Solución reguladora de acetato pH 4,7 - Disolver 136,1 g de acetato de sodio en 500 ml de agua. Mezclar 250 ml de esta solución con 250 ml de **Ácido acético diluido**. Agitar dos veces con una solución recientemente preparada y filtrada de diti-zona (SR1) en cloroformo de 0,1 g por litro. Agitar con tetracloruro de carbono hasta obtener una fase orgánica incolora. Filtrar la fase acuosa para eliminar las trazas de tetracloruro de carbono.

Solución de diti-zona - Disolver 10 mg de diti-zona en 100 ml de metil etil cetona, dejar en reposo 5 minutos, filtrar e inmediatamente antes de emplear diluir diez veces la solución con metil etil cetona.

Solución estándar de cinc - Disolver en agua una cantidad de sulfato de cinc que corresponda a 0,440 g de ZnSO₄ · 7H₂O, agregar 1 ml de ácido acético y completar a 100 ml con agua. Diluir 1 ml de esta solución a 10 ml con agua. Inmediatamente antes de su uso diluir 1 ml de la solución de cinc a 20 ml con agua.

Determinación de Cinc - A 0,1 ml de la Solución Inyectable de Citrato de Galio (⁶⁷Ga), agregar 0,9 ml de agua, 5 ml de **Solución reguladora de acetato pH 4,7**, 1 ml de una solución de tiosulfato de sodio de 250 g por litros y 5,0 ml de **Solución de diti-zona**. Agitar durante 2 minutos y separar la fase orgánica. Determinar la absorbancia de la fase orgánica a 530 nm (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*). La absorbancia no debe ser mayor a la de la fase orgánica obtenida a partir de 0,1 ml de la **Solución estándar de cinc**.

Pureza radionucleídica

Obtener y registrar el espectro de radiaciones gamma empleando un sistema de espectrometría gamma de alta resolución debidamente calibrado. Determinar las cantidades relativas de galio-67 y galio-66 presentes, cuyos datos nucleares más importantes se indican en la siguiente tabla:

Radio-nucleido	T _{1/2}	E _γ (keV)	Intensidad % ⁽¹⁾
Ga-66	9,49 h	511,0	112,1

	833,5	5,9
	1039,2	37
	1918,3	2,0
	2189,6	5,3
	2751,8	22,7
	otros	< 2 c/u

⁽¹⁾ N° de fotones por cada 100 desintegraciones.

La actividad debida al galio-67 no debe ser menor al 99 % de la radiactividad total y no más de 0,2 % de la radiactividad es debida al galio-66.

Pureza radioquímica

Fase estacionaria - Emplear una hoja de papel para cromatografía ascendente en papel (ver 100. *Cromatografía*).

Fase móvil - Disolver 1,36 g de acetato de sodio y 0,58 ml de ácido acético glacial en 100 ml de agua.

Solución muestra - Emplear la Solución Inyectable de Citrato de Galio (⁶⁷Ga).

Procedimiento - Aplicar sobre la hoja entre 10 y 20 µl de la *Solución muestra* y desarrollar el cromatograma sin dejar secar. Determinar la distribución de la actividad con un detector apropiado. No menos del 97 % de la actividad total debe presentar un valor de R_f mayor o igual a 0,9, correspondiente al citrato de galio (⁶⁷Ga).

Esterilidad

Debe cumplir con los requisitos en *Esterilidad* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 175/V UI por ml de la inyección, en la cual V es la dosis máxima recomendada por ml a la fecha de vencimiento.

RADIOACTIVIDAD

Medir la actividad de la Solución Inyectable de Citrato de Galio (⁶⁷Ga) empleando un activímetro debidamente calibrado. (ver 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*).

ROTULADO

Proceder según se indica en *Rotulado* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*.

INDIO (^{111}In), CLORURO DE SOLUCIÓN

Definición - La Solución de Cloruro de Indio (^{111}In) es una solución apirógena y estéril en ácido clorhídrico diluido apropiado para el marcado radiactivo de proteínas tales como anticuerpos monoclonales, péptidos o pequeñas moléculas orgánicas biológicamente activas. El indio-111 es un isótopo radiactivo del indio obtenido por irradiación neutrónica del cadmio. La Solución de Cloruro de Indio (^{111}In) debe contener no menos del 90,0 por ciento y no más del 110,0 por ciento de la actividad declarada del indio-111 con fecha y hora indicada en el rótulo. No menos del 95,0 por ciento de la actividad debe corresponder al indio-111 en forma iónica (III). No más del 0,25 por ciento de la actividad total se debe a otros radionucleidos diferentes al indio-111. La actividad específica no debe ser menor de 1,85 GBq (50 mCi) de indio-111 por μg de indio. Debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Solución límpida e incolora. El indio-111 posee un período de semidesintegración de 2,8 días y emite radiaciones gamma y rayos X.

CONSERVACIÓN

Proceder según se indica en *Almacenamiento en 1110. Preparaciones radiofarmacéuticas*.

ENSAYOS

Identificación

A - Obtener y registrar el espectro de radiaciones gamma y rayos X de la Solución de Cloruro de Indio (^{111}In) empleando un sistema de espectrometría gamma de alta resolución debidamente calibrado (ver *1110. Preparaciones radiofarmacéuticas*). El espectro corresponde al indio-111, según los datos nucleares de la siguiente tabla:

Radio-nucleido	$T_{1/2}$	E_{γ} (keV)	Intensidad % ⁽¹⁾
In-111	2,8049 d	γ 171,3	2,60
		γ 167,5	10,0
		γ 245,4	94,1
		otro	< 1
		X 23,1	68,2
		X 26,3	14,7

⁽¹⁾ N° de fotones por cada 100 desintegraciones

B - Examinar el cromatograma obtenido en el ensayo de *Pureza radioquímica* ya que la distribución de la actividad contribuye a la identificación de la preparación. El pico principal debe presentar un valor de R_f entre 0,5 y 0,8.

C - Agregar 100 μl de solución de nitrato de plata de 17 g por litro a 50 μl de la Solución de Cloruro de Indio (^{111}In). Se debe formar un precipitado blanco.

Determinación del pH <250>

Entre 1,0 y 2,0.

Pureza química

CADMIO

Determinar el cadmio en la Solución de Cloruro de Indio (^{111}In) en μg por ml mediante espectrometría de absorción atómica empleando un horno de grafito para volatilizar el cadmio. Medir absorbancia a 228,8 nm comparando contra un estándar.

COBRE

Determinar el cobre en la Solución de Cloruro de Indio (^{111}In) en μg por ml mediante espectrometría de absorción atómica empleando un horno de grafito para volatilizar el cobre. Medir la absorbancia a 324,8 nm comparando contra un estándar.

HIERRO

Determinar el hierro en la Solución de Cloruro de Indio (^{111}In) en μg por ml mediante espectrometría de absorción atómica empleando un horno de grafito para volatilizar el hierro. Medir la absorbancia a 248,3 nm comparando contra un estándar.

NÍQUEL

Determinar el níquel en la Solución de Cloruro de Indio (^{111}In) en μg por ml mediante espectrometría de absorción atómica empleando un horno de grafito para volatilizar el níquel. Medir la absorbancia a 232 nm comparando contra un estándar.

PLOMO

Determinar el plomo en la Solución de Cloruro de Indio (^{111}In) en μg por ml mediante espectrometría de absorción atómica empleando un horno de grafito para volatilizar el plomo. Medir la absorbancia a 217 nm comparando contra un estándar.

CINC

Solución estándar A - Preparar una solución de aproximadamente 1 μg de cinc por ml en ácido clorhídrico (1 en 100).

Solución estándar B - Transferir 10 ml de la *Solución estándar A* a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua una solución de aproximadamente 0,2 μg de cinc por mililitro.

Solución muestra - Transferir 0,1 ml de la Solución de Cloruro de Indio (^{111}In) a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de la *Solución estándar A*, la *Solución estándar B* y la *Solución muestra*, a 213,9 nm con un espectrofotómetro de absorción atómica equipado con lámpara de cinc de cátodo hueco y una llama de aire-acetileno, empleando agua como blanco. Determinar la cantidad de cinc en µg por ml en la Solución de Cloruro de Indio (¹¹¹In).

El contenido total iones metálicos no debe ser mayor de 1,0 µg por ml.

Pureza radionucleídica

Obtener y registrar el espectro de radiaciones gamma y rayos X de la Solución de Cloruro de Indio (¹¹¹In) empleando un sistema de espectrometría gamma de alta resolución debidamente calibrado (ver 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*).

Determinar las cantidades de indio-110, indio-114m, cinc-65 y de otras impurezas radionucleídicas presentes cuyos datos nucleares más importantes se indican en la siguiente tabla.

Radio-nucleido	T _{1/2}	E _γ (keV)	Intensidad % ⁽¹⁾
In-110	4,9 h	γ 641,7	25,9
		γ 657,8	98,3
		γ 707,4	29,5
		γ 884,7	92,9
		γ 937,5	68,4
		γ 997,2	10,5
		otros	< 10 c/u
In-114m	49,51 d	X 23,1	59,2
		X 26,3	11,5
		γ 190,3	15,6
		γ 558,4	3,2
		γ 725,2	3,2
Zn-65	244,01 d	X 24,2	28,0
		X 27,3	5,6
		γ 1115,5	50,2
		γ 511	2,8
		otros	< 1 c/u
		X 8,3	39,5

⁽¹⁾ N° de fotones por cada 100 desintegraciones

No más del 0,25 por ciento de la actividad total se debe a la suma de las actividades de las impurezas mencionadas anteriormente.

Pureza radioquímica

Fase estacionaria - Emplear una placa de fibra de vidrio (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía.

Solución muestra - Emplear la Solución de Cloruro de Indio (¹¹¹In) a ensayar.

Fase móvil - Solución de 9,0 g por litro de cloruro de sodio, ajustada a pH 2,30 ± 0,05 con ácido clorhídrico diluido.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 5 µl de la *Solución muestra*. Desarrollar inmediatamente los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 15 cm de la longitud de la placa y dejar secar. Determinar la distribución de la actividad empleando un detector apropiado. El cloruro de Indio-111 presenta un valor de R_f entre 0,5 y 0,8. No menos del 95 por ciento de la actividad total del cromatograma corresponde al cloruro de indio-111.

Esterilidad

Debe cumplir con los requisitos en *Esterilidad* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 175/V UI/ml de la inyección, en donde V es la dosis máxima recomendada en ml a la fecha de vencimiento.

RADIOACTIVIDAD

Medir la actividad de la Solución de Cloruro de Indio (¹¹¹In) empleando un activímetro debidamente calibrado. (ver 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*).

ROTULADO

Proceder según se indica en *Rotulado* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*. En el rótulo debe figurar la siguiente leyenda: "No administrar directamente. Solución sólo apta para marcaciones radiactivas".

INDIO (^{111}In) OXINA

SOLUCIÓN

Definición - La Solución de Indio (^{111}In) Oxina es una solución estéril, apirógena e isotónica apropiada para el marcado radiactivo de células sanguíneas, especialmente leucocitos y plaquetas. Contiene indio-111 en forma de un complejo con 8-hidroxiquinoleína. Puede contener agentes tensioactivos. El indio-111 es un isótopo radiactivo del indio obtenido por irradiación neutrónica del cadmio que puede estar enriquecido con cadmio-111 o con cadmio-112. La solución debe contener no menos del 90,0 por ciento y no más del 110,0 por ciento de la actividad debida al indio-111 declarada en la fecha y hora indicada en el rótulo. La actividad debida al indio-114m no debe ser mayor de 0,2 por ciento de la actividad total calculada en relación a la fecha y hora de administración. No menos del 90,0 por ciento de la actividad debe corresponder al indio-111 en forma de complejo con 8-hidroxiquinoleína. La solución de cloruro de Indio (^{111}In) utilizada para la preparación de la Solución de Indio (^{111}In) Oxina debe cumplir con los requerimientos de *Cloruro de Indio (^{111}In) Solución*.

Caracteres generales - Solución límpida e incolora. El indio-111 posee un período de semidesintegración de 2,8 días y emite radiaciones gamma y rayos X.

CONSERVACIÓN

Proceder según se indica en *Almacenamiento en 1110. Preparaciones radiofarmacéuticas*.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe responder al ensayo de *Identificación A en Solución de Cloruro de Indio (^{111}In)*.

B - Transferir entre 5 y 10 mg de óxido de magnesio a un envase de vidrio de un diámetro inferior de aproximadamente 20 mm. Agregar 20 μl de la solución en ensayo. Debe presentar fluorescencia de color amarillo fuerte al observar la mezcla a la luz ultravioleta a 365 nm.

C - La distribución de la actividad entre las fases orgánica y acuosa, obtenidas en el ensayo de *Pureza radioquímica*, contribuye a la identificación de la preparación.

Determinación del pH <250>

Entre 6,0 y 7,5.

Pureza radioquímica.

Colocar aproximadamente 100 μl de la Solución de Indio (^{111}In) Oxina, diluir con 3 ml de solución

de 9 g por litro cloruro de sodio en una ampolla de decantación y extraer con 6 ml de *n*-octanol, agitando vigorosamente. Permitir que las fases se separen y luego drenar la fase acuosa inferior en un tubo de conteo con tapón. Drenar la fase orgánica residual en un tubo de conteo similar. Lavar la ampolla con 1 ml de *n*-octanol y drenar este enjuague en el tubo de conteo que contiene la fase orgánica. Lavar la ampolla con 5 ml de ácido clorhídrico 2 N y drenar este enjuague en un tercer tubo de conteo. Tapar y medir la actividad en cada uno de los tres tubos en un contador gamma apropiado o en una cámara de ionización calibrada para in-111. La pureza radioquímica se calcula por la fórmula siguiente:

$$(A/B)$$

en la cual *A* es la actividad medida en la fase orgánica y *B* es la suma de la actividad medida en las soluciones orgánica, acuosa y ácida. La actividad del complejo 8 hidroxiquinolina no debe ser menor de 90,0 por ciento de la actividad total y se encuentra en la fase orgánica.

Esterilidad

Debe cumplir con los requisitos en *Esterilidad en 1110. Preparaciones radiofarmacéuticas*

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 175/*V* UI/ ml de la inyección, en donde *V* es la dosis máxima recomendada en ml a la fecha de vencimiento.

RADIATIVIDAD

Medir la actividad de la Solución de Indio (^{111}In) Oxina empleando un activímetro debidamente calibrado. (ver *1110. Preparaciones radiofarmacéuticas*).

ROTULADO

Proceder según se indica en Rotulado en 1110. Preparaciones radiofarmacéuticas. En el rótulo debe figurar la siguiente leyenda: "No administrar directamente. Solución sólo apta para marcaciones radiactivas".

INDIO (^{111}In), PENTETATO DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Pentetato de Indio (^{111}In) es una solución estéril, apirógena e isotónica, apropiada para administración intratecal, que contiene indio-111 en forma de dietilentriaminopentaacetato de indio. El indio-111 es un isótopo radiactivo del indio obtenido por irradiación neutrónica del cadmio que puede estar enriquecido con cadmio-111 o con cadmio-112. La solución debe contener no menos del 90,0 por ciento y no más del 110,0 por ciento de la actividad debida al indio-111 declarada en la fecha y hora indicada en el rótulo. La actividad debida al indio-114m no debe ser mayor de 0,2 por ciento de la actividad total calculada en relación a la fecha y hora de administración. No menos del 95,0 por ciento de la actividad debe corresponder al indio-111 en forma de complejo con pentetato. La solución de cloruro de Indio (^{111}In) utilizada para la preparación de la Solución de Indio (^{111}In) Pentetato debe cumplir con los requerimientos de *Cloruro de Indio (^{111}In) Solución*.

Caracteres generales - Solución límpida e incolora. El indio-111 posee un período de semidesintegración de 2,8 días y emite radiaciones gamma y rayos X.

CONSERVACIÓN

Proceder según se indica en *Almacenamiento en 1110. Preparaciones radiofarmacéuticas*.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe responder al ensayo de *Identificación A* en *Solución de Cloruro de Indio (^{111}In)*.

B - Examinar el cromatograma obtenido en el ensayo de *Pureza radioquímica*. La distribución de la actividad contribuye a la identificación de la preparación.

Determinación del pH <250>

Entre 7,0 y 8,0.

Pureza química

ÁCIDO DIETILETRIAMINOPENTAACÉTICO NO COMPLEJADO

Mezclar en un microtubo de ensayo 100 μl de la Solución Inyectable de Pentetato de Indio (^{111}In) con 100 μl de una solución recientemente preparada de sal de sodio de azul de hidroxinaftol de 1 g por litro en hidróxido de sodio 1 M. Agregar 50 μl de una solución de cloruro de calcio de 0,15 g por litro.

La solución mantiene su coloración rosa-violeta o vira de azul a rosa violeta (0,4 mg por ml).

Pureza radioquímica.

Fase estacionaria - Emplear una placa de fibra de vidrio (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía activada a 110 °C durante 10 min. Emplear una placa tal que, durante el desarrollo, la *Fase móvil* migre entre 10 y 15 cm en aproximadamente 10 minutos.

Solución muestra - Emplear la Solución Inyectable de Pentetato de Indio (^{111}In).

Fase móvil - Solución de 9,0 g por litro de cloruro de sodio.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa entre 5 y 10 μl de la *Solución muestra*. Desarrollar inmediatamente el cromatograma hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente entre 10 y 15 cm de la longitud de la placa y dejar secar. Determinar la distribución de la actividad empleando un detector apropiado. El complejo pentetato de indio-111 presenta un valor de *Rf* entre 0,8 y 1,0. No menos del 95,0 por ciento de la actividad total del cromatograma corresponde al complejo pentetato de indio-111.

Esterilidad

Debe cumplir con los requisitos en *Esterilidad en 1110. Preparaciones radiofarmacéuticas*

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 175/V UI/ml de la inyección, en donde V es la dosis máxima recomendada en ml a la fecha de vencimiento.

RADIOACTIVIDAD

Medir la actividad de la Solución Inyectable de Pentetato de Indio (^{111}In) empleando un activímetro debidamente calibrado (ver 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*).

ROTULADO

Proceder según se indica en *Rotulado en 1110. Preparaciones radiofarmacéuticas*.

***m*-IODOBENCILGUANIDINA (¹³¹I)**

SOLUCIÓN INYECTABLE

Sinonimia - Iobenguano(¹³¹I).

Denominación usual - MIBG¹³¹I.

Definición - La Solución Inyectable de *m*-iodobencilguanidina (¹³¹I) para uso diagnóstico o terapéutico es una solución de 1-[3-(¹³¹I) iodobencil]guanidina o de sus sales. Puede contener una solución reguladora apropiada, un catalizador de marcación adecuado, como cobre iónico y un estabilizante de marcación apropiado, como ácido ascórbico. Puede contener conservantes antimicrobianos. El iodo-131 es un isótopo radiactivo del yodo, obtenido mediante irradiación neutrónica del telurio o por separación a partir de los productos de fisión del uranio-235. La Solución Inyectable de *m*-Iodobencilguanidina debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la actividad debida al iodo-131 declarada con fecha y hora indicadas en el rótulo. El porcentaje de iodo-131 en forma de iobenguano no debe ser menor del 94 por ciento para uso diagnóstico y del 92 por ciento para uso terapéutico. La actividad específica de iodo-131 por gramo de iobenguano base no debe ser menor de 20 GBq (540 mCi) para uso diagnóstico y de 400 GBq (10,8 Ci) para uso terapéutico. Debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Solución límpida, incolora o ligeramente amarilla. El iodo-131 tiene un período de semidesintegración de 8,023 días. Decae por emisión beta (β^-) de energía máxima principal de 0,606 MeV y emite radiaciones gamma.

Sustancia de referencia - Sulfato de Iobenguano SR-FA.

CONSERVACIÓN

Proceder según se indica en *Almacenamiento* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*. Mantener el producto entre -20 y -40 °C hasta el momento de uso.

ENSAYOS

Identificación

A - Registrar el espectro de emisión de las radiaciones gamma y rayos X empleando un sistema de espectrometría gamma de alta resolución debidamente calibrado (ver 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*). El espectro corresponde al iodo-131, según datos de la siguiente tabla:

Radio-nucleido	T _{1/2}	E _γ (keV)	Intensidad % ⁽¹⁾
I-131	8,023 d	80,2	2,61
		284,3	6,06
		364,5	81,2
		637,0	7,26
		722,9	1,80
		otros	< 1 c/u

⁽¹⁾ N° de fotones por cada 100 desintegraciones.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Pureza radioquímica* ya que la distribución de la actividad contribuye a la identificación de la preparación.

Determinación del pH <250>

Entre 3,5 y 8,0.

Actividad específica

La actividad específica se calcula a partir de los resultados obtenidos en *Pureza radioquímica*. Determinar el contenido en sulfato de iobenguano a partir de las respuestas de los picos correspondientes al iobenguano en los cromatogramas obtenidos con la *Solución muestra* y la *Solución estándar B*. Calcular la concentración en iobenguano base multiplicando el resultado obtenido en *Radiactividad* por 0,85.

Pureza radionucleídica

Obtener y registrar el espectro de emisión de radiaciones gamma empleando un sistema de espectrometría gamma de alta resolución debidamente calibrado. Determinar las cantidades relativas de iodo-131, iodo-133, iodo-135 y de otras impurezas radionucleídicas presentes, cuyos datos nucleares más importantes se indican en la siguiente tabla:

Radio-nucleido	T _{1/2}	E _γ (keV)	Intensidad % ⁽¹⁾
I-133	20,8 h	529,9	87,0
		875,3	4,51
		Otros	< 4 c/u
I-135	6,57 h	526,6 ⁽²⁾	13,3
		546,6	7,15
		1038,8	7,98
		1131,5	22,6
		1260,4	28,7
		1791,2	7,72
Otros	< 7 c/u		

⁽¹⁾ N° de fotones por cada 100 desintegraciones.

⁽²⁾ Del Xe-135m, en equilibrio.

La actividad debida al iodo-131 no debe ser menor al 99,9 % de la radiactividad total y no más del 0,1 % de la actividad total es debida al iodo-133, iodo-135 y otras impurezas radionucleídicas.

Pureza radioquímica

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 254 nm, un detector de radiactividad apropiado y una columna de acero inoxidable de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto.

Fase móvil - Metanol, amoníaco diluido y solución de nitrato de amonio de 80 g por litro (27:2:1). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

Solución muestra - Emplear la Solución Inyectable de *m*-Iodobencilguanidina en ensayo.

Solución estándar A - Disolver 100 mg de yoduro de sodio en *Fase móvil* y diluir a 100 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 20,0 mg de Sulfato de Iobenguano SR-FA en 50 ml de *Fase móvil* y diluir a 100 ml con el mismo solvente.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 10 µl) de las *Soluciones estándar A y B* y la *Solución muestra*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos. La actividad total encontrada en el pico correspondiente a la *m*-iodobencilguanidina no debe ser menor de 94 % para uso diagnóstico o de 92 % para uso terapéutico. La actividad correspondiente al yoduro no debe representar más de 5 % de la actividad total y la actividad correspondiente a los otros picos no debe ser mayor al 1 % de la actividad total.

Esterilidad

Debe cumplir con los requisitos en *Esterilidad* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 175/V UI/ml de la inyección, en donde *V* es la dosis máxima recomendada por ml a la fecha de vencimiento.

RADIOACTIVIDAD

Medir la actividad de la Solución Inyectable de *m*-iodobencilguanidina empleando un activímetro debidamente calibrado (ver 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*).

ROTULADO

Proceder según se indica en *Rotulado* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*.

SODIO, IODURO (¹²³I) DE SOLUCIÓN

Definición - La Solución de Ioduro (¹²³I) de Sodio es una solución destinada a la administración por vía oral o inyectable, que contiene iodo-123 en forma de ioduro de sodio. Contiene tiosulfato de sodio u otro reductor apropiado y puede agregarse un regulador de pH apropiado a la preparación. El iodo-123 es un isótopo radiactivo del iodo obtenido por irradiación neutrónica del telurio enriquecido en telurio-124 o de xenón enriquecido en xenón-124 o por irradiación con deuterones de telurio enriquecido en telurio-122, de forma tal que resulte libre de portador. La Solución de Ioduro (¹²³I) de Sodio debe contener no menos del 90,0 por ciento y no más del 110,0 por ciento de la actividad debida al iodo-123 declarada con fecha y hora indicadas en rótulo. No menos del 95 por ciento de la actividad debe corresponder al iodo-123 en forma de ioduro. La actividad específica no debe ser inferior a 185 GBq (5 Ci) de iodo-123 por miligramo de iodo. No más del 0,35 por ciento de la actividad total se debe a otros radionucleidos diferentes del iodo-123. Debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Solución límpida e incolora. El iodo-123 decae por captura electrónica orbital, emite radiaciones gamma y rayos X. Tiene un período de semidesintegración de 13,2 h.

CONSERVACIÓN

Proceder según se indica en *Almacenamiento en 1110. Preparaciones radiofarmacéuticas*.

ENSAYOS

Identificación

A - Obtener y registrar el espectro de las radiaciones gamma y rayos X de la Solución de Ioduro (¹²³I) de Sodio empleando un sistema de espectrometría gamma de alta resolución debidamente calibrado (ver *1110. Preparaciones radiofarmacéuticas*). El espectro corresponde al iodo-123, según datos de la siguiente tabla, considerando la eventual presencia de iodo-125, telurio-121 y otras impurezas radionucleídicas:

Radio-nucleido	T _{1/2}	E _γ (keV)	Intensidad % ⁽¹⁾
I-123	13,223 h	γ 159,0	83,25
		X 27,2	24,7
		X 27,4	46,0
		X 31,0	13,2
		X 31,8	2,9

⁽¹⁾ N° de fotones por cada 100 desintegraciones.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Pureza radioquímica* ya que la distribución de la actividad contribuye a la identificación de la preparación.

Determinación del pH <250>

Entre 7,0 y 10,0.

Pureza radionucleídica.

Obtener y registrar el espectro de radiación gamma empleando un sistema de espectrometría gamma de alta resolución debidamente calibrado. Determinar las cantidades relativas de iodo-125, telurio-121 y otras impurezas radionucleídicas presentes. No se debe detectar ningún radionucleído con un período de semidesintegración mayor que la del iodo-125. Para la determinación del iodo-125, iodo-124, telurio-121 y otras impurezas radionucleídicas, retener la Solución de Ioduro (¹²³I) de Sodio a examinar durante un tiempo suficiente para dejar disminuir la actividad del iodo-123 hasta un nivel que permita la detección de impurezas radionucleídicas (6 a 10 días). Registrar el espectro de las radiaciones gamma y rayos X del material decaído empleando un instrumento apropiado, de acuerdo a los datos de la siguiente tabla:

Radio-nucleido	T _{1/2}	E _γ (keV)	Intens. % ⁽¹⁾
I-125	59,41 d	γ 35,9	6,67
		X 27,2	39,7
		X 27,4	74,0
		X 31,0	21,2
		X 31,8	4,6
I-124	4,176 d	511,0	45,6
		602,7	62,9
		722,8	10,4
		1691,0	10,9
		otros	< 2 c/u
Te-121	19,16 d	γ 212,2	81,4
		X 27,4	28,8

⁽¹⁾ N° de fotones por cada 100 desintegraciones.

No más del 0,35 % de la actividad total se debe a otros radionucleídos distintos del iodo-123. La Solución de Ioduro (¹²³I) de Sodio puede ser autorizada para su uso antes del finalizar el ensayo.

Pureza radioquímica

Fase estacionaria - Emplear una hoja de papel de 250 mm para cromatografía ascendente en papel (ver *100. Cromatografía*).

Fase móvil - Metanol y agua (30:10).

Diluyente - Preparar una solución de ioduro de potasio de 1 g por litro, iodato de potasio de 2 g por litro y bicarbonato de sodio de 10 g por litro.

Solución muestra - Diluir la Solución de Ioduro (¹²³I) de Sodio en ensayo con agua para obtener en

10 µl una actividad apropiada. Agregar un volumen igual de *Diluyente* y mezclar.

Solución estándar A - Disolver 0,1 g de ioduro de potasio en agua y diluir hasta 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 0,2 g de iodato de potasio en agua y diluir hasta 10 ml con el mismo solvente.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la hoja 20 µl de la *Solución muestra*, 10 µl de la *Solución estándar A* y 10 µl de la *Solución estándar B*. Desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 20 cm de la longitud de la hoja y dejar secar al aire. Determinar las posiciones de ioduro de potasio e iodato de potasio inactivos, aplicando papeles de filtro impregnados con ácido acético e iodato de potasio en el primer caso y con ácido acético e ioduro de potasio en el segundo. Determinar la distribución de la actividad mediante un detector apropiado. No menos del 95 % de la actividad total en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe a la mancha correspondiente al ioduro y el valor de R_f no debe diferir en más de un 5 % del valor de R_f de la mancha correspondiente al ioduro inactivo en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar A*.

Esterilidad

Debe cumplir con los requisitos en *Esterilidad* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de $175/V$ UI/ml de la inyección, en donde V es la dosis máxima recomendada en ml a la fecha de vencimiento.

RADIOACTIVIDAD

Medir la actividad de la Solución de Ioduro (^{123}I) de Sodio con un activímetro debidamente calibrado (ver 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*).

ROTULADO

Proceder según se indica en *Rotulado* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*.

SODIO, IODURO (¹³¹I) DE SOLUCIÓN

Definición - La Solución de Ioduro (¹³¹I) de Sodio es una solución destinada a la administración por vía oral o inyectable, que contiene iodo-131 en forma de ioduro de sodio. Contiene también tiosulfato de sodio u otro reductor apropiado y puede contener un regulador de pH apropiado. El iodo-131 es un isótopo radiactivo del iodo obtenido por irradiación neutrónica del telurio o por separación a partir de los productos de fisión del uranio-235. La Solución de Ioduro (¹³¹I) de Sodio debe contener no menos del 90,0 por ciento y no más del 110,0 por ciento de la actividad debida al iodo-131 declarada con fecha y hora indicadas en el rótulo. No más del 0,1 por ciento de la actividad total debe corresponder a radionucleidos distintos del iodo-131. No menos del 95 por ciento de la actividad debe corresponder al iodo-131 en forma de ioduro. La actividad específica no debe ser menor a 185 GBq (5Ci) de iodo-131 por miligramo de iodo, en la fecha y hora indicadas en el rótulo. Debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Solución límpida e incolora. El iodo-131 tiene un período de semidesintegración de 8,023 días. Decae por emisión beta (β^-) de energía máxima principal de 0,606 MeV y emite radiaciones gamma.

CONSERVACIÓN

Proceder según se indica en *Almacenamiento en 1110. Preparaciones radiofarmacéuticas.*

ENSAYOS

Identificación

A - Registrar el espectro de emisión de las radiaciones gamma y rayos X de la Solución de Ioduro (¹³¹I) de Sodio empleando un sistema de espectrometría gamma de alta resolución debidamente calibrado (ver 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*). El espectro corresponde al iodo-131 según datos de la siguiente tabla:

Radio-nucleido	T _{1/2}	E γ (keV)	Intensidad % ⁽¹⁾
I-131	8,023 d	80,2	2,61
		284,3	6,06
		364,5	81,2
		637,0	7,26
		722,9	1,80
	otros		< 1 c/u

⁽¹⁾ N° de fotones por cada 100 desintegraciones.

B - Examinar los cromatogramas obtenidos en *Pureza radioquímica* ya que la distribución de la actividad contribuye a la identificación de la preparación.

Determinación del pH <250>

Entre 7,0 y 10,0.

Pureza radionucleídica

Obtener y registrar el espectro de emisión de radiaciones gamma empleando un sistema de espectrometría gamma de alta resolución debidamente calibrado. Determinar las cantidades relativas de iodo-131, iodo-133, iodo-135 y de otras impurezas radionucleídicas presentes, cuyos datos nucleares más importantes se indican en la siguiente tabla:

Radio-nucleido	T _{1/2}	E γ (keV)	Intensidad % ⁽¹⁾
I-133	20,8 h	529,9	87,0
		875,3	4,51
		otros	< 4 c/u
I-135	6,57 h	526,6 ⁽²⁾	13,3
		546,6	7,15
		1038,8	7,98
		1131,5	22,6
		1260,4	28,7
		1791,2	7,72
		otros	< 7 c/u

⁽¹⁾ N° de fotones por cada 100 desintegraciones.

⁽²⁾ Del Xe-135m, en equilibrio.

La actividad debida al iodo-131 no debe ser menor al 99,9 % de la actividad total y no más del 0,1 por ciento de la actividad total es debida al iodo-133, al iodo-135 y a las restantes impurezas radionucleídicas.

Pureza radioquímica.

Fase estacionaria - Emplear una hoja de papel de 250 mm para cromatografía ascendente en papel (ver 100. *Cromatografía*).

Fase móvil - Metanol y agua (30:10).

Diluyente - Preparar una solución de ioduro de potasio de 1 g por litro, iodato de potasio de 2 g por litro y bicarbonato de sodio de 10 g por litro.

Solución muestra - Diluir la Solución de Ioduro (¹³¹I) de Sodio en ensayo con agua para obtener en 10 μ l una actividad apropiada. Agregar un volumen igual de *Diluyente* y mezclar.

Solución estándar A - Disolver 0,1 g de ioduro de potasio en agua y diluir hasta 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 0,2 g de iodato de potasio en agua y diluir hasta 10 ml con el mismo solvente.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la hoja 20 μ l de la *Solución muestra*, 10 μ l de la *Solución estándar A* y 10 μ l de la *Solución estándar B*.

Desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 20 cm de la longitud de la hoja y dejar secar al aire. Determinar las posiciones de yoduro de potasio e iodato de potasio inactivos, aplicando papeles de filtro impregnados con ácido acético e iodato de potasio en el primer caso y con ácido acético e yoduro de potasio en el segundo. Determinar la distribución de la actividad mediante un detector apropiado. No menos del 95 % de la actividad total en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución muestra* se debe a la mancha correspondiente al yoduro y el valor de R_f no debe diferir en más de un 5 % del valor de R_f de la mancha correspondiente al yoduro inactivo en el cromatograma obtenido a partir de la *Solución estándar A*.

Esterilidad

La solución inyectable de Yoduro (^{131}I) debe cumplir con los requisitos en *Esterilidad* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de $175/V$ UI/ml de la inyección, en donde V es la dosis máxima recomendada en ml a la fecha de vencimiento.

RADIOACTIVIDAD

Medir la actividad de la Solución de Yoduro (^{131}I) de Sodio con un activímetro debidamente calibrado (ver 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*).

ROTULADO

Proceder según se indica en Rotulado en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*.

SODIO, PERTECNECIATO (^{99m}Tc) DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Sinonimia - Pertecneciato ácido ($\text{H}^{99m}\text{TcO}_4$), sal sódica. Pertecneciato de sodio ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$).

Definición - La Solución Inyectable de Pertecneciato (^{99m}Tc) de Sodio obtenido es una solución estéril que contiene tecnecio-99m en forma de ión pertecneciato, isotónica preparada por adición de cloruro de sodio. El tecnecio-99m es un radionucleido que se forma por desintegración del molibdeno-99. El molibdeno-99 es un isótopo radiactivo de molibdeno obtenido a partir de los productos de fisión del uranio o a partir de la irradiación neutrónica de molibdeno enriquecido en molibdeno-98. La Solución Inyectable de Pertecneciato (^{99m}Tc) de Sodio debe contener no menos del 90,0 por ciento y no más del 110,0 por ciento de la actividad debida al tecnecio-99m declarada con fecha y hora indicada en el rótulo. No menos del 95 por ciento de la actividad debe corresponder al tecnecio-99m que se encuentra en forma de ión pertecneciato. La actividad debida a radionucleidos distintos del tecnecio-99m y al tecnecio-99 que resulta de la desintegración del tecnecio-99m no debe ser mayor que la actividad indicada a continuación y se expresa como porcentaje de la actividad total en la fecha y hora de administración.

Molibdeno-99	0,1 por ciento
Iodo-131	$5 \cdot 10^{-3}$ por ciento
Rutenio-103	$5 \cdot 10^{-3}$ por ciento
Estroncio-89	$6 \cdot 10^{-5}$ por ciento
Estroncio-90	$6 \cdot 10^{-6}$ por ciento
Impurezas que emiten radiación alfa	$1 \cdot 10^{-7}$ por ciento
Otras impurezas que emiten radiación gamma	0,01 por ciento

La Solución Inyectable de Pertecneciato (^{99m}Tc) de Sodio se obtiene por separación química a partir de una preparación estéril de molibdeno-99, en condiciones asépticas. Debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Solución límpida e incolora. El tecnecio-99m tiene un período de semi-desintegración de 6,007 horas y emite radiación gamma.

CONSERVACIÓN

Proceder según se indica en *Almacenamiento* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*.

ENSAYOS

Identificación

El espectro gamma obtenido con un sistema de espectrometría gamma de alta resolución debidamente calibrado (ver 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*) debe corresponder al del tecnecio 99-m en cuanto a sus energías e intensidades. El fotón gamma principal del tecnecio-99m tiene una energía de 140,5 keV.

Determinación del pH <250>

Entre 4,0 y 8,0.

Pureza química

Solución muestra - Diluir 1 ml de la Solución Inyectable de Pertecneciato (^{99m}Tc) de Sodio a 2,5 ml con agua.

Determinación de Aluminio - [NOTA: determinar cuando en la obtención de la Solución Inyectable de Pertecneciato (^{99m}Tc) de Sodio, la separación se efectúe mediante columna de alúmina]. En un tubo de ensayo de 12 mm de diámetro interno, mezclar 1 ml de solución reguladora de acetato pH 4,6 y 2 ml de la *Solución muestra*. Agregar 50 μl de una solución de cromazurol de 10 g por litro. Luego de 3 minutos el color de la solución no debe ser más intenso que el de una solución de referencia preparada de igual modo empleando 2 ml de solución estándar de aluminio (2 ppm Al) (5 ppm).

Pureza radionucleídica

Ensayo preliminar - Obtener una estimación aproximada, antes de usar la Solución Inyectable de Pertecneciato (^{99m}Tc) de Sodio, empleando un volumen de solución de tecnecio-99m que contenga aproximadamente 370 MBq (10 mCi) y determinar su actividad con un activímetro debidamente calibrado (ver 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*) empleando la escala de tecnecio-99m. Registrar la actividad leída. Medir la actividad de molibdeno-99 en la misma muestra cambiando en el activímetro a la escala de molibdeno-99 y colocando la muestra dentro del blindaje de plomo de 6 mm de espesor requerido para dicha determinación. La actividad de molibdeno-99 no debe mayor al 0,1 % de la actividad de tecnecio-99m obtenida anteriormente.

Ensayo definitivo de pureza diferida - Guardar una muestra de la Solución Inyectable de Pertecneciato (^{99m}Tc) de Sodio a examinar durante el tiempo suficiente para que la radiactividad del tecnecio-99m decrezca a un nivel suficientemente bajo que permita la detección de las impurezas radionucleídicas de la muestra a examinar (3 a 5 días). Todas las medidas de actividad deberán referirse a la fecha y hora de la administración.

Obtener el espectro de radiación gamma de la muestra empleando un sistema de espectrometría gamma de alta resolución. La identificación y cuantificación se llevará a cabo con datos según la siguiente tabla:

Radio-nucleido	T _{1/2}	E _γ (keV)	Intensidad % ⁽¹⁾
Mo-99	65,95 h	181,1	6,91
		366,4	1,19
		739,5	12,1
		777,9	4,28
		otros	< 1 c/u
I-131	8,023 d	80,2	2,61
		284,3	6,06
		364,5	81,2
		637,0	7,26
		722,9	1,80
Ru-103	39,26 d	497,1	91,0
		610,3	5,76
		otros	< 1 c/u

⁽¹⁾ N° de fotones por cada 100 desintegraciones.

Estroncio-89 - Determinar la presencia de estroncio-89 en la Solución Inyectable de Pertecneciato (^{99m}Tc) de Sodio a examinar con un instrumento apropiado para la detección de radiaciones beta (ver 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*), por comparación con una solución estándar de estroncio-89. Generalmente es necesario llevar a cabo la separación química del estroncio de modo que el estándar y la muestra puedan ser comparados en el mismo estado físico y químico. El estroncio-89 se desintegra con emisión beta de energía máxima de 1,495 MeV y tiene un período de 50,57 días. No más de 6 . 10⁻⁵ % de la actividad total puede ser debida al estroncio-89.

Estroncio-90 / Itrio-90 - Determinar la presencia de estroncio-90 en la muestra a examinar con un instrumento apropiado para la detección de radiaciones beta. Para distinguir estroncio-90 del estroncio-89, se compara la actividad del itrio-90, nucleido de filiación del estroncio-90, con un estándar de itrio-90 después de la separación química del itrio. Si fuese necesario una separación química previa del estroncio las condiciones del equilibrio radiactivo deben estar aseguradas. El estándar de itrio-90 y la muestra se deben comparar con el mismo estado físico y químico. Estroncio-90 e itrio-90 se deben desintegrar con emisiones de radiación beta de energía máxima de 0,546 MeV y 2,280 MeV, respectivamente y períodos de 28,90 años y 64,05 horas, respectivamente. No más de 6 . 10⁻⁶ % de la actividad total puede ser debida al estroncio-90.

Impurezas que emiten radiaciones alfa - Medir la radiactividad alfa de la Solución Inyectable de

Pertecneciato (^{99m}Tc) de Sodio a examinar para detectar cualquier impureza de los radionucleidos que emita radiación alfa que deberán, si es posible, ser identificadas y cuantificadas. El total de radiactividad alfa debida a estas impurezas no debe ser mayor de 1 . 10⁻⁷ % de la actividad total.

Pureza radioquímica

Fase estacionaria - Emplear una hoja de papel para cromatografía ascendente en papel (ver 100. *Cromatografía*).

Fase móvil - Metanol y agua (85:15).

Solución muestra - Diluir la Solución Inyectable de Pertecneciato (^{99m}Tc) de Sodio en ensayo con agua para obtener una concentración radiactiva apropiada.

Procedimiento - Aplicar sobre la hoja 5 μl de la Solución muestra. Desarrollar el cromatograma y dejar secar el papel. Determinar la distribución de la actividad con un detector apropiado. No menos del 95 % de la actividad total debe presentar un valor de R_f entre 0,9 y 1,0, correspondiente al ión pertecneciato.

Esterilidad

Debe cumplir con los requisitos en *Esterilidad* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 175/V UI/ml de la inyección, en donde V es la dosis máxima recomendada por ml a la fecha de vencimiento.

RADIATIVIDAD

Medir la actividad de la Solución Inyectable de Pertecneciato (^{99m}Tc) de Sodio empleando un activímetro debidamente calibrado. (ver 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*).

ROTULADO

Proceder según se indica en *Rotulado* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*.

TALIO (²⁰¹Tl), CLORURO DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Cloruro de Talio (²⁰¹Tl) es una solución estéril de talio-201 en forma de cloruro de talio (I), isotónica preparada por adición de cloruro de sodio. Puede contener una cantidad apropiada de un conservante antimicrobiano. El talio-201 es un isótopo radiactivo de talio que se obtiene a partir de un proceso de desintegración del plomo-201. El plomo-201 es un isótopo radiactivo del plomo que puede ser obtenido por irradiación del talio enriquecido en talio-203, con protones de energía apropiada. La Solución Inyectable de Cloruro de Talio (²⁰¹Tl) debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de un 110,0 por ciento de la actividad debida al talio-201 declarada en la fecha y hora que figura en el rótulo. No menos del 97 por ciento de la actividad total debe corresponder al talio-201 y no menos del 95 por ciento en forma de ión talioso. No más del 2,0 por ciento de la actividad total debe corresponder al talio-202. La actividad específica no debe ser menor de 3,7 GBq (100 mCi), por miligramo de talio. Debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Solución límpida e incolora. El talio-201 tiene un período de semidesintegración de 3,042 días y emite radiaciones gamma y rayos X.

CONSERVACIÓN

Proceder según se indica en *Almacenamiento en 1110. Preparaciones radiofarmacéuticas*.

ENSAYOS

Identificación

A - Obtener y registrar el espectro de radiaciones gamma y rayos X empleando un sistema de espectrometría gamma de alta resolución debidamente calibrado (ver *1110. Preparaciones radiofarmacéuticas*). La identificación y cuantificación se llevará a cabo con datos de la siguiente tabla:

Radio-nucleido	T _{1/2}	E _γ (keV)	Intensidad % ⁽¹⁾
Tl-201	3,042 d	γ 135,3	2,60
		γ 167,5	10,0
		X 68,9	27,3
		X 70,8	46,4
		X 80,2	15,7
		X 82,5	4,6

⁽¹⁾ N° de fotones por cada 100 desintegraciones.

B - Examinar el electroforegrama obtenido en *Pureza radioquímica* ya que la distribución de la actividad contribuye a la identificación de la preparación.

Determinación del pH <250>

Entre 4,0 y 7,5.

Talio

Mezclar y agitar 0,5 ml de la Solución Inyectable de Cloruro de Talio (²⁰¹Tl) en ensayo con 0,5 ml de ácido clorhídrico de 220 g por litro y 50 μl de agua de bromo. Agregar 0,1 ml de solución de ácido sulfosalicílico de 30 g por litro, luego de producirse la decoloración agregar 1,0 ml de una solución de rodamina B de 1 g por litro, agitar, agregar 4 ml de tolueno y agitar durante 60 segundos. Separar la fase de tolueno, cuya coloración no es más intensa que la de la capa de tolueno de una solución de referencia preparada simultáneamente del mismo modo, empleando 0,5 ml de *Solución estándar de talio (10 ppm Tl)*.

Pureza radionucleídica

Obtener y registrar el espectro de radiaciones gamma y rayos X empleando un sistema de espectrometría gamma de alta resolución debidamente calibrado. El espectro corresponde al talio-201. Determinar las cantidades relativas de talio-200, talio-202, plomo-201 y plomo-203 y de otras impurezas radionucleídicas presentes, cuyos datos nucleares más importantes se indican en la siguiente tabla:

Radio-nucleido	T _{1/2}	E _γ (keV)	Intensidad % ⁽¹⁾
Tl-200	26,1 h	γ 367,9	87,2
		γ 579,3	13,8
		γ 828,3	10,8
		γ 1205,7	29,9
		otros	< 5 c/u
		X 68,9	22,9
		X 70,8	38,6
		X 80,2	13,6
Tl-202	12,23 d	X 82,5	3,2
		γ 439,6	91,4
		X 68,9	22,4
		X 70,8	37,7
		X 80,2	8,72
		X 82,5	3,15
Pb-201	9,33 h	X 82,5	3,15
		γ 135,3	2,60
		γ 167,5	10,0
		X 70,8	25,2
		X 72,9	42,3
		X 82,5	14,9
		X 84,9	3,6
		γ 279,2	80,9
Pb-203	51,92 h	γ 279,2	80,9

γ 401,3	3,35
X 70,8	44,2
X 72,9	42,3
X 82,5	15,5
X 84,9	3,73

⁽¹⁾ N° de fotones por cada 100 desintegraciones.

La actividad debida al talio-202 no debe ser mayor al 2,0 % de la actividad total, no más del 0,3 % al plomo-203 y no menos de 97,0 % al talio-201.

Pureza radioquímica.

Solución muestra - Mezclar volúmenes iguales de la Solución Inyectable de Cloruro de Talio (²⁰¹Tl) a examinar y de la solución electrolítica.

Procedimiento - Examinar por electroforesis de zona (ver *Electroforesis de zona* en 300. *Electroforesis*) empleando como soporte tiras de acetato de celulosa de 150 mm × 25 mm y una solución electrolítica de edetato de sodio de 18,6 g por litro. Agitar constantemente las tiras en la solución electrolítica entre 45 y 60 minutos, retirarlas mediante pinzas, procurando tocar solamente los bordes externos de las tiras y colocarlas entre dos láminas de papel absorbente para eliminar el exceso de solución. En el centro de la tira, previamente señalado con un punto, aplicar 5 μ l de la *Solución muestra*. Aplicar un campo eléctrico de 17 V por centímetro durante 30 minutos. Dejar secar la tira al aire y determinar la distribución de la actividad utilizando un detector apropiado. No menos del 95,0 % de la actividad debe migrar hacia el cátodo.

Esterilidad

Debe cumplir con los requisitos en *Esterilidad* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 175/V UI/ ml de la inyección, en donde V es la dosis máxima recomendada en ml a la fecha de vencimiento.

RADIATIVIDAD

Medir la actividad de Solución Inyectable de Cloruro de Talio (²⁰¹Tl) con un activímetro debidamente calibrado (ver 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*).

ROTULADO

Proceder según se indica en *Rotulado* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*.

TECNECIO () ALBÚMINA HUMANA SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Tecnecio () Albúmina Humana es una solución estéril, apirógena de *Solución de Albúmina Humana* marcada con tecnecio-99m. Contiene sustancias reductoras, como sales de estaño (II) en una concentración no mayor de 1 mg de estaño por ml. Puede contener una solución reguladora apropiada y un conservante antimicrobiano. Debe contener no menos del 90,0 por ciento y no más del 110,0 por ciento de la actividad debida al tecnecio-99m declarada con fecha y hora indicada en el rótulo. Debe contener no menos del 90,0 por ciento y no más del 110,0 por ciento de la cantidad de albúmina declarada en el rótulo. No menos del 80,0 por ciento de la actividad se encuentra asociada a las fracciones de albúmina II a V. No más del 5,0 por ciento de la actividad debida al tecnecio-99m corresponde a pertecneciato libre, según se indica en *Pureza radioquímica*.

Se prepara a partir de la *Solución Inyectable de Pertecneciato () de Sodio* empleando componentes estériles y apirógenos.

Caracteres generales - Solución límpida e incolora o amarilla pálida.

CONSERVACIÓN

Proceder según se indica en *Almacenamiento en 1110. Preparaciones radiofarmacéuticas*.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe responder al *Ensayo de Identificación en Solución Inyectable de Pertecneciato () de Sodio*.

B - Debe responder al *Ensayo de Identificación en Solución de Albúmina Humana*.

Determinación del pH <250>

Entre 2,0 y 6,5.

Pureza química

ALBÚMINA

Solución estándar - Diluir una solución de albúmina humana con una solución de cloruro de sodio de 9 g por litro para obtener una concentración de 5 mg de albúmina por ml.

Solución muestra - Emplear la Solución Inyectable de Tecnecio (99mTc) Albúmina Humana.

Procedimiento - Agregar 4,0 ml de reactivo de Biuret a 1,0 ml de la *Solución muestra* y a 1,0 ml de la *Solución estándar* y mezclar. Luego de 30 minutos exactos, medir las absorbancias (ver

470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) a 540 nm, empleando una solución de cloruro de sodio de 9 g por litro tratada de la misma manera como blanco. Calcular el contenido de albúmina en mg por ml en la Solución Inyectable de Tecnecio (99mTc) Albúmina Humana.

Estaño

No más de 1 mg por ml.

Pureza radioquímica

A - Fase estacionaria - Emplear una placa de fibra de vidrio (ver *100. Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía. Calentar la placa a 110 °C durante 10 minutos. Emplear una placa tal que durante el desarrollo la *Fase móvil* migre entre 10 y 15 cm en 10 minutos.

Solución muestra - Emplear la Solución Inyectable de Tecnecio (99mTc) Albúmina Humana.

Fase móvil - Metil etil cetona.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa entre 5 y 10 µl de la *Solución muestra* y dejar secar las aplicaciones. Desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido entre 10 y 15 cm de la longitud de la placa y dejar secar. Determinar la distribución de la actividad empleando un detector apropiado. El complejo de tecnecio-99m albúmina humana permanece en el frente del solvente. No más del 5,0 por ciento de la actividad del tecnecio-99m corresponde al tecnecio en la forma de ión pertecneciato.

B - Examinar por cromatografía de exclusión (ver *100. Cromatografía*).

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de exclusión con un inyector de bucle, un detector de actividad ajustado para tecnecio-99m y una columna de acero inoxidable de 60 cm × 7,5 mm, rellena con gel de sílice para cromatografía de exclusión. El caudal debe ser aproximadamente 0,6 ml por minuto.

Fase móvil concentrada - Disolver 1,124 g de fosfato monobásico de potasio, 4,210 g de fosfato dibásico de sodio, 1,17 g de cloruro de sodio y 0,10 g de azida de sodio en 100 ml de agua.

Fase móvil - *Fase móvil concentrada* y agua (50:50)

Solución muestra - Mezclar 0,25 ml de la Solución Inyectable de Tecnecio (99mTc) Albúmina Humana con 0,25 ml de *Fase móvil (concentrada)*. [NOTA: emplear inmediatamente después de la dilución]

Procedimiento - Inyectar 200 µl de la *Solución muestra*. Cromatografiar durante al menos 10 minutos después de alcanzar la línea base. Los tiempos de retención son los siguientes:

Compuesto	Tiempo de retención (minutos)
Compuestos de alta masa molecular	19-20
Albúmina poli III	23-24
Albúmina poli II	25-27
Albúmina poli I	28-29
Albúmina sérica humana	32-33
Estaño coloidal	40-47
Pertecneciato	48

No menos del 80 por ciento de la actividad aplicada a la columna está asociado a las fracciones II a V de la albúmina.

Biodistribución

Inyectar a tres ratas, con peso entre 150 y 250 g, en una vena adecuada, como puede ser la vena caudal o safena, un volumen de la Solución Inyectable de Tecnecio (^{99m}Tc) Albúmina Humana no mayor de 0,5 ml y que contenga no más de 1,0 mg de albúmina. Medir la actividad en la jeringa antes y después de la inyección. Sacrificar los animales 30 minutos luego de la inyección. Obtener muestras de sangre y pesar. Extirpar el hígado y la cola, esto último si se ha empleado la vena caudal para la inyección.

Medir la actividad en hígado, en la muestra de sangre, en la cola (si corresponde) o en el sitio de inyección, mediante un instrumento apropiado según se indica en *Biodistribución* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*. Determinar el porcentaje de actividad en el hígado, por la fórmula siguiente:

$$100 (A/B)$$

en la cual *A* es la actividad en el órgano en cuestión, *B* es la actividad total, que es equivalente a la diferencia entre las dos medidas realizadas con la jeringa menos la actividad en la cola o en el sitio de inyección.

Calcular la actividad por unidad de masa en la sangre y corregirla multiplicando por el factor $m/200$, en la cual *m* es el peso corporal de la rata, expresada en gramos.

En no menos de dos de las tres ratas, la actividad en el hígado no debe ser mayor de 15,0 por ciento, y la actividad en la sangre, luego de efectuada la corrección, no debe ser menor de 3,5 por ciento.

Esterilidad

Debe cumplir con los requisitos en *Esterilidad* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de $175/V$ UI/ml de la inyección, en donde *V* es la dosis máxima recomendada en ml a la fecha de vencimiento.

RADIATIVIDAD

Medir la actividad de la Solución Inyectable de Pertecneciato () de Sodio empleando un activímetro debidamente calibrado. (ver 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*).

ROTULADO

Proceder según se indica en *Rotulado* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*.

TECNECIO () AZUFRE COLOIDAL SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Tecnecio () Azufre Coloidal es una dispersión coloidal estéril y apirógena de azufre, en la cual las micelas están marcadas con tecnecio-99m. Puede estar estabilizada con un agente protector de los coloides a base de gelatina. El pH de la solución se puede ajustar mediante la adición de una solución reguladora de acetato, citrato o fosfato. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la actividad debida al tecnecio-99, indicada con fecha y hora en el rótulo. No menos del 92 por ciento de la actividad corresponde al tecnecio-99m que se encuentra en forma coloidal. La solución puede contener una cantidad variable de azufre coloidal según el método de fabricación.

Se prepara a partir de la *Solución Inyectable de Pertecneciato () de Sodio* empleando componentes estériles y apirógenos.

Caracteres Generales - Líquido límpido a opalescente, incoloro o ligeramente amarillo.

CONSERVACIÓN

Proceder según se indica en *Almacenamiento en 1110. Preparaciones radiofarmacéuticas*.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe responder al *Ensayo de Identificación en Solución Inyectable de Pertecneciato () de Sodio*.

B - Examinar el cromatograma obtenido en *Pureza radioquímica*. La distribución de la actividad contribuye a la identificación de la preparación.

C - Transferir 0,2 ml de la Solución Inyectable de Tecnecio (99mTc) Azufre Coloidal a un tubo de ensayo de 100 mm de longitud y 16 mm de diámetro interno y evaporar hasta sequedad. Disolver el azufre agitando el residuo con 0,2 ml de piridina y agregar aproximadamente 20 mg de benzoína. Tapar el tubo con un papel de filtro impregnado con solución de acetato de plomo y calentar el tubo de ensayo en un baño de glicerina a 150 °C. El papel debe tornarse de color pardo lentamente.

Determinación del pH <250>

Entre 4,0 y 7,0

Pureza radioquímica.

Fase estacionaria - Emplear una hoja de papel para cromatografía ascendente en papel (ver 100. *Cromatografía*).

Fase móvil - Solución de 9 g por litro de cloruro de sodio.

Solución muestra - Emplear la Solución Inyectable de Tecnecio () Azufre Coloidal.

Procedimiento - Aplicar sobre la hoja 10 µl de la *Solución muestra*. Desarrollar el cromatograma hasta que el frente del solvente haya recorrido entre 10 y 15 cm y dejar secar el papel. Determinar la distribución de la actividad con un detector apropiado. El tecnecio-99m en forma coloidal permanece en el punto inicial, y el ión pertecneciato () migra con un *Rf* de aproximadamente 0,6. Pueden aparecer otras impurezas con valor de *Rf* entre 0,8 y 0,9. La actividad correspondiente al tecnecio-99m en forma coloidal representa no menos del 92 por ciento de la actividad total del cromatograma.

Biodistribución

Inyectar a tres ratones con peso entre 20 y 25 g en la vena caudal, un volumen no mayor de 0,2 ml de la Solución Inyectable de Tecnecio () y Azufre Coloidal. Sacrificar los animales 20 minutos luego de la inyección y extirpar el hígado, el bazo y los pulmones.

Medir la actividad en dichos órganos mediante un instrumento apropiado según se indica en *Biodistribución en 1110. Preparaciones radiofarmacéuticas*. Luego de haber eliminado la cola, medir la actividad en el resto del cuerpo y calcular el porcentaje de actividad en el hígado, bazo y pulmones, por la fórmula siguiente:

$$100(A/B)$$

en la cual *A* es la actividad en el órgano en cuestión, *B* es la actividad total del hígado, bazo, pulmones y el resto del cuerpo del animal.

En cada uno de los tres ratones, la actividad en el hígado y bazo no debe ser menor de 80,0 por ciento, y en los pulmones no debe ser mayor de 5,0 por ciento. Si la distribución de la actividad en uno de los tres ratones no es la indicada anteriormente, repetir el ensayo en otros tres ratones.

El ensayo solo es válido si la distribución de la actividad es la indicada en cinco de los seis ratones empleados.

Esterilidad

Debe cumplir con los requisitos en *Esterilidad en 1110. Preparaciones radiofarmacéuticas*

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de $175/V$ UI/ ml de la inyección, en donde V es la dosis máxima recomendada en ml a la fecha de vencimiento.

RADIOACTIVIDAD

Medir la actividad de la Solución Inyectable de Tecnecio (^{99m}Tc) Azufre Coloidal empleando un activímetro debidamente calibrado. (ver *1110. Preparaciones radiofarmacéuticas*).

ROTULADO

Proceder según se indica en *Rotulado* en *1110. Preparaciones radiofarmacéuticas*.

TECNECIO (^{99m}Tc), GLUCONATO DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Gluconato de Tecnecio (^{99m}Tc) es una solución estéril y apirógena compuesta por el complejo del tecnecio-99m con gluconato de calcio y una sal de estaño (II) u otro agente reductor. Debe contener no menos del 90,0 por ciento y no más del 110,0 por ciento de la actividad debida al tecnecio-99m, declarada con fecha y hora indicadas en el rótulo. No menos del 90,0 por ciento de la actividad corresponde al complejo de gluconato de tecnecio-99m.

Se prepara a partir de la *Solución Inyectable de Pertecnecio (^{99m}Tc) de Sodio* empleando componentes estériles y apirógenos.

Caracteres Generales - Solución límpida e incolora.

CONSERVACIÓN

Proceder según se indica en *Almacenamiento en 1110. Preparaciones radiofarmacéuticas*.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe responder al *Ensayo de Identificación en Solución Inyectable de Pertecnecio (^{99m}Tc) de Sodio*.

B - Examinar el cromatograma obtenido en *Pureza radioquímica*. La distribución de la actividad contribuye a la identificación de la preparación.

C - Debe responder al *Ensayo de Identificación B para Gluconato de Calcio*, determinado sobre 5 μl de la solución.

Determinación del pH <250>

Entre 6,0 y 8,5.

Pureza radioquímica

A - *Fase estacionaria* - Emplear una placa de fibra de vidrio (ver *100. Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía. Calentar la placa a 110 °C durante 10 minutos. Emplear una placa tal que durante el desarrollo la *Fase móvil* migre entre 10 y 15 cm en 10 minutos.

Solución muestra - Emplear la Solución Inyectable de Gluconato de Tecnecio (^{99m}Tc).

Fase móvil - Solución de 9 g por litro de cloruro de sodio.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa entre 5 y 10 μl de la *Solución muestra* y dejar secar las aplicaciones. Desarrollar el cromatograma hasta

que el frente del solvente haya recorrido entre 10 y 15 cm de la longitud de la placa y dejar secar. Determinar la distribución de la actividad empleando un detector apropiado. Las impurezas en forma coloidal permanecen en el origen. El complejo de Gluconato de Tecnecio (^{99m}Tc) y el ión pertecnecio (^{99m}Tc) migran con un Rf cercano a 1.

B - *Fase estacionaria y Solución muestra* - Proceder según se indica en Ensayo A en *Pureza radioquímica*.

Fase móvil - Metil etil cetona.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Ensayo A* en *Pureza radioquímica*. Determinar la distribución de la actividad empleando un detector apropiado. La impureza bajo forma de ión pertecnecio (^{99m}Tc) migra con un Rf cercano a 1. El complejo de gluconato de tecnecio (^{99m}Tc) y el tecnecio en forma coloidal permanecen en el origen.

La suma de los porcentajes de actividad debida a las impurezas en los cromatogramas obtenidos en los *Ensayos A* y *B* no debe ser mayor de 10 por ciento.

Biodistribución

Inyectar a tres ratas, con peso entre 150 y 250 g, en una vena adecuada, como puede ser la vena caudal o safena, un volumen no mayor de 0,2 ml de la Solución Inyectable de Gluconato de Tecnecio (^{99m}Tc). Medir la actividad en la jeringa antes y después de la inyección. Sacrificar las ratas 30 minutos luego de la inyección. Obtener muestras de sangre y pesar. Extirpar los riñones, el hígado y la vejiga (incluida la orina). Extirpar la cola si se ha empleado la vena caudal para la inyección.

Medir la actividad en dichos órganos, en la muestra de sangre, en la cola (de corresponder) o en el sitio de inyección, mediante un instrumento apropiado según se indica en *1110. Preparaciones radiofarmacéuticas*.

Determinar el porcentaje de actividad en cada órgano, por la fórmula siguiente:

$$100 (A/B)$$

en la cual *A* es la actividad en el órgano en cuestión, *B* es la actividad total, que es equivalente a la diferencia entre las dos medidas realizadas con la jeringa menos la actividad en la cola o en el sitio de inyección.

Calcular la actividad por unidad de masa en la sangre y corregirla multiplicando por el factor $m/200$, en la cual *m* es el corporal de la rata, expresada en gramos.

En no menos de dos de las 3 ratas, la actividad en los riñones no debe ser menor de 15 por ciento, en la vejiga y la orina excretada no debe ser menor de 20 por ciento y en el hígado no debe ser mayor de 5 por ciento. La actividad en la sangre, luego de

efectuada la corrección, no debe ser mayor de 0,5 por ciento.

Esterilidad

Debe cumplir con los requisitos en *Esterilidad* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 175/V UI/ ml de la inyección, en donde V es la dosis máxima recomendada en ml a la fecha de vencimiento.

RADIOACTIVIDAD

Medir la actividad de la Solución Inyectable de Gluconato de Tecnecio (^{99m}Tc) empleando un activímetro debidamente calibrado. (ver 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*).

ROTULADO

Proceder según se indica en *Rotulado* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*.

TECNECIO (^{99m}Tc), MACROAGREGADOS DE ALBÚMINA SUSPENSIÓN INYECTABLE

Definición - La Suspensión Inyectable de Macroagregados de Albúmina y Tecnecio (^{99m}Tc) es una suspensión estéril y apirógena de albúmina humana que se presenta en forma de agregados irregulares e insolubles, obtenidos por desnaturalización de la *Solución de Albúmina Humana*, en la cual las partículas están marcadas con tecnecio-99m. Contiene sustancias reductoras, como sales de estaño en una concentración no mayor de 3 mg de estaño por ml. Puede contener una solución reguladora apropiada, así como también albúmina humana no desnaturalizada y un conservante antimicrobiano. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la actividad debida al tecnecio-99m, declarada con fecha y hora indicada en el rótulo. No menos del 90,0 por ciento de la actividad se debe al tecnecio-99m unido a partículas en suspensión, como se evidencia al valorar la actividad de las partículas no filtrables. El diámetro medio de las partículas debe estar comprendido entre 10 y 100 µm. La actividad específica no debe ser menor de 37 MBq de tecnecio-99m por mg de agregado de albúmina, en la fecha y hora de la administración.

Se prepara a partir de la *Solución Inyectable de Pertecneciato* (^{99m}Tc) de Sodio empleando componentes estériles y apirógenos.

Caracteres generales - Suspensión blanquecina que puede decantar con el tiempo cuando está en reposo.

CONSERVACIÓN

Proceder según se indica en *Almacenamiento* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe responder al *Ensayo de Identificación* en *Solución Inyectable de Pertecneciato* (^{99m}Tc) de Sodio.

B - Debe responder al *Ensayo de Identificación* en *Solución de Albúmina Humana*.

C - Los ensayos de *Radiactividad de las partículas no filtrables* y *Tamaño de las partículas* contribuyen a la identificación de la preparación.

Determinación del pH <250>

Entre 3,8 y 8,0.

Radiactividad de las partículas no filtrables

Depositar 0,2 mL de la Suspensión Inyectable de Macroagregados de Tecnecio (^{99m}Tc) y Albúmina sobre una membrana filtrante de diámetro comprendido entre 13 y 25 mm. La membrana está constituida por una película de policarbonato de 10 µm de espesor con poros circulares de 3 µm. Filtrar agregando durante la operación 20 mL de una solución de 9 g por litro de cloruro de sodio y determinar la actividad remanente en el filtro. La actividad de las partículas no filtrables no debe ser menor de 90,0 por ciento de la actividad total de la suspensión inyectable en ensayo.

Tamaño de las partículas

Diluir la Suspensión Inyectable de Macroagregados de Tecnecio (^{99m}Tc) y Albúmina si fuera necesario, de modo que se obtenga una densidad de partículas suficientemente baja como para distinguirlas individualmente. Mediante una jeringa provista de una aguja de diámetro interior no menor de 0,35 mm, transferir un volumen apropiado de la suspensión a una cámara para recuento adecuada, como la cuadrícula de un hemocitómetro, teniendo la precaución de no llenarla demasiado. Dejar en reposo durante un minuto y depositar con precaución un cubreobjetos sin presionar la muestra. Examinar al microscopio efectuando un recuento no menor a 100 partículas. No menos de 90% de las partículas agregadas tienen un diámetro comprendido entre 10 µm y 90 µm y ninguna partícula debe presentar un diámetro mayor a 150 µm.

Concentración de proteínas

Suspensión muestra - Transferir 2,0 mL de la Suspensión Inyectable de Macroagregados de Albúmina y Tecnecio (^{99m}Tc) a un tubo de centrífuga y centrifugar a 2000 rpm aproximadamente durante 5 a 10 min. Decantar el sobrenadante y resuspender el precipitado en 2,0 ml de una solución de 9 g por litro de cloruro de sodio. Centrifugar nuevamente a 2000 rpm durante 5 a 10 minutos, decantar el sobrenadante y agregar 2,0 ml del mismo solvente.

Solución estándar - Transferir 2,0 ml de una solución que contenga 2,0 mg de albúmina humana por mL en una solución de 9 g por litro de cloruro de sodio.

Procedimiento - Agregar 4,0 mL de reactivo de Biuret a cada tubo de ensayo, mezclar y dejar en reposo durante exactamente 30 minutos para permitir el máximo desarrollo del color. Mezclar nuevamente o calentar moderadamente para disolver por completo la albúmina agregada, si fuera necesario. Determinar las absorbancias de la *Suspensión muestra* y la *Solución estándar* en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, a 540 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando

una solución de 9 g por litro de cloruro de sodio tratada del mismo modo como blanco. Calcular la cantidad en mg de albúmina agregada por ml de la suspensión inyectable en ensayo, por la fórmula siguiente:

$$2 \left(\frac{1}{2} \right)$$

en la cual y y x son las absorbancias obtenidas a partir de la *Suspensión muestra* y la *Solución estándar*, respectivamente.

La concentración de proteínas no debe ser mayor de 1 mg de albúmina agregada por 37 MBq (1 mCi) de tecnecio-99m en el momento de la administración.

Estaño

No más de 3 mg por ml-

Biodistribución

Inyectar a tres ratas, con peso entre 150 y 250 g, en una vena adecuada, como puede ser la vena caudal o safena, un volumen no mayor de 0,2 ml de la Suspensión Inyectable de Macroagregados de Albúmina y Tecnecio ($\text{}^{\text{99m}}\text{Tc}$). Sacrificar los animales 15 minutos después de la inyección. Extirpar el hígado, bazo, pulmones y la cola esto último si se ha empleado la vena caudal para la inyección.

Medir la actividad en el hígado, bazo, pulmones y en la cola (si corresponde) mediante un instrumento apropiado según se indica en *Biodistribución* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*. Determinar el porcentaje de actividad en cada órgano, por la fórmula siguiente:

$$100(A/B)$$

en la cual A es la actividad en el órgano en cuestión, B es la actividad del hígado, bazo, pulmones y resto del cuerpo del animal.

En no menos de dos de las tres ratas, la actividad en los pulmones no debe ser menor de 80,0 por ciento y en hígado y bazo no debe ser mayor de 5,0 por ciento.

Esterilidad

Debe cumplir con los requisitos en *Esterilidad* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de $175/V$ UI/ml de la inyección, en donde V es la dosis máxima recomendada en ml a la fecha de vencimiento.

RADIOACTIVIDAD

Medir la actividad de la Solución Inyectable de Pertecneiato ($\text{}^{\text{99m}}\text{Tc}$) de Sodio empleando un activímetro debidamente calibrado. (ver 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*).

ROTULADO

Proceder según se indica en *Rotulado* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*. Indicar en el rótulo la cantidad de estaño por ml, en el caso de que la preparación lo contenga; que la preparación no debe emplearse si no es homogénea luego de la agitación. En el rótulo deben figurar las siguientes leyendas: "Agitar antes de usar"; "Almacenar entre 2 y 8 °C".

TECNECIO (^{99m}Tc), MEDRONATO DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Sinonimia - Metilendifosfonato (^{99m}Tc).

Denominación usual - MDP

Definición - La Solución Inyectable de Medronato de Tecnecio-99m es una solución estéril y apirógena compuesta por el complejo de tecnecio-99m con metilendifosfonato de sodio y una sal de estaño (II). Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la actividad declarada de tecnecio-99m declarada en la fecha y hora indicada en el rótulo. La actividad presente en otras formas químicas que no sean el complejo medronato de tecnecio-99m no debe ser mayor de 10,0 por ciento de la actividad total. La solución contiene una cantidad de estaño (Sn) que no debe ser mayor de 3 mg por ml. Puede contener conservantes antimicrobianos, antioxidantes, estabilizantes y soluciones reguladoras apropiadas. La solución inyectable de medronato de tecnecio (^{99m}Tc) se prepara a partir de la *Solución Inyectable de Pertecneciato (^{99m}Tc) de Sodio* y componentes estériles y apirógenos.

Caracteres Generales - Solución límpida e incolora.

CONSERVACIÓN

Proceder según se indica en *Almacenamiento en 1110. Preparaciones radiofarmacéuticas*.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe responder al ensayo de *Identificación A en Solución Inyectable de Pertecneciato (^{99m}Tc) de Sodio*.

B - Examinar el cromatograma obtenido en el ensayo de *Pureza radioquímica*. La distribución de la actividad contribuye a la identificación de la preparación.

C - Examinar por cromatografía en capa delgada (ver *100. Cromatografía*) utilizando como Solución de referencia una solución de ácido medrónico en cloruro de sodio de forma tal de obtener una concentración de medronato y de cloruro de sodio igual a la solución muestra. La mancha principal en el cromatograma obtenido con la solución muestra es similar en posición y color a la mancha en el cromatograma obtenido con la solución de referencia.

Determinación del pH <250>

Entre 4,0 y 8,0.

Estaño

No debe contener más de 3 mg por mililitro.

Pureza radioquímica

A - Fase estacionaria - Emplear una placa de fibra de vidrio (ver *100. Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía. Emplear una placa tal que, durante el desarrollo, la *Fase móvil* migre entre 10 y 15 cm en aproximadamente 10 minutos.

Solución muestra - Emplear la Solución Inyectable de Medronato de Tecnecio (^{99m}Tc).

Fase móvil - Solución de 9,0 g por litro de cloruro de sodio.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa entre 5 y 10 μl de la *Solución muestra*. Desarrollar inmediatamente los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente entre 10 y 15 cm de la longitud de la placa y dejar secar. Determinar la distribución de la actividad empleando un detector apropiado. El tecnecio-99m hidrolizado y el tecnecio-99m en forma coloidal permanecen en el punto de origen. El complejo de medronato de tecnecio-99m y el ión pertecneciato (^{99m}Tc) migran con el frente del solvente.

B - Fase estacionaria y Solución muestra - Proceder según se indica en *A*.

Fase móvil - Metiletilcetona.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa entre 5 y 10 μl de la *Solución muestra* y secar rápidamente. Desarrollar inmediatamente los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente entre 10 y 15 cm de la longitud de la placa y dejar secar al aire. Determinar la distribución de la actividad empleando un detector apropiado. El ión pertecneciato (^{99m}Tc) migra con el frente del solvente. El complejo de medronato de tecnecio-99m y el tecnecio-99m en forma coloidal quedan retenidos en el punto de origen.

El porcentaje de actividad correspondiente al ión pertecneciato-99m en el cromatograma obtenido en el ensayo *B* no debe ser mayor de 2,0 % y la suma de los porcentajes de actividad correspondientes a las impurezas en los cromatogramas obtenidos en los ensayos *A* y *B*, incluyendo el ión pertecneciato (^{99m}Tc), no debe ser mayor de 10,0 %.

Biodistribución

Injectar a tres ratas, con peso entre 150 y 250 g, en una vena adecuada, como puede ser la vena caudal o safena, un volumen no mayor de 0,2 ml de la Solución Inyectable de Medronato de Tecnecio (^{99m}Tc), equivalente a no más de 0,05 mg de medronato de sodio. Medir la actividad en la jeringa

antes y después de la inyección. Sacrificar los animales dos horas después de la inyección. Extirpar un fémur, el hígado y muestras de sangre. Pesar la sangre. Extirpar la cola si se ha empleado la vena caudal para la inyección.

Medir la actividad de dichos órganos mediante un instrumento apropiado según se indica *Biodistribución* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*. Determinar el porcentaje de actividad en cada órgano respecto a la actividad total, calculada como la diferencia entre dos medidas de la jeringa, menos la actividad de la cola si la inyección se ha realizado en la vena caudal. Determinar el porcentaje de actividad en cada órgano, por la fórmula siguiente:

$$100(A/B)$$

en la cual *A* es la actividad en el órgano en cuestión, *B* es la actividad total, que equivale a la diferencia entre las dos medidas realizadas en la jeringa, menos la actividad en la cola o en el sitio de inyección. Calcular la actividad por unidad de masa en la sangre y corregirla multiplicando por el factor $m/200$ siendo *m* el peso corporal de la rata, expresada en gramos. En no menos de dos de las tres ratas, la actividad en el fémur no debe ser menor de 1,5 % y no más de 1,0 % se debe encontrar en el hígado. La actividad en la sangre, efectuada la corrección, no debe ser mayor de 0,05 %.

Esterilidad

Debe cumplir con los requisitos en *Esterilidad* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de $175/V$ UI/ ml de la inyección, en donde *V* es la dosis máxima recomendada en ml a la fecha de vencimiento.

RADIATIVIDAD

Medir la actividad de la Solución Inyectable de Medronato de Tecnecio (^{99m}Tc) empleando un activímetro debidamente calibrado (ver 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*).

ROTULADO

Proceder según se indica en *Rotulado* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*.

TECNECIO (^{99m}Tc), PENTETATO DE SOLUCIÓN INYECTABLE

Denominación usual - DTPA.

Definición - La Solución Inyectable de Pentetato de Tecnecio (^{99m}Tc) es una solución estéril y apirógena compuesta por el complejo del tecnecio-99m con dietilentriaminopentaacetato de sodio (DTPA) o de dietilentriaminopentaacetato trisódico cálcico y una sal de estaño (II). Se prepara a partir de la *Solución Inyectable de Pertecneciato (^{99m}Tc) de Sodio* y componentes estériles y apirógenos. Debe contener no menos de 90,0 por ciento y no más de 110,0 por ciento de la actividad debida al tecnecio-99m con fecha y hora indicada en el rótulo. No menos del 90,0 por ciento de la actividad debe corresponder al tecnecio-99m en forma de complejo con pentetato de sodio o con pentetato trisódico cálcico. La solución contiene una cantidad variable de estaño que no debe ser mayor de 1 mg por ml. Puede contener conservantes antimicrobianos, antioxidantes, estabilizantes y soluciones reguladoras apropiadas.

Caracteres Generales - Solución transparente, incolora o ligeramente amarilla.

CONSERVACIÓN

Proceder según se indica en *Almacenamiento en 1110. Preparaciones radiofarmacéuticas.*

ENSAYOS

Identificación

A - Debe responder al ensayo de *Identificación A* en *Solución Inyectable de Pertecneciato (^{99m}Tc) de Sodio*.

B - Examinar el cromatograma obtenido en el ensayo de *Pureza radioquímica*. La distribución de la actividad contribuye a la identificación de la preparación.

C - Colocar en un tubo de vidrio de 10 ml limpio y seco, un volumen de la Solución Inyectable de Pentetato de Tecnecio (^{99m}Tc) equivalente a 2 mg de pentetato. Diluir con agua a 1 ml, si fuera necesario. Transferir 1 ml de agua a un segundo tubo (blanco). Agregar a cada tubo 0,1 ml de una solución de 1 g por litro de sulfato de níquel, 0,5 ml de una solución de ácido acético glacial 50 % v/v y 0,75 ml de una solución de 50 g por litro de hidróxido de sodio, mezclar y comprobar que el pH no sea mayor de 5. Agregar a cada tubo 0,1 ml de una solución alcohólica de 10 g por litro de dimetilglioxima. Mezclar y dejar reposar durante 2 minutos.

Ajustar a pH no menor de 12 cada tubo mediante la adición de una solución de 100 g por litro de hidróxido de sodio. Mezclar, comprobar que el pH no es inferior a 12 y dejar reposar durante 2 minutos. Calentar los tubos suavemente en un baño de agua durante 2 minutos. El tubo que contiene la solución en ensayo permanece transparente e incoloro durante toda el procedimiento. La solución correspondiente al blanco se torna de color rojo al adicionar la solución de dimetilglioxima y se produce un precipitado rojo al calentar el tubo en un baño de agua.

Determinación del pH <250>

Entre 4,0 y 7,5.

Estaño

No debe contener más de 1 mg por mililitro.

Pureza radioquímica

A - Fase estacionaria - Emplear una placa de fibra de vidrio (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía activada a 110 °C durante 10 minutos. Emplear una placa tal que, durante el desarrollo, la *Fase móvil* migre entre 10 y 15 cm en aproximadamente 10 minutos.

Solución muestra - Emplear la Solución Inyectable de Pentetato de Tecnecio (^{99m}Tc).

Fase móvil - Solución de 9,0 g por litro de cloruro de sodio.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa entre 5 y 10 μl de la *Solución muestra*. Desarrollar inmediatamente los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente entre 10 y 15 cm de la longitud de la placa y dejar secar. Determinar la distribución de la actividad empleando un detector apropiado. Las impurezas correspondientes a la forma coloidal permanecen en el origen. El complejo de pentetato de tecnecio-99m y el ión pertecneciato (^{99m}Tc) migran con un Rf cercano a 1.

B - Fase estacionaria y Solución muestra - Proceder según se indica en A.

Fase móvil - Metiletiletona.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa entre 5 y 10 μl de la *Solución muestra*. Desarrollar inmediatamente los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente entre 10 y 15 cm de la longitud de la placa y dejar secar. Determinar la distribución de la actividad empleando un detector apropiado. El ión pertecneciato (^{99m}Tc) migra con un Rf cercano a 1, el complejo de pentetato de tecnecio-99m e impurezas en estado coloidal permanecen en el origen.

La suma de los porcentajes de actividad correspondientes a las impurezas en los cromatogramas obtenidos en los ensayos A y B no debe ser mayor de 10,0 %.

Esterilidad

Debe cumplir con los requisitos en *Esterilidad* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de $175/V$ UI/ml de la inyección, en donde V es la dosis máxima recomendada en ml a la fecha de vencimiento.

RADIOACTIVIDAD

Medir la actividad de la Solución Inyectable de Pentetato de Tecnecio (^{99m}Tc) empleando un activímetro debidamente calibrado (ver 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*).

ROTULADO

Proceder según se indica en *Rotulado* en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas*.

TECNECIO () SUCCÍMERO

SOLUCIÓN INYECTABLE

Denominación usual - DMSA.

Definición - La Solución Inyectable de Tecnecio () Succímero es una solución estéril de ácido *meso*-2,3-dimercaptosuccínico marcado con tecnecio-99m. Contiene sustancias reductoras, como sales de estaño (II) en una concentración no mayor de 1 mg de estaño por ml. Puede contener estabilizantes, antioxidantes como el ácido ascórbico y aditivos inertes. Debe contener no menos del 90,0 por ciento y no más del 110,0 por ciento de la actividad debida al tecnecio-99m, declarada con fecha y hora indicadas en el rótulo. No menos del 95,0 por ciento de la actividad corresponde al succímero-tecnecio-99m.

Se prepara a partir de la *Solución Inyectable de Pertecneiato () de Sodio* empleando componentes estériles y apirógenos. Las jeringas empleadas para la manipulación del producto final o del líquido de elución destinado al marcaje del producto final no debe contener partes de caucho.

Caracteres generales - Solución límpida e incolora.

CONSERVACIÓN

Proceder según se indica en *Almacenamiento en 1110. Preparaciones radiofarmacéuticas*.

ENSAYOS

Identificación

A - Debe responder al *Ensayo de Identificación en Solución Inyectable de Pertecneiato () de Sodio*.

B - Examinar el cromatograma obtenido en *Pureza radioquímica*. La distribución de la actividad contribuye a la identificación de la preparación.

C - Transferir 1 ml de la Solución Inyectable de Tecnecio () y Succímero a un tubo de ensayo, agregar 1 ml de una solución de 20 g por litro de nitroprusiato de sodio y 0,1 ml de ácido acético glacial. Mezclar y agregar con precaución una capa de amoníaco concentrado. Debe formarse un anillo de color violeta entre las dos capas.

Determinación del pH <250>

Entre 2,3 y 3,5.

Pureza radioquímica

Fase estacionaria - Emplear una placa de fibra de vidrio (ver *100. Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía. Calentar la placa a 110 °C durante 10 minutos.

Emplear una placa tal que durante el desarrollo la *Fase móvil* migre entre 10 y 15 cm en 10 minutos.

Solución muestra - Emplear la Solución Inyectable de Tecnecio () y Succímero.

Fase móvil - Metil etil cetona.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa entre 5 y 10 µl de la *Solución muestra* y dejar secar las aplicaciones. Desarrollar el cromatograma hasta que el frente del solvente haya recorrido entre 10 y 15 cm de la longitud de la placa y dejar secar. Determinar la distribución de la actividad empleando un detector apropiado. El complejo tecnecio-succímero permanece en el origen y el ión pertecneiato () migra con el frente del solvente. La actividad correspondiente al complejo tecnecio-99m-succímero representa no menos del 95,0 por ciento de la actividad total. La actividad correspondiente al ión pertecneiato () representa no más del 2,0 por ciento de la actividad total.

Estaño

No más de 1 mg por ml.

Biodistribución

Inyectar a tres ratas, con peso entre 150 y 250 g, en una vena adecuada, como puede ser la vena caudal o safena, un volumen no mayor de 0,2 ml de la Solución Inyectable de Tecnecio () y Succímero, que contenga no más de 0,1 mg de ácido dimercaptosuccínico. Medir la actividad en la jeringa antes y después de la inyección. Sacrificar los animales una hora luego de la inyección. Extirpar los riñones, hígado, estómago, pulmones y la cola, esto último si se ha empleado la vena caudal para la inyección.

Medir la actividad de dichos órganos mediante un instrumento apropiado según se indica *Biodistribución en 1110. Preparaciones radiofarmacéuticas*. Determinar el porcentaje de actividad en cada órgano respecto a la actividad total, calculada como la diferencia entre dos medidas de la jeringa, menos la actividad de la cola si la inyección se ha realizado en la vena caudal.

En al menos dos de las tres ratas la actividad en los riñones no debe ser menor de 40,0 por ciento, en el hígado no debe ser mayor de 10,0 por ciento, en el estómago no mayor de 2,0 por ciento y en los pulmones no mayor de 5,0 por ciento.

Esterilidad

Debe cumplir con los requisitos en *Esterilidad en 1110. Preparaciones radiofarmacéuticas*

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 175/V UI/ ml de la inyección, en donde V es la dosis máxima recomendada en ml a la fecha de vencimiento.

RADIATIVIDAD

Medir la actividad de la Solución Inyectable de Tecnecio (^{99m}Tc) y Succímero empleando un activímetro debidamente calibrado. (ver *1110. Preparaciones radiofarmacéuticas*).

ROTULADO

Proceder según se indica en *Rotulado* en *1110. Preparaciones radiofarmacéuticas*.

SUEROS Y VACUNAS

APARTADO DE SUEROS Y VACUNAS

ÍNDICE

Métodos Generales de Análisis

- <335> - Ensayo de Micobacterias
- <336> - Ensayo de Micoplasmas
- <339> - Ensayo de Neurovirulencia para Vacunas a Virus Vivo
- <415> - Ensayo para Agentes Extraños en Vacunas Virales
- <745> - Vacunas de Uso Humano

Textos de Información General

- <1030> - Criaderos de pollos libres de patógenos especificados para la producción y control de calidad de las vacunas
- <1125> - Sustratos celulares para la producción de vacunas de uso humano

Monografías

- Vacuna Antigripal, Antígenos de Superficie, Inactivada
- Vacuna Antigripal, Antígenos de Superficie, Inactivada, Virosoma
- Vacuna Antigripal Virus Fraccionados, Inactivada
- Vacuna BCG Liofilizada
- Vacuna contra la Difteria, Adsorbida
- Vacuna contra la Difteria, Adsorbida para adultos y adolescentes
- Vacuna contra el Haemophilus tipo B, Conjugada
- Vacuna contra la Hepatitis A Inactivada Adsorbida
- Vacuna contra la Hepatitis A Inactivada Virosomal
- Vacuna contra la Hepatitis B, ADN Recombinante
- Vacuna contra la Parotiditis, Viva
- Vacuna contra la Pertussis, Adsorbida
- Vacuna contra la Poliomiелitis, Inactivada
- Vacuna contra la Poliomiелitis Oral
- Vacuna contra la Rubéola, Viva
- Vacuna contra el Sarampión, Viva
- Vacuna contra el Tétanos, Adsorbida
- Vacuna contra la Difteria y el Tétanos, Adsorbida
- Vacuna contra la Difteria y el Tétanos, Adsorbida, para adultos y adolescentes
- Vacuna contra la Difteria, el Tétanos y la Pertussis, Adsorbida
- Vacuna contra el Sarampión, la Parotiditis y la Rubéola Viva

335. ENSAYO DE MICOBACTERIAS

Si la muestra en ensayo puede estar contaminada con otros microorganismos diferentes a micobacterias, tratar la muestra con una solución descontaminante apropiada, como solución de hidróxido de sodio -acetilcisteína o solución de laurilsulfato de sodio.

Inocular 0,2 ml de la muestra por triplicado en dos medios sólidos apropiados (Lôwenstein-Jensen y Middlebrook 7H10). Inocular 0,5 ml de la muestra por triplicado en un medio líquido apropiado. Incubar todos los medios a 37 °C durante 56 días.

Determinar la fertilidad de los medios en presencia de la preparación en ensayo inoculando una cepa adecuada de *Mycobacterium sp*, como BCG y, de ser necesario, usar una solución neutralizante.

Si se produce desarrollo de un microorganismo contaminante durante los primeros 8 días de incubación, repetir el ensayo y realizar al mismo tiempo un ensayo de esterilidad de la muestra.

La preparación cumple con los requisitos si al cabo del periodo de incubación no se desarrolla crecimiento de micobacterias.

336. ENSAYO DE MICOPLASMAS

Cuando se indica para un banco maestro de células, un banco de trabajo de células, un lote de semilla de virus o para controles de células, proceder según se indica en *Método de cultivo* y *Método del indicador en cultivos celulares*. Cuando se indica para cosechas virales, graneles de vacuna o lotes finales de producto proceder según se indica en *Método de cultivo*.

MÉTODO DE CULTIVO

Elección del método de cultivo

Realizar el ensayo usando un número suficiente de medios líquidos y sólidos que asegure el crecimiento en las condiciones de incubación elegidas de un pequeño número de micoplasmas que puede estar presente en el material a ser examinado. Los medios líquidos deben contener rojo fenol. Las propiedades nutritivas de cada nuevo lote de medio se deben verificar usando los siguientes organismos:

Acholeplasma laidlawii: para vacunas a las que se les ha agregado antibiótico durante su producción.

Mycoplasma gallisepticum: cuando se ha usado material de origen aviar durante la elaboración.

Mycoplasma orale: para vacunas de uso humano.

Mycoplasma pneumoniae: para vacunas de uso humano.

Mycoplasma synoviae: para vacunas de uso humano.

Condiciones de incubación

Dividir los medios inoculados en dos porciones iguales e incubar una en condiciones aeróbicas y la otra en condiciones de microaerofilia; para medios sólidos mantener una atmósfera de adecuada humedad para prevenir la evaporación de la superficie. Para medios sólidos en condiciones aeróbicas, incubar en una atmósfera de aire que contenga entre 5 y 10 % de dióxido de carbono. Para medios sólidos en condiciones de microaerofilia incubar en una atmósfera de nitrógeno que contenga entre 5 y 10 % de dióxido de carbono.

Propiedades nutritivas

Realizar la determinación de las propiedades nutritivas para cada nuevo lote de medio. Inocular el medio elegido con el organismo de ensayo correspondiente; usar no más de 100 ufc por placa de 60 mm conteniendo 9 ml de medio sólido y no más de 40 ufc por envase de medio líquido conteniendo 100 ml; usar placas separadas para cada organismo ensayado. Incubar los medios en las

condiciones que serán usadas para el ensayo sobre producto. El medio cumple con el ensayo para propiedades nutritivas si se verifica un apropiado crecimiento del organismo y un apropiado cambio de color del medio líquido.

Sustancias inhibitorias

Realizar el ensayo de propiedades nutritivas en presencia del producto en ensayo. Si el crecimiento del organismo elegido es menor que el encontrado en ausencia del producto, éste contiene sustancias inhibitorias que deben ser neutralizadas antes de realizar el ensayo para micoplasmas. La efectividad de la neutralización u otro proceso debe ser comprobada repitiendo el ensayo para sustancias inhibitorias después de la neutralización.

Ensayo para micoplasmas en el producto a ser examinado

Para medios sólidos usar placas de 60 mm de diámetro conteniendo 9 ml de medio. Inocular 0,2 ml del producto a ser examinado en cada una de por lo menos dos placas de medio sólido. Para medios líquidos inocular 10 ml de producto cada 100 ml de medio. Incubar entre 35 y 38 °C en condiciones de aerobiosis y de microaerofilia, durante 21 días; paralelamente incubar una porción de 100 ml de cada medio sin inocular para usar como control. Si durante el agregado del producto en ensayo se produce cualquier cambio de pH, restaurar el valor de pH del medio de cultivo mediante el agregado de una solución de hidróxido de sodio o de ácido clorhídrico.

Al primero, segundo y tercer día después de la inoculación subcultivar cada cultivo líquido por inoculación de 0,2 ml en cada una de dos placas de cada medio sólido utilizado e incubar entre 35 y 38 °C en aerobiosis y microaerofilia durante no menos de 21 días. Repetir este procedimiento al sexto, séptimo y octavo día y nuevamente a los trece o catorce días de iniciado el ensayo. Observar los medios líquidos cada dos o tres días y si se produce cualquier cambio de color subcultivar inmediatamente. Observar los medios sólidos una vez a la semana.

Si los medios líquidos evidencian contaminación fúngica o bacteriana repetir el ensayo. Si, no antes de los 7 días después de la inoculación, no más de una placa de cada paso del ensayo se contamina con hongos o bacterias o se rompe, esa placa debe ser ignorada si se comprueba por examinación inmediata que no presenta evidencia de crecimiento de micoplasmas. Si, en cualquier paso del ensayo más de una placa se

contamina accidentalmente con hongos o bacterias o se rompe, el ensayo no es válido y debe repetirse.

Incluir en el ensayo controles positivos preparados inoculando no más de 100 ufc de especies como *M. orale* o *M. pneumoniae*.

Al finalizar el periodo de incubación, examinar microscópicamente todos los medios sólidos inoculados para la presencia de micoplasmas. El producto cumple el ensayo si no se produce crecimiento de micoplasmas en todos los medios inoculados. Si se produce crecimiento de micoplasma, el ensayo debe ser repetido una vez usando el doble de la cantidad de inóculo, medios y placas, si no se produce crecimiento de micoplasmas el producto cumple el ensayo. El ensayo es no válido si no se produce crecimiento en los controles positivos.

MÉTODO DEL INDICADOR EN CULTIVO CELULAR

Los cultivos celulares se tiñen con un colorante que se une al ADN. Los micoplasmas se detectan por su patrón particulado o filamentoso de fluorescencia sobre la superficie de la célula y, en los casos de contaminación abundante también en las áreas circundantes.

Verificación del sustrato

Usando un cultivo de células Vero como sustrato, preensayar el procedimiento usando un inóculo de no más de 100 ufc de una cepa que crezca en medio sólido o líquido y desafiar su capacidad para detectar contaminación por micoplasmas tales como *Mycoplasma hyorhinae* y *Mycoplasma orale*. Puede utilizarse un sustrato celular diferente, por ejemplo la línea celular de producción, si se ha demostrado que provee la misma sensibilidad para la detección de potencial contaminación por micoplasmas.

Método

Emplear no más de 1 ml del producto en ensayo para inocular por duplicado un área no menor a 25 cm² del cultivo celular indicador creciendo confluyente. Incluir en el ensayo un control negativo (no infectado) y dos controles positivos de micoplasmas tales como *Mycoplasma hyorhinae* y *Mycoplasma orale*. Usar un inóculo de no más de 100 ufc para los controles positivos.

Si para suspensiones virales la interpretación de los resultados se ve afectada por el efecto

citopático, el virus puede ser neutralizado usando un antisuero específico que no tenga efecto inhibitorio sobre micoplasmas o el sustrato celular y que no permita el crecimiento de los virus. Para demostrar la ausencia de efectos inhibitorios en el suero, llevar a cabo controles positivos en presencia y en ausencia del antisuero.

Procedimiento

Sembrar el cultivo celular a una densidad regular (2×10^4 a 2×10^5 cel/ml o 4×10^3 a $2,5 \times 10^4$ cel/cm²) e incubar a 36 ± 1 °C durante por lo menos 2 días. Inocular el producto en ensayo e incubar durante por lo menos 2 días; realizar no menos de un subcultivo. Permitir el crecimiento del último subcultivo en una superficie apropiada para el procedimiento del ensayo. No permitir que el último subcultivo alcance a ser confluyente ya que esto podría inhibir la tinción e impedir la visualización de los micoplasmas. Descartar el medio. Enjuagar la monocapa con Solución reguladora fosfato salina pH 7,4 luego con una mezcla de iguales volúmenes del mismo solvente y una solución fijadora apropiada y por último con la solución fijadora. Agregar la solución fijadora y dejar reposar durante 10 minutos. Eliminar y descartar la solución fijadora. Si la monocapa va a ser teñida posteriormente, secar completamente y si la monocapa va a ser teñida directamente, eliminar la solución fijadora con dos lavados con agua destilada estéril y descartar el agua. Agregar bisbenzimidida diluida (SR) o cualquier otro colorante para ADN y dejar reposar durante 10 minutos. Eliminar el colorante y lavar la monocapa con agua.

Examinar por epifluorescencia (filtro de excitación a 300 nm/380 nm, filtro barrera LP 440 nm) con un aumento entre 100 y 400 × o mayor. Comparar la apariencia microscópica del cultivo de ensayo con los controles positivos y negativos, examinando la fluorescencia extranuclear. Los micoplasmas se visualizan como puntos o filamentos sobre el citoplasma celular y, en algunos casos en los espacios intercelulares.

El producto a ser examinado cumple con el ensayo si no se exhibe evidencia de la presencia de micoplasmas en los cultivos de ensayo inoculados con el producto. El ensayo sólo es válido si los controles positivos exhiben evidencia de la presencia de micoplasma.

339. ENSAYO DE NEUROVIRULENCIA PARA VACUNAS A VIRUS VIVO

Para cada ensayo, utilizar no menos de diez monos que sean seronegativos para el virus en ensayo. Para cada mono inyectar no más de 0,5 ml de la muestra en ensayo dentro de la región del tálamo de cada hemisferio salvo otro caso indicado. La cantidad total de virus inoculado en cada mono no debe ser menor de la cantidad contenida en la dosis humana simple recomendada de la vacuna. Para verificar la ausencia de virus neurovirulento salvaje, mantener un grupo de no menos de cuatro monos control. Observar los monos inoculados durante 17 a 21 días para síntomas de parálisis y otra evidencia de complicación neurológica, observar los monos control durante 10 días más del mismo período. Los animales que mueran durante las 48 horas después de la inyección son considerados muertos por causas no específicas y pueden ser reemplazados. El ensayo sólo es válido si no más de 20 % de los monos inoculados mueren por causas no específicas y muestras de suero de los monos control tomadas al momento de inoculación de los animales del ensayo y 10 días posteriores a la muerte no muestran signos de infección con virus salvajes del tipo de virus a en ensayo o por virus de sarampión. Al final del período de observación realizar una autopsia y un examen histopatológico de las áreas apropiadas del cerebro para evidencia de complicaciones del sistema nervioso central. La muestra en ensayo cumple con los requisitos si no hay evidencia clínica e histopatológica inesperadas de complicaciones del sistema nervioso central atribuibles al virus inoculado.

ENSAYO PARA LA VACUNA CONTRA LA POLIOMIELITIS ORAL

Los monos utilizados en el ensayo de neurovirulencia deben cumplir con los requisitos de *Vacuna contra la poliomieltis oral* y deben pesar no menos de 1,5 kg. La patogenicidad para monos *Macaca* o *Cercopithecus* es evaluada en comparación con la de la preparación del virus de referencia para neurovirulencia mediante inoculación en la región lumbar del sistema nervioso central luego de la sedación con una sustancia apropiada, por ejemplo hidrocloreuro de ketamina. Una muestra de suero tomada antes de la inyección debe demostrar no contener anticuerpos neutralizantes a una dilución de 1 en 5 cuando se evalúa contra no más de 1.000 CCID₅₀ de cada uno de los tres tipos de poliovirus.

Número de monos

Inocular igual número de animales con la vacuna en ensayo y la preparación de referencia. Distribuir los animales al azar entre los distintos grupos de tratamiento y codificar las cajas y su identidad para que el tratamiento recibido por cada animal sea conciliado por los evaluadores de cada sección. El número de monos inoculados debe ser tal que en la evaluación de la vacuna y de la preparación de referencia, se incluyan no menos de once monos positivos para el virus tipo 1 y tipo 2 y no menos de dieciocho monos positivos para el virus tipo 3 (monos positivos son aquellos que muestran lesiones neuronales específicas del poliovirus en el sistema nervioso central).

Puede ensayarse más de un lote de vacuna con la misma referencia homotípica. Siempre que sea posible deben utilizarse monos del mismo grupo de cuarentena. Si se utilizan monos provenientes de 2 grupos se deben tratar igual número de cada grupo con la vacuna y con la preparación de referencia. Si el ensayo se realiza en 2 días de trabajo, un mismo número de monos de cada grupo debe ser inoculado en cada día con la vacuna y la preparación de referencia homotípica.

Contenido de virus

Ajustar el contenido de virus de la vacuna y el de la preparación homotípica de referencia de manera de estar entre $10^{5.5}$ y $10^{6.5}$ CCID₅₀ por 0,1 ml.

Observaciones

Observar todos los monos durante 17 a 22 días para determinar la presencia de signos de poliomieltis u otras infecciones virales. Realizar una autopsia a aquellos monos que sobreviven las primeras 24 horas pero mueren antes del día 11 después de la inoculación para determinar si la poliomieltis fue la causa de muerte. Los animales que mueren por causas diferentes a la poliomieltis son excluidos para la evaluación. Sacrificar los animales moribundos o aquellos que están severamente paralizados y realizar una autopsia. El ensayo sólo es válido si no más de 20 % de los animales muestra infección recurrente durante el período de observación.

Número de secciones examinadas

Se sugiere la examinación histológica de por lo menos: médula lumbar, médula cervical, bulbo raquídeo inferior y superior, cerebro medio, tálamo y la corteza motora de cada mono.

Cortar las secciones de un espesor de 15 µm y teñidas con galocianina. El mínimo número de secciones examinadas es el siguiente:

1. 12 secciones representativas del engrosamiento lumbar en su totalidad,
2. 10 secciones representativas del engrosamiento cervical en su totalidad,
3. 2 secciones del bulbo raquídeo,
4. 1 sección del puente y cerebelo,
5. 1 sección del cerebro medio,
6. 1 sección del lado izquierdo y otra del lado derecho del tálamo,
7. 1 sección del lado izquierdo y otra del lado derecho de la corteza cerebral.

Puntaje de la actividad viral

Para la evaluación de la actividad del virus en las hemisecciones de la médula espinal y del tallo cerebral se utiliza un sistema de puntaje según la severidad de las lesiones, diferenciándose infiltración celular y destrucción de neuronas según se indica:

1. Solo infiltración celular (el mono no se cuenta como positivo)
2. Infiltración celular con daño neuronal mínimo
3. Infiltración celular con daño neuronal extensivo
4. Daño neuronal masivo con o sin infiltración celular

Los puntajes son registrados en una planilla. Un mono con lesiones neuronales en las secciones pero que no presente tracto de aguja es considerado como positivo. Un mono que presente tracto de aguja en las secciones pero no lesiones específicas del virus no es considerado positivo. Si en una sección se observa daño debido a trauma pero ninguna lesión específica por virus, dicha sección no será incluida en la valoración. La gravedad de las lesiones se basa en la observación de los cortes histológicos lumbar (L), cervical (C) y cerebral (B). El índice de lesión (IL) para cada mono positivo se calcula mediante la fórmula siguiente:

$$IL = \frac{\left[\frac{\sum L}{N_{hemisecc}^o} \right] + \left[\frac{\sum C}{N_{hemisecc}^o} \right] + \left[\frac{\sum B}{N_{hemisecc}^o} \right]}{3}$$

Calcular el índice de lesión promedio para cada grupo de monos positivos.

Evaluación

La comparación de la actividad del virus en la vacuna y en la preparación de referencia se basa en la actividad existente en el engrosamiento lumbar de la médula y el grado de difusión de la actividad desde esta región hacia el engrosamiento cervical y el cerebro. La vacuna será aceptada o rechazada sobre la base de la valoración total de todos los animales

ensayados. Los animales que presenten individualmente una actividad inusualmente elevada, tanto en la región lumbar o como resultado de la difusión desde dicha región, también son tenidos en cuenta en la evaluación final. El producto a granel filtrado cumple el ensayo si el número de animales requerido es positivo y si en ninguno de los exámenes clínicos e histopatológicos se registra una diferencia significativa entre la patogenicidad del virus de la vacuna y el del material de referencia.

Criterio de aceptación

Realizar un mínimo de cuatro ensayos de neurovirulencia (considerados calificadorios) sobre cada vacuna de referencia (tipos 1, 2 y 3), para obtener datos sobre la actividad de tales vacunas para establecer criterios de aceptabilidad para las vacunas sometidas a ensayo. Calcular el valor medio general de las lesiones M para los ensayos repetidos con cada virus de referencia, junto con una estimación conjunta de la varianza intra-ensayo s^2 y la desviación intra-ensayo s .

Los criterios de validez para los resultados de un ensayo sobre una preparación de referencia se establecen sobre la base de los datos acumulados de los ensayos calificadorios por lo que no es posible dar ningún criterio aplicable de forma general. En laboratorios con experiencia limitada, puede resultar de ayuda el siguiente método empírico para establecer límites aceptables para la media de los índices de lesión para la preparación de referencia X_{ref} :

	Límite inferior	Límite superior
Tipo 1 y 2	$M - s$	$M + s$
Tipo 3	$M - s/2$	$M + s$

Si el valor medio de lesiones para la vacuna en ensayo es X_{test} y C_1 , C_2 y C_3 son constantes determinadas según se indica:

$$C_1 = 2,3 \sqrt{\frac{2s^2}{N_1}}$$

$$C_2 = 2,6 \sqrt{\frac{2s^2}{N_1}}$$

$$C_3 = 1,6 \sqrt{\frac{2s^2}{N_2}}$$

Siendo N_1 el número de monos positivos por vacuna analizada, N_2 el número de monos positivos en los dos ensayos, 2,3 la desviación normal en el nivel de 1,0 %, 2,6 la desviación normal en el nivel de 0,5 % y 1,6 la desviación normal en el nivel de 5,0 %.

La vacuna no cumple con los requisitos si:

$$X_{test} - X_{ref} > C_1$$

La vacuna puede ser reanalizada una vez si:

$$C_1 < X_{test} - X_{ref} < C_2$$

Si la vacuna es reanalizada, calcular las medias de los puntajes de las lesiones de las vacunas en ensayo y la vacuna de referencia. La vacuna no cumple con los requisitos si:

$$\frac{X_{(test_1 + test_2)} - X_{(ref_1 + ref_2)}}{2} > C_3$$

Un ensayo de neurovirulencia en el cual el puntaje de la lesión media para la referencia X_{ref} no es compatible con la experiencia previa, no debe ser usado para evaluación de una vacuna en ensayo.

El ensayo sólo es válido si el puntaje de la lesión media para la vacuna en ensayo X_{test} es calculada y comparada con una vacuna de referencia homotípica.

415. ENSAYO PARA AGENTES EXTRAÑOS EN VACUNAS VIRALES

En aquellos ensayos que se requiere una neutralización previa del virus, utilizar anticuerpos específicos de origen no humano y no simio. Si el virus ha sido propagado en tejidos de aves los anticuerpos deben ser también de origen no aviar. Para preparar el antisuero utilizando un antígeno inmunizante producido en cultivo celular de una especie diferente de la utilizada para la producción de la vacuna y libre de agentes extraños. Cuando se indica el uso de huevos LPE, los huevos deben ser obtenidos de un criadero libre de patógenos específicos.

LOTE SEMILLA DEL VIRUS

Tomar muestras de los lotes semilla del virus en el momento de la cosecha, si no son utilizadas inmediatamente conservar a una temperatura menor de -40°C .

Ratones adultos

Inocular por lo menos diez ratones adultos entre 15 y 20 g de peso, intracerebralmente con 0,03 ml e intraperitonealmente con 0,5 ml del lote semilla del virus. Observar los ratones por lo menos durante 21 días. Realizar una autopsia a todos los ratones que murieron después de las primeras 24 horas del ensayo o que muestren signos de enfermedad y examinar para evidencia de infección viral, tanto por observación macroscópica directa como por subinoculación de una suspensión de tejido apropiada por rutas intracerebral e intraperitoneal en por lo menos cinco ratones adicionales que son observados durante 21 días. El lote semilla del virus cumple con el ensayo si ningún ratón muestra evidencia de infección atribuible al lote semilla. El ensayo sólo es válido si por lo menos el 80 % de los ratones inoculados originalmente sobreviven el período de observación.

Ratones lactantes

Inocular por lo menos veinte ratones lactantes de menos de 24 horas de edad, intracerebralmente con 0,01 ml e intraperitonealmente con no menos de 0,1 ml del lote semilla del virus. Observar los ratones diariamente por lo menos durante 14 días. Realizar una autopsia a todos los ratones que murieron después de las primeras 24 horas del ensayo o que muestren signos de enfermedad y examinar para evidencia de infección viral, tanto por observación macroscópica directa como por subinoculación de una suspensión de tejido apropiada por rutas intracerebral e intraperitoneal en por lo menos cinco ratones lactantes adicionales

que son observados diariamente por 14 días. El lote semilla del virus cumple con el ensayo si ningún ratón muestra evidencia de infección atribuible al lote semilla. El ensayo sólo es válido si por lo menos el 80 % de los ratones inoculados originalmente sobreviven el período de observación.

Cobayos

Inocular intraperitonealmente, a por lo menos cinco cobayos entre 350 a 450 g de peso, 5,0 ml del lote semilla del virus. Observar los animales por lo menos durante 42 días para ver signos de enfermedad. Realizar una autopsia a todos los cobayos que murieron después de las primeras 24 horas del ensayo o que muestren signos de enfermedad y examinar macroscópicamente y por cultivo para ver evidencia de infección. Matar los animales que sobrevivan al período de observación y examinar de manera similar. El lote semilla del virus cumple con el ensayo si ningún cobayo muestra evidencia de infección atribuible al lote semilla. El ensayo sólo es válido si por lo menos el 80 % de los cobayos sobreviven el período de observación.

LOTE SEMILLA DEL VIRUS Y COSECHAS DEL VIRUS

Tomar muestras en el momento de la cosecha y si no son utilizadas inmediatamente conservar a una temperatura menor de -40°C .

Esterilidad fúngica y bacteriana

Una muestra de 10 ml debe cumplir con los requisitos de 370. *Ensayo de esterilidad*.

Ensayo de micoplasmas <336>

Una muestra de 10 ml debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de micobacterias <335>

Emplear 5 ml de la muestra en ensayo para verificar la ausencia de *Mycobacterium ssp.* por métodos de cultivos que sean sensibles a la detección de estos organismos.

Cultivo celular para otros agentes extraños

Inocular muestras neutralizadas equivalentes a 500 dosis humanas de vacuna o 50 ml, en cultivos continuos de riñón de simio y células humanas. Si el virus crece en células diploides humanas, la cosecha viral neutralizada se debe inocular en un cultivo separado de células diploides. Si el virus de la vacuna es desarrollado en otro sistema celular diferente a simio o humano, debe también

inocularse células de esa especie. Las células son incubadas a 36 ± 1 °C y observadas durante 14 días. El lote de semilla viral o la cosecha cumplen con los requisitos si ninguno de los cultivos celulares muestra evidencia de algún agente extraño no atribuible a una contaminación accidental. El ensayo sólo es válido si por lo menos el 80 % de los cultivos celulares permanecen viables.

Virus aviares

[NOTA: realizar este ensayo solo en virus propagados en tejidos aviares].

Neutralizar una mezcla equivalente a 100 dosis humanas o 10 ml. Inocular 0,5 ml de la muestra en ensayo a sendos huevos de un primer grupo de huevos LPE fertilizados de 9 y 11 días de edad por vía alantoica y un segundo grupo de 5 a 7 días de edad dentro del saco de la yema. Incubar durante 7 días. El lote de semilla viral o la cosecha cumplen el ensayo si los fluidos alantoicos y el saco de la yema no muestran signos de presencia de cualquier agente hemaglutinante y si todos los embriones y las membranas coreoalantoicas examinadas son normales. El ensayo sólo es válido si por lo menos el 80 % de los huevos inoculados sobreviven durante 7 días.

CULTIVO CELULAR DE PRODUCCIÓN

Examinar microscópicamente las células control para verificar la ausencia de cualquier virus causante de efecto citopático a lo largo del tiempo de incubación de los cultivos celulares de producción inoculados o como mínimo 14 días después del momento de inoculación de los frascos de producción. El ensayo sólo es válido si por lo menos el 80 % de los cultivos celulares control sobreviven hasta el final del período de observación. A los 14 días o en el momento de la última cosecha del virus, si el tiempo es mayor, proceder según se indica en *Virus hemadsorbentes*.

Virus hemadsorbentes

Examinar no menos de 25 % de los cultivos control para detectar la presencia de virus hemadsorbentes por adición de glóbulos rojos de cobayo. Las células rojas sanguíneas de cobayo se deben almacenar a 5 ± 3 °C durante no más de 7 días. Examinar la mitad de los cultivos después de la incubación a 5 ± 3 °C durante 30 minutos y la otra mitad después de la incubación entre 20 y 25 °C durante 30 minutos. La muestra cumple con los requisitos si no se encuentra evidencia de la presencia de agentes hemadsorbentes.

Cultivo celular para otros agentes extraños

Mezclar los sobrenadantes fluidos de las células control y examinar para detectar la presencia de agentes extraños por inoculación de cultivos de

células de riñón de simio o humanas. Si el virus de la vacuna desarrolla en un sistema celular deferente al humano o simio, inocular células de esas especies pero de lotes diferentes. En cada sistema celular se deben ensayar al menos 5 ml. Incubar los cultivos inoculados a una temperatura de 36 ± 1 °C y observar por un período de 14 días. La muestra cumple el ensayo si no se encuentra evidencia de la presencia de agentes extraños.

Si la producción de cultivos celulares se mantiene a una temperatura diferente de 36 ± 1 °C realizar un ensayo suplementario para agentes extraños a la temperatura de producción utilizando el mismo tipo de células que la usada para el desarrollo del virus.

Virus de la leucosis aviar

[NOTA: realizar este ensayo solo en virus propagados en tejidos aviares].

Realizar un ensayo para leucosis aviar utilizando 5 ml del fluido sobrenadante de las células control.

HUEVOS CONTROL

Agentes hemaglutinantes

Examinar 0,25 ml del fluido alantoideos de cada huevo para agentes hemaglutinantes por mezcla directa con glóbulos rojos de pollo y después de un pasaje en huevos LPE, realizado por inoculación de una muestra de 5 ml de la mezcla de fluidos alantoideos de los huevos en volúmenes de 0,5ml dentro de la cavidad alantoidea y dentro de la cavidad amniótica de los huevos SPF. Los huevos control cumplen con el ensayo si no se encuentra evidencia de la presencia de agentes hemaglutinantes en ninguno de los ensayos.

Virus de la leucosis aviar

Utilizar una muestra de 10 ml de la mezcla de fluidos amnióticos de los huevos control. Realizar una amplificación mediante cinco pasajes en cultivos celulares de embriones de pollo libres de leucosis. Realizar el ensayo para leucosis aviar utilizando células del quinto pasaje. Los huevos control cumplen con el ensayo si no se encuentra evidencia de la presencia de virus de la leucosis aviar.

Otros agentes extraños

Inocular 5 ml de muestra de las mezclas de fluidos amnióticos de los huevos control en cultivos celulares humanos y de simios. Observar los cultivos celulares durante 14 días. Los huevos control cumplen con el ensayo si no se encuentra evidencia de agentes extraños. El ensayo sólo es válido si por lo menos el 80 % de los cultivos inoculados sobreviven durante 7 días.

745. VACUNAS DE USO HUMANO

Vaccina ad usum humanum

Definición - Las vacunas para uso humano son preparaciones que contienen sustancias antigénicas capaces de inducir en el hombre una inmunidad activa específica contra un agente infeccioso o toxina o antígeno elaborada por el mismo. Las vacunas deben poseer una actividad inmunogénica aceptable demostrada en el hombre para el esquema propuesto.

Las vacunas para uso humano pueden contener: organismos inactivados por medios químicos o físicos que mantengan las propiedades inmunogénicas adecuadas; organismos vivos que son naturalmente no virulentos o que han sido tratados para atenuar su virulencia conservando las propiedades inmunogénicas adecuadas; antígenos extraídos o secretados de organismos o producidos por ingeniería genética. Los antígenos pueden ser utilizados en su estado nativo o detoxificado por medios químicos o físicos y pueden ser agregados, polimerizados o conjugados a un portador para incrementar su inmunogenicidad.

GLOSARIO

Sistema de lote semilla - En un sistema de lote semilla los lotes sucesivos de un producto se derivan del mismo lote semilla maestro. Para la producción de rutina, puede prepararse un lote semilla de trabajo a partir del lote semilla maestro. Debe registrarse el origen y el listado histórico de los pasajes del lote semilla maestro y del de trabajo.

Lote semilla maestro - Cultivo de un microorganismo distribuido desde un único contenedor a envases que se procesan juntos en una misma operación, de tal manera que se asegure la uniformidad y la estabilidad y se evite la contaminación. Un lote semilla maestro normalmente se almacena en forma líquida a una temperatura igual o menor de -70°C o en forma liofilizada a la temperatura necesaria para garantizar su estabilidad.

Lote semilla de trabajo - Cultivo de un microorganismo derivado del lote semilla maestro y destinado a ser utilizado en la producción. Los lotes semilla de trabajo se distribuyen en envases y se conservan como se ha indicado para el lote semilla maestro.

Sistema de banco de células - En un sistema de banco de células, los lotes sucesivos de un producto se fabrican por cultivo en células derivadas de un mismo banco maestro de células. Se usa un número de envases del banco maestro de células para preparar un banco de trabajo de células. Debe validarse el

número mayor de pasajes permitido durante la producción de rutina para el sistema de banco de células.

Banco maestro de células - Cultivo de células distribuido en envases en una única operación, procesado y conservado de tal manera que se evite la contaminación y quede garantizada la uniformidad y la estabilidad. El banco maestro de células se almacena normalmente a una temperatura igual o menor de -70°C .

Banco de trabajo de células - Cultivo de células derivadas del banco maestro de células destinado a la preparación de cultivos celulares para producción. El banco de trabajo de células se distribuye en envases, se procesa y se almacena del modo descrito para el banco maestro de células.

Cultivo primario de células - Cultivo de células obtenido por tripsinación de un tejido u órgano adecuado. Las células son esencialmente idénticas a las del tejido animal de origen y se encuentran en una fase de producción menor a 5 pases *in vitro* desde la preparación inicial a partir del tejido animal.

Línea celular - Cultivo de células que tienen una elevada capacidad de multiplicación *in vitro*. En las líneas de células diploides, las células tienen esencialmente las mismas características que las del tejido animal de origen. En las líneas celulares continuas, las células pueden multiplicarse indefinidamente en cultivo y se pueden obtener de tejidos sanos o tumorales. Algunas líneas celulares continuas pueden presentar potencial actividad oncogénica en ciertas condiciones.

Cultivo celular de producción - Cultivo de células derivado de uno o varios envases del banco de trabajo de células o de células primarias, destinado al uso en la producción.

Células control - Una cantidad de células dejadas aparte, en el momento de la inoculación del virus, como control de células no infectadas. Estas células se someten a incubación en condiciones equivalentes a las usadas para los cultivos celulares de producción.

Cosecha única - Producto derivado en una o más ocasiones de un sólo cultivo celular de producción inoculado con el mismo lote semilla de trabajo o con una suspensión derivada de dicho lote, sometido a incubación y cosechado en una única operación de producción.

Mezcla de cosechas monovalente - Una mezcla de cosechas que contiene una sola cepa o tipo de microorganismo o de antígeno, derivada de huevos,

de cultivos celulares, etc., procesados al mismo tiempo.

Vacuna final a granel - Producto que ha experimentado todos los pasos de fabricación a excepción del envasado final. Consiste en una o más mezclas de cosechas monovalentes, procedentes de cultivos de una o de varias especies o tipos de microorganismos, después de la clarificación, dilución o adición de coadyuvantes o de otras sustancias auxiliares, o tras otras operaciones. Se somete a un tratamiento que asegure su homogeneidad y se utiliza para el llenado de los envases de uno o más lotes finales.

Vacunas bacterianas - Suspensiones de distinto grado de opacidad en líquidos incoloros o casi incoloros. Pueden presentarse también en forma liofilizada. La concentración de bacterias vivas o inactivadas se expresa en términos de unidades de opacidad o, cuando sea apropiado, se determina por conteo directo de células o por conteo de viables para bacterias vivas.

Toxoides bacterianos - Son preparados a partir de toxinas por disminución de su toxicidad a niveles no detectables o por eliminación completa de la misma por procedimientos químicos o físicos manteniendo las propiedades inmunogénicas. Las toxinas son obtenidas a partir de cepas específicas de microorganismos. El método de producción es tal que el toxoide no revierta a toxina. Los toxoides pueden ser líquidos o liofilizados. Pueden ser purificados y adsorbidos. Los toxoides adsorbidos son suspensiones de partículas blancas o grises dispersas en líquido incoloro o amarillo pálido y pueden formar un sedimento en el fondo del envase.

Vacunas virales - Son preparadas a partir de virus desarrollados en animales, en huevos fertilizados, en cultivos celulares adecuados o en tejidos adecuados o por cultivos de células obtenidas por ingeniería genética. Pueden presentarse en forma de líquido de variada opacidad o como liofilizado. Las preparaciones líquidas y liofilizadas luego de la reconstitución pueden ser coloreadas si se ha utilizado en el medio de cultivo un indicador de pH tal como rojo fenol.

Algunas vacunas o sus componentes pueden ser obtenidas a partir de técnicas de biotecnología y deben responder a lo establecido para los productos biotecnológicos.

PRODUCCIÓN

Consideraciones generales

Los requisitos para la producción, incluyendo los controles en proceso están incluidos en las monografías individuales.

Salvo casos justificados y autorizados, las vacunas son preparadas utilizando un sistema de lote

semilla. Los métodos de preparación deben ser diseñados de forma de mantener las propiedades inmunogénicas y obtener una preparación inocua libre de contaminación con agentes extraños.

Salvo caso justificado y autorizado, en la producción de un lote final de vacuna el número de pasajes del virus o el número de subcultivos de la bacteria a partir del lote semilla maestro no debe ser mayor al utilizado para la producción de la vacuna usada en ensayos clínicos para demostrar seguridad y eficacia.

Las vacunas deben, hasta donde sea posible, estar libres de ingredientes conocidos que causen reacciones tóxicas, alérgicas u otras reacciones indeseables en el hombre. Pueden ser incorporados aditivos adecuados, incluyendo estabilizantes y adyuvantes. No puede utilizarse penicilina ni estreptomycinina en ninguna etapa de la producción ni pueden ser agregadas al producto final; sin embargo, los lotes semilla maestro preparados con medio conteniendo penicilina o estreptomycinina pueden ser utilizados para la producción cuando se encuentre justificado y autorizado.

Sustrato para la propagación

Las células usadas para la propagación deben cumplir con los requisitos de 1125. *Sustratos Celulares para la Producción de Vacunas de uso Humano*. El procesamiento de los bancos celulares o de subsecuentes cultivos celulares debe realizarse bajo condiciones de asepsia en un área donde no se manipulen otras células. El suero y la tripsina utilizadas en la preparación de suspensiones celulares deben demostrar estar libres de agentes extraños, incluyendo controles para prevenir transmisión de Enfermedades Espongiformes Bovinas.

Lotes semilla

La cepa de bacteria o virus utilizada en el lote semilla maestro debe ser identificada por registros históricos documentados que incluyan información del origen de las cepas y su subsecuente manipulación. Se deben tomar medidas apropiadas para asegurar que no se encuentra presente en el lote semilla otro microorganismo que la cepa semilla.

Medio de cultivo

Debe estar, hasta donde sea posible, libre de ingredientes que causen reacciones tóxicas, alérgicas u otras reacciones indeseables en el hombre; si fuera necesaria la inclusión de estos ingredientes se debe demostrar que la cantidad presente en el lote final es reducida a un nivel tal que resulte en un producto seguro. En el medio de crecimiento para cultivos celulares se puede emplear suero animal aprobado (pero no humano), pero no el medio utilizado para el mantenimiento del crecimiento celular

durante la multiplicación del virus que no debe contener suero, salvo caso indicado. El medio de cultivo celular puede contener un indicador de pH tal como rojo de fenol y antibióticos aprobados a la concentración efectiva más baja, aunque es preferible tener un medio libre de antibióticos durante la producción.

Multiplicación y cosecha

Los cultivos semilla se deben propagar y cosechar bajo condiciones definidas. La pureza de la cosecha se debe verificar por ensayos apropiados según se indica en la monografía individual.

Células control

Los controles celulares para vacunas producidas en cultivos celulares se deben mantener y controlar según se indica en la monografía individual. Para obtener un control válido las células deben ser mantenidas en condiciones que sean rigurosamente idénticas que las utilizadas para la producción de cultivos celulares, incluyendo el uso de los mismos lotes de medio y los cambios de medios.

Huevos control

Para vacunas vivas producidas en huevos, los huevos control deben ser incubados y analizados según se indica en la monografía individual.

Purificación

Donde sean pertinentes, se deben emplear procedimientos de purificación validados.

Inactivación

Las vacunas inactivadas deben ser producidas utilizando procesos de inactivación validados cuyas efectividades y consistencia hayan sido demostradas. Donde haya contaminantes potenciales reconocidos de una cosecha, por ejemplo en vacunas producidas en huevos provenientes de gallinas no libres de patógenos especificados (SPF), el proceso de inactivación también debe estar validado con respecto a potenciales contaminante. El ensayo para inactivación debe ser realizado tan pronto como sea posible después del proceso de inactivación, salvo caso justificado y autorizado.

Estabilidad de productos intermedios

Durante la producción de vacunas, los productos intermedios se obtienen en varias etapas y deben ser almacenados a veces por largos períodos. Algunos de estos productos intermedios incluyen:

- lotes semilla,
- cosechas vivas o inactivadas de cultivos bacterianos o virales,
- cosechas purificadas que pueden consistir en toxinas o toxoides, polisacáridos, suspensiones bacterianas o virales,
- antígenos purificados,

- antígenos adsorbidos,
- polisacáridos conjugados,
- vacuna final a granel,
- vacuna en el envase final cerrado almacenada a una temperatura inferior de la utilizada para los estudios de estabilidad y destinada a ser liberada sin re-análisis.

Excepto cuando se utilicen en un período corto de tiempo, se deben realizar estudios de estabilidad en productos intermedios en las condiciones de almacenamiento propuesta para establecer el grado de degradación.

Para la vacuna final a granel, se pueden realizar estudios de estabilidad en muestras representativas en condiciones equivalentes a las propuestas a ser utilizadas para el almacenamiento. Para cada producto intermedio (excepto para los lotes semilla) se aplica, cuando sea apropiado en base a los estudios de estabilidad, un período de validez para las condiciones propuestas de almacenamiento.

Granel final

El granel final se debe preparar por mezclado de los ingredientes de la vacuna en forma aséptica.

Ayudantes

Las vacunas pueden ser adsorbidas en soportes inertes tales como hidróxido de aluminio, fosfato de aluminio, fosfato de calcio u otro adyuvante que hayan demostrado ser adecuados para su uso en humanos. El adyuvante se debe preparar en condiciones especiales que le confieran apropiada forma física y propiedades adsorptivas. El desarrollo de nuevos adyuvantes requiere que se cuente con toda la información propia del adyuvante y su comportamiento con el antígeno que se unirá.

Conservantes antimicrobianos

Se utilizan conservantes antimicrobianos para prevenir el deterioro o efectos adversos causados por contaminación microbiana ocurrida durante el uso de la vacuna. Los conservantes antimicrobianos no se incluyen en los productos liofilizados. La inclusión de conservantes antimicrobianos no es aceptada en preparaciones líquidas monodosis. Para las preparaciones líquidas multidosis se evalúa la necesidad de un conservante antimicrobiano teniendo en cuenta la contaminación durante el uso y el período máximo recomendado antes de la apertura por primera vez del envase. Si se utiliza un conservante antimicrobiano se debe demostrar que éste no perjudica la seguridad o eficacia de la vacuna. No es normalmente aceptable el agregado de antibióticos como conservantes antimicrobianos.

Durante los estudios de desarrollo se debe demostrar la efectividad del conservante antimicrobiano seleccionado a lo largo del período de validez

que será autorizado por la Autoridad Sanitaria al momento del registro.

La eficacia del conservante antimicrobiano se evalúa como se indica en *Eficacia en 80. Conservantes*.

Lote final

Para vacunas de administración parenteral se debe preparar el lote final por distribución aséptica del granel final en envases estériles con cierre inviolable, los que luego de la liofilización deben ser cerrados de manera tal de evitar la contaminación.

Para vacunas de administración por una vía no parenteral los lotes finales deben ser preparados por distribución del granel final bajo condiciones apropiadas en envases estériles de cierre inviolable.

Grado de adsorción

Durante el desarrollo de la vacuna adsorbida se evalúa el grado de adsorción como parte del análisis de consistencia o de homogeneidad. Se establece una especificación para el grado de adsorción en base a los resultados encontrados para los lotes utilizados en los ensayos clínicos. A partir de los datos de estabilidad generados para la vacuna se debe demostrar que al final del período de validez el grado de adsorción no debe ser menor que el de los lotes empleados en ensayos clínicos.

Estabilidad

Durante los estudios de desarrollo, se debe demostrar que la potencia del lote final se mantiene a lo largo del período de validez. La pérdida de potencia en las condiciones de almacenamiento recomendadas es evaluada y la pérdida excesiva, incluso dentro de los límites de aceptación de la potencia, puede indicar que la vacuna no es aceptable.

Fecha de vencimiento

Salvo que se establezca, la fecha de vencimiento se calcula a partir del comienzo de la valoración o a partir del comienzo de la primera valoración para una vacuna combinada. Para las vacunas almacenadas a temperatura menor a la utilizada para los estudios de estabilidad y propuestas para la liberación sin re-análisis, la fecha de vencimiento se calcula a partir de la fecha que se retiran del almacenamiento en frío. Si para una vacuna dada, la valoración no se realiza, la fecha de vencimiento se calcula a partir de la fecha de aprobación del ensayo indicador de la estabilidad o, si este faltase, a partir de la fecha de liofilizado, o de la fecha de llenado en el envase final. Para vacunas combinadas, cuando los componentes son presentados en envases separados, la fecha de vencimiento será la del componente que expire primero.

La fecha de vencimiento es aplicada a vacunas almacenadas en las condiciones indicadas.

Ensayos en animales

Para la protección de animales vertebrados utilizados para experimentación y otros propósitos científicos, los ensayos deben ser realizados de manera de utilizar la mínima cantidad de animales y causar el menor sufrimiento, angustia o daño terminal. El criterio para juzgar ensayos en las monografías debe aplicarse en base a estas consideraciones. Por ejemplo, si se indica que un animal es el parámetro para demostrar positividad, infección etc, tan pronto cuando ocurran los signos clínicos típicos o la muerte y se obtiene la indicación suficiente de los resultados positivos, el animal en cuestión debe ser destruido humanamente o darle el tratamiento adecuado para prevenir el sufrimiento innecesario. Pueden utilizarse métodos de ensayos alternativos para demostrar cumplimiento con la monografía y el uso de dichos ensayos es particularmente estimulado cuando lleva al reemplazo o reducción de animales utilizados o la reducción del sufrimiento, a condición de que se halla realizado una validación de estos métodos.

CONSERVACIÓN

Proteger de la luz. Salvo otro caso indicado, la temperatura de almacenamiento debe ser de 5 ± 3 °C. Las vacunas adsorbidas líquidas no se deben congelar.

ENSAYOS

Las vacunas deben cumplir con los ensayos descritos en las monografías individuales. Incluir cuando sea necesario, los siguientes ensayos:

Determinación de agua <120>

No debe contener más de 3,0 % p/p para vacunas liofilizadas, salvo otro caso indicado.

Determinación de aluminio en vacunas adsorbidas

Transferir una porción de la muestra en ensayo, previamente homogeneizada, que contenga aproximadamente 5 a 6 mg de aluminio, a un recipiente de combustión de 50 ml. Agregar 1 ml de ácido sulfúrico, 0,1 ml de ácido nítrico y algunas perlas de vidrio y calentar hasta desprendimiento de vapores blancos densos. [NOTA: si la muestra en ensayo se carboniza, agregar algunas gotas de ácido nítrico y mantener la ebullición hasta decoloración]. Dejar enfriar algunos minutos, agregar con precaución 10 ml de agua y continuar la ebullición hasta obtener una solución límpida. Dejar enfriar, agregar 0,05 ml de naranja de metilo (SR) y neutralizar aproximadamente con 6,5 a 7 ml de una solución de 0,42 g de hidróxido de sodio por ml. Si forma precipitado, disolver el mismo mediante el agregado, gota a gota, de ácido sulfúrico diluido, preparado

disolviendo 5,5 ml de ácido sulfúrico en 100 ml de agua. Transferir la solución obtenida a un erlenmeyer de 250 ml y enjuagar el recipiente de combustión con 25 ml de agua. Agregar 25 ml de edetato disódico 0,02 M, 10 ml de una solución reguladora de acetato (SR1) y algunas perlas de vidrio. Mantener a ebullición suave durante 3 minutos. Agregar 0,1 ml de una solución de 1 mg de 1-(2-piridilazo)-2-naftol por ml de alcohol y titular con sulfato de cobre 0,02 M (SV) hasta viraje a color pardo púrpura. Realizar el ensayo con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada ml de edetato disódico 0,02 M (SV) equivale a 0,5396 mg de aluminio (Al). No debe contener más de 1,25 mg de aluminio (Al) por dosis humana, cuando un adsorbente de aluminio se haya utilizado en la vacuna, salvo otro caso indicado.

Determinación de calcio en vacunas adsorbidas

Homogeneizar una porción de la muestra en ensayo, transferir 1 ml a un recipiente apropiado, agregar 0,2 ml de ácido clorhídrico diluido y diluir a 3 ml con agua. Medir las absorbancias a 620 nm utilizando un espectrofotómetro de absorción atómica (ver *Método I* en 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*) y calcular la cantidad de calcio presente. No debe contener más de 1,3 mg de calcio (Ca) por dosis humana, cuando un adsorbente cálcico se haya utilizado en la vacuna, salvo otro caso indicado.

Formaldehído libre

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, emplear el *Método I*. El *Método II* es conveniente para vacunas a las que se le ha agregado metabisulfito de sodio para neutralizar el exceso de formaldehído.

Método I

Realizar una dilución 1 en 10 de la vacuna en ensayo. Transferir 1 ml de la solución obtenida a un tubo de comparación, agregar 4 ml de agua y 5 ml de una solución de 0,2 ml de acetilacetona en 100 ml de acetato de amonio (SR1). Mantener en un baño de agua a 40 °C durante 40 minutos. Examinar la solución: no debe desarrollar coloración más intensa que la de un control preparado del mismo modo pero con 1 ml de una solución de formaldehído que contenga 20 µg de formaldehído (CH₂O) por ml.

Método II

Soluciones estándar - Preparar soluciones que contengan aproximadamente 0,25; 0,50; 1,00 y 2,00 mg de formaldehído por ml. Realizar una dilución 1 en 200 de cada solución, respectivamente.

Solución muestra - Realizar una dilución 1 en 200 de la vacuna en ensayo. Si la vacuna es una emulsión, realizar una dilución 1 en 20 empleando la fase acuosa obtenida por uno de los siguientes procedimientos: a) agregar 1 ml de la vacuna en ensayo a 1 ml de miristato de isopropilo y mezclar. Agregar 1,3 ml de ácido clorhídrico 1 N, 2 ml de cloroformo y 2,7 ml de una solución de 9 mg de cloruro de sodio por ml. Mezclar y centrifugar a 15.000 g durante 1 hora. Transferir la fase acuosa a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua. Si la separación no se logra, agregar una cantidad adecuada de una solución de 100 mg de polisorbato 20 por ml a la solución de cloruro de sodio empleada y repetir el procedimiento pero centrifugando a 22.500 g; b) agregar 1 ml de la vacuna en ensayo a 1 ml de una solución de 100 mg de cloruro de sodio por ml y mezclar. Centrifugar a 1.000 g durante 15 minutos. Transferir la fase acuosa a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua; c) agregar 1 ml de la vacuna en ensayo a 2 ml de una solución de 100 mg de cloruro de sodio por ml, agregar 3 ml de cloroformo y mezclar. Centrifugar a 1.000 g durante 5 minutos, transferir la fase acuosa a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua.

Procedimiento - Transferir 0,5 ml de la *Solución muestra* y 0,5 ml de cada una de las *Soluciones estándar* a sendos tubos de ensayo, agregar 5 ml de una solución recientemente preparada de 0,5 mg de cloruro de metilbenzotiazolona-hidrazona por ml. Tapar los tubos, agitar y dejar reposar durante 1 hora. Agregar 1 ml de cloruro férrico-ácido sulfámico (SR) y dejar reposar durante 15 minutos. Medir la absorbancia a 628 nm (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*), realizar la curva de calibración con las *Soluciones estándar* y calcular el contenido de formaldehído en la vacuna en ensayo. El ensayo sólo es válido si el coeficiente de correlación de la curva de calibración es mayor de 0,97.

La vacuna no debe contener más de 0,2 g por litro de formaldehído libre en el producto final, cuando se haya utilizado formaldehído en la preparación de la vacuna, salvo otro caso indicado.

Fenol

Soluciones estándar - Preparar una serie de soluciones de *Fenol* que contengan aproximadamente 5, 10, 15, 20 y 30 µg de fenol por ml.

Solución muestra - Homogeneizar una porción de la muestra en ensayo, preparar una solución que contenga aproximadamente 15 µg de fenol por ml.

Procedimiento - A 5 ml de la *Solución muestra* y a 5 ml de cada *Solución estándar*, agregar 5 ml de *Solución reguladora alcalina de borato pH 9,0* (ver

Soluciones reguladoras), 5 ml de aminopirazolona (SR) y 5 ml de una solución de ferricianuro de potasio al 5,3 %. Dejar reposar durante 10 minutos y medir la absorbancia a 546 nm. Realizar una curva de calibración y calcular el contenido de fenol en la porción en ensayo. La vacuna no debe contener más de 2,5 g por litro en el producto final, cuando se haya utilizado fenol en la preparación de la vacuna, salvo otro caso indicado.

ROTULADO

Indicar en el rótulo el nombre de la preparación; una referencia identificando el lote final; la dosis humana recomendada y la ruta de administración; las condiciones de almacenamiento; la fecha de vencimiento; el nombre y la cantidad de cualquier conservante antimicrobiano utilizado; el nombre de cualquier antibiótico, adyuvante, saborizante o estabilizador presente en la vacuna; el nombre de cualquier constituyente que pueda causar reacciones adversas y cualquier contraindicación para el uso de la vacuna.

Para vacunas liofilizadas, indicar el nombre o composición y el volumen del líquido reconstituyente a ser agregado; indicar el tiempo dentro del cual la vacuna puede ser utilizada luego de la reconstitución.

1030. CRIADEROS DE POLLOS LIBRES DE PATOGENOS ESPECIFICADOS PARA LA PRODUCCIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DE LAS VACUNAS

Cuando se especifica en una monografía, los pollos, embriones o cultivos de células utilizados para la producción o control de calidad de vacunas se deben obtener a partir de huevos producidos por criaderos de pollos libres de patógenos especificados (LPE).

PRINCIPIOS GENERALES Y MÉTODOS

Un grupo de pollos LPE se define como aquel conjunto de aves de un mismo criadero y que por tanto comparten el mismo ambiente y son atendidos por las mismas personas, las cuales no tienen contacto con ningún otro grupo de pollos que no sea LPE.

Para los criaderos LPE establecidos sobre una base de rotación, la eclosión y la cría de todos los reemplazos se deben realizar siempre en el gallinero de ambiente controlado.

El criadero debe mantenerse en condiciones que reduzcan al mínimo el riesgo de contaminación. No puede estar situado en la proximidad de criaderos de aves no-LPE, debiendo disponer de instalación de aislamiento provista de aire filtrado con presión positiva. Se deben tomar las medidas oportunas para impedir el acceso de roedores, aves silvestres, insectos y personas no autorizadas.

El personal cuya entrada esté autorizada no debe tener ningún contacto con otras aves o con agentes que pudieran infectar al criadero. Se recomienda al personal al cuidado del criadero ducharse y cambiarse de ropa o vestir ropa de protección antes de entrar en la instalación de cría de los pollos.

Los objetos que se introducen en el gallinero deben estar esterilizados. El alimento debe someterse a un tratamiento adecuado a fin de evitar la introducción de microorganismos indeseables, y el agua debe ser clorada. No se debe administrar medicación que pueda interferir con la detección de enfermedades en el criadero.

Debe llevarse un registro permanente del estado de salud general del criadero, investigándose cualquier anomalía que surja. Los factores objeto de seguimiento incluyen la morbilidad, la mortalidad, el estado físico general, el consumo de alimento, la producción diaria de huevos y la calidad, fertilidad y capacidad de eclosión de los mismos. Los huevos sucios deben descartarse; puede desinfectarse la superficie de los huevos limpios mientras están todavía calientes.

El criadero se inicia con animales, para los que se haya demostrado que están libres de agentes infecciosos de transmisión vertical.

1125. SUSTRATOS CELULARES PARA LA PRODUCCIÓN DE VACUNAS DE USO HUMANO

El presente texto establece los requisitos generales para líneas celulares diploides y líneas celulares continuas usadas en la producción de vacunas.

Línea celular diploide

Una línea celular diploide debe tener una alta pero finita capacidad de multiplicación *in vitro*.

Línea celular continua

Una línea celular continua debe tener la capacidad de multiplicarse indefinidamente *in vitro*, las células a menudo presentan diferencias en el cariotipo respecto a las células originales. Para vacunas inyectables producidas en líneas celulares continuas, debe validarse el proceso de purificación para demostrarse la remoción del DNA del sustrato celular a un nivel equivalente de 10 ng por dosis humana.

Sistema de banco de células

La producción de vacunas en líneas celulares diploides y en líneas celulares continuas se basa en el sistema de banco de células. La edad *in Vitro* de las células debe contarse a partir del banco maestro de células. Debe documentarse el uso, identidad y control de inventario de cada envase del banco maestro de células.

Medios de cultivo y sustancias de origen animal

Debe registrarse detalladamente la composición de los medios usados para el aislamiento y cultivo de células. En caso de utilizar sustancias de origen animal, las mismas deben ser libres de agentes extraños. Si se utiliza albúmina humana debe cumplir los requisitos de *Solución de Albúmina Humana*. El suero bovino usado para la preparación y mantenimiento de cultivos celulares debe ser estéril y libre de virus bovinos. La tripsina usada en la preparación de cultivos celulares debe ser estéril y libre de micoplasmas y virus.

Semilla celular

Los datos necesarios para evaluar la adecuabilidad de la semilla celular comprenden fuente, historia y caracterización de la misma.

Fuente de la semilla celular - Para líneas celulares de origen humano debe registrarse la siguiente información sobre el donante: origen geográfico y étnico, edad, sexo, condición fisiológica general, tejido u órgano usado, resultado de todos los ensayos para patógenos. Para líneas celulares de origen animal debe registrarse la siguiente información sobre la fuente de células:

especie, cepa, origen geográfico, edad, sexo, condición fisiológica general, tejido u órgano usado, resultado de todos los ensayos para patógenos. No pueden utilizarse para la producción de vacunas células de origen neural ya que las mismas pueden contener agentes transmisores de encefalopatías espongiiformes.

Historia de la semilla celular - Debe registrarse el método usado para aislar la semilla, métodos de cultivo y otros procedimientos usados para establecer el banco maestro de células.

Caracterización de la semilla celular -

- identidad de las células (por ejemplo mediante estudio de isoenzimas, serología o estudio de ADN)
- características de crecimiento y propiedades morfológicas
- cariotipo para líneas celulares diploides
- velocidad de duplicación para líneas celulares diploides.

Estabilidad del sustrato celular

Debe demostrarse la adecuada viabilidad de la línea celular en las condiciones de almacenamiento establecidas.

Agentes infecciosos extraños

Las líneas celulares usadas en la producción de vacunas deben estar libres de agentes infecciosos extraños. Dependiendo del origen y la historia del cultivo puede ser necesario llevar a cabo ensayos para contaminantes potenciales específicos., particularmente aquellos que pueden estar presentes en la especie de origen.

Tumorigenicidad

Las líneas celulares usadas para la producción de vacunas vivas no deben ser tumorigenic. Cuando se utilice una línea celular tumorigenica para la producción de otros tipos de vacuna, debe validarse el proceso de purificación para demostrar que el DNA residual del sustrato celular se reduce a menos de 10 ng por dosis.

Caracterización cromosómica

Para el caso que no se haya validado la remoción de células intactas durante el procesamiento posterior a la cosecha se debe llevar a cabo la caracterización de la línea celular diploide mediante análisis del cariotipo.

ENSAYOS

Identificación

Analizar el patrón de ácidos nucleicos y una selección cuidadosa de los siguientes ensayos:

- características bioquímicas (análisis de isoenzimas)
- características inmunológicas (antígenos de histocompatibilidad)
- marcadores citogenéticas.

Células contaminantes

El análisis del patrón de ácidos nucleicos llevado a cabo para la identificación también puede servir para demostrar la ausencia de células contaminantes.

Contaminación bacteriana y fúngica

El banco maestro de células y cada banco de trabajo de células deben cumplir con los requisitos de 370. *Ensayos de esterilidad* usando para cada medio 10 ml del sobrenadante fluido de los cultivos celulares. Realizar el ensayo sobre el 1 % de los envases con un mínimo de dos envases.

Micoplasmas

El banco maestro de células y cada banco de trabajo de células deben cumplir con los requisitos de 336. *Ensayo de Micoplasmas*.

Agentes extraños en cultivos celulares

Las células deben cumplir con los requisitos de *Virus hemadsorbentes* y *Agentes extraños en cultivos celulares en Cultivo celular de producción* en 415. *Ensayos para agentes extraños en vacunas virales de uso humano*.

Co-cultivo

Co-cultivar las células con otros sistemas celulares, incluyendo células humanas y células de simio. Examinar para detectar posibles cambios morfológicos y realizar los ensayos para determinar virus hemaglutinantes. Las células deben cumplir con los requisitos si no se encuentra evidencia de presencia de agentes extraños.

Retrovirus

Investigar la presencia de retrovirus usando ensayos de infectividad y microscopía electrónica. En caso de que ambos ensayos den resultados negativos, llevar a cabo la investigación de transcriptasa reversa (en presencia de magnesio y manganeso) sobre el pellet obtenido por centrifugación a alta velocidad.

Ensayos en animales

Inyectar por vía intramuscular (en el caso de ratones lactantes, por vía subcutánea profunda), al menos 10^7 células viables a cada uno de los siguientes grupos de animales repartidas por igual entre los animales de cada grupo:

- (a) dos camadas de ratones lactantes de menos de 24 h de edad, incluyendo al menos 10,
- (b) 10 ratones adultos,

Inyectar por vía intracerebral 10^6 células viables en cada uno de diez ratones adultos para detectar la presencia posible de virus de la coriomeningitis linfocítica. Observar los animales durante al menos 4 semanas. Estudiar los animales que enferman o manifiestan cualquier anomalía para establecer la causa de estos trastornos. Las células cumplen con los requisitos si no se encuentran indicios de la presencia de cualquier agente extraño. El ensayo sólo es válido si al menos el 80 por ciento de los animales de cada grupo permanece sano y sobrevive durante todo el período de observación.

Ensayos en huevos

Inyectar al menos 10^6 células viables en la cavidad alantoica de cada uno de diez huevos embrionados de gallina LPE de 9 a 11 días y en la yema de cada uno de diez huevos embrionados de gallina LPE de 5 a 6 días. Incubar durante no menos de 5 días. Analizar los fluidos alantoicos en busca de la presencia de hemaglutininas utilizando eritrocitos de ave, realizar el ensayo a 5 ± 3 °C y a una temperatura comprendida entre 20 y 25 °C y leer los resultados después de 30 y 60 minutos. Las células cumplen el ensayo si no se encuentran indicios de la presencia de cualquier agente extraño. El ensayo sólo es válido si al menos un 80 por ciento de los embriones permanecen sanos y sobreviven durante todo el período de observación.

Ensayo para tumorigenicidad *in vitro*

Realizar alguno de los sistemas de ensayos siguientes:

- Formación de colonias en gel de agar blando
- Producción de crecimiento celular invasivo luego de la inoculación en órganos
- Estudio de la actividad de transformación usando, por ejemplo, el sistema de ensayo 3T3 para oncogenes activos.

VACUNA ANTIGRI PAL ANTÍGENOS DE SUPERFICIE, INACTIVADA

Vaccinum influenzae inactivatum ex corticis antigeniis praeparatum

Definición - La Vacuna Antigripal, antígenos de superficie, inactivada es una suspensión estéril de una o varias cepas del virus de la gripe de los tipos A o B, o una mezcla de ambos, cultivadas individualmente en huevos embrionados de pollo, inactivadas y tratadas de forma que se obtenga una preparación consistente fundamentalmente en los antígenos hemaglutinina y neuraminidasa, sin disminuir las propiedades antigénicas de los mismos. Debe contener 15 µg de antígeno hemaglutinina por dosis para cada cepa presente, a no ser que las evidencias clínicas sugieran el empleo de una cantidad diferente; y puede contener un adyuvante. La Vacuna Antigripal, antígenos de superficie, inactivada debe cumplir con las siguientes especificaciones.

PRODUCCIÓN

El método de producción debe estar validado para demostrar que el producto, al ser analizado, cumple con 360. *Ensayo de toxicidad anormal* y 745. *Vacunas de uso humano*.

Elección de la cepa vacunal

[NOTA: la Organización Mundial de la Salud, con los resultados de laboratorios de los países revisa anualmente la situación epidemiológica en el mundo recomendando sobre la base de la evidencia epidemiológica prevalente, si es necesario, las nuevas cepas que integran la vacuna para la estación.]

Las cepas deben provenir de centros de referencia reconocidas internacionalmente y deben contar con la aprobación para la producción de las autoridades sanitarias competentes. Actualmente, es una práctica común el empleo de cepas *reasociadas* (con intercambio de segmentos genéticos) que producen rendimientos elevados de los antígenos de superficie adecuados. La autoridad competente debe aprobar el origen y la sucesión de pases de cada cepa de virus utilizada para la vacuna.

Sustrato para la multiplicación del virus

La semilla del virus utilizado para la producción de vacuna, se debe preparar cultivando en huevos embrionados, procedentes de criaderos exentos de patógenos específicos (ver 1030. *Criaderos de pollos libres de patógenos especificados para la producción y control de calidad de las vacunas*) o en cultivos celulares apropiados (ver 1125.

Sustratos celulares para la producción de vacunas de uso humano) tales como fibroblastos de embrión de pollo o células renales de pollo obtenidos de criaderos exentos de patógenos específicos. Para la producción, cada cepa de virus se cultiva en la cavidad alantoidea de huevos embrionados procedentes de criaderos sanos.

Lote semilla del virus

La producción de la vacuna se debe basar en un sistema de lotes semilla. Los lotes semilla de trabajo se deben corresponder a no más de quince pasajes del virus *reasociado* aprobado o del aislamiento del virus aprobado. La vacuna final debe corresponder a un solo pasaje del lote semilla de trabajo. Los antígenos hemaglutinina y neuraminidasa de cada lote semilla son identificados para cepa del virus de la gripe mediante métodos apropiados.

Para la preparación de la mezcla de cosechas monovalentes solamente se pueden emplear lotes semilla de trabajo que cumplan los siguientes requisitos.

Contaminación bacteriana y fúngica

Debe cumplir con 370. *Ensayo de esterilidad*, sembrando 10 ml en cada medio.

Ensayo de micoplasmas <336>

Debe cumplir con los requisitos; sembrando 10 ml.

Multiplicación y cosecha del virus

Se puede agregar un agente antimicrobiano al inóculo. Después de la incubación a temperatura controlada, se deben cosechar los fluidos alantoideos y combinar para obtener una cosecha monovalente (mezcla). Se puede agregar un agente antimicrobiano en el momento de la cosecha. No se puede utilizar penicilina ni estreptomina en ninguna etapa de la producción.

Cosecha monovalente (mezcla)

A los fines de limitar el riesgo de contaminación la inactivación, iniciar lo antes posible después de la preparación. El método de inactivación viral debe estar validado por el fabricante y haber demostrado en tres lotes consecutivos ser capaz de inactivar el virus en forma uniforme. Se deberá demostrar que el método inactiva al virus de la gripe sin destruir su antigenicidad y causar mínima alteración de los antígenos hemaglutinina y neuraminidasa. Además se deberá demostrar también que el proceso es efectivo para la inactivación de virus de leucosis aviares y de micoplasmas. Si esta preparación a granel se almacena después de la inactivación, se deberá conservar a temperatura de 5 ± 3 °C.

Si se emplea solución de formaldehído, la concentración no debe ser mayor de 0,2 g de CH₂O

por litro en cualquier momento de la inactivación; en caso de utilizar betapropiolactona, la concentración no debe ser mayor de 0,1 % v/v, en cualquier momento de la inactivación. Antes o después de realizar el proceso de inactivación, la cosecha monovalente (mezcla) se debe concentrar y purificar por centrifugación de alta velocidad o por otro método apropiado. Se deben fraccionar las partículas virales en sus subunidades integrantes, mediante procedimientos apropiados y luego son purificados de tal manera que la preparación monovalente a granel consiste fundamentalmente en los antígenos hemaglutinina y neuraminidasa.

Para la preparación de lotes finales de vacuna a granel sólo se pueden utilizar cosecha monovalente (mezcla) que cumpla con los siguientes requisitos.

Antígeno hemaglutinina

Determinar el contenido de antígeno hemaglutinina mediante un ensayo de inmunodifusión (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*) por comparación con una preparación de antígeno hemaglutinina de referencia o con una preparación de antígeno calibrada frente a la misma. Realizar el ensayo a una temperatura comprendida entre 20 y 25 °C.

Antígeno neuraminidasa

Confirmar la presencia y el tipo de antígeno neuraminidasa mediante métodos enzimáticos o inmunológicos apropiados en los tres primeros lotes de cosecha monovalente (mezcla), obtenidos con cada lote de siembra de trabajo.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, sembrando 10 ml en cada medio.

Inactivación vírica

Proceder según se indica en *Inactivación vírica* en *Ensayos*.

Pureza

Analizar la pureza de la cosecha monovalente (mezcla) por electroforesis en gel de poliacrilamida o por otro método apropiado. Se deben detectar principalmente los antígenos hemaglutinina y neuraminidasa.

Productos químicos

Determinar los productos químicos utilizados para la desorganización de partículas víricas y purificación, en la cosecha monovalente (mezcla), siendo los límites de los mismos los aprobados por la Autoridad competente.

Vacuna final a granel

Preparar la vacuna final a granel mezclando cantidades adecuadas de cosecha monovalente (mezcla). Para la preparación del lote final, sólo se puede utilizar una vacuna final a granel que cumpla los siguientes requisitos.

Conservantes <80>

Cuando se haya utilizado, determinar el contenido de conservante antimicrobiano por un método químico apropiado. No debe contener menos de 85 por ciento y no más de 115 por ciento de la cantidad declarada.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, sembrando 10 ml en cada medio.

Lote final

La vacuna final a granel se debe distribuir asépticamente en envases estériles, para inyectables, con cierre inviolable. Los envases deben estar cerrados de tal manera de evitar la contaminación. Siempre que el ensayo inactivación viral se haya realizado en cada cosecha monovalente (mezcla), y el ensayo de *Formaldehído libre*, *Ovoalbúmina* y *Proteínas totales* se hayan realizado en la vacuna final a granel con resultados satisfactorios, estos ensayos pueden ser omitidos en el control del lote final.

Si el contenido de ovoalbúmina y formaldehído libre no pueden ser determinados en el lote final debido a interferencias con el adyuvante, los mismos deben ser realizados en *Cosecha Monovalente (mezcla)*, los límites de aceptación establecidos deberán asegurar que los límites en el lote final no serán excedidos.

Si la vacuna contiene un adyuvante, ensayos apropiados para la identidad y otros criterios relevantes de calidad deben ser llevados a cabo en el lote final. Estos ensayos pueden incluir análisis físicos y químicos, determinación del tamaño de partícula y determinación del número de partículas por unidad de volumen.

ENSAYOS

Identificación

Confirmar la especificidad antigénica de la vacuna según se indica en *Valoración*.

Inactivación vírica

Inocular 0,2 ml de Vacuna Antigripal virus fraccionados, inactivada en la cavidad alantoidea de diez huevos embrionados e incubar a una temperatura comprendida entre 33 y 37 °C durante 3 días. El ensayo sólo es válido si sobreviven, como mínimo, 8 de los 10 embriones. Recolectar 0,5 ml de fluidos alantoideo de cada embrión sobreviviente y mezclar. Inocular 0,2 ml de la mezcla de líquidos a otros diez huevos embrionados e incubar a una temperatura comprendida entre 33 y 37 °C durante 3 días. El ensayo sólo es válido si sobreviven, como mínimo, 8 de los 10 embriones. Recolectar 0,1 ml de líquido alantoideo de cada embrión sobreviviente y analizar la presencia de

virus vivo por el ensayo de hemoaglutinación en cada cosecha individual. Si se produce hemoaglutinación en alguno de los fluidos, realizar un nuevo pase del mismo en huevos y un nuevo ensayo de hemoaglutinación: no se debe producir hemoaglutinación.

Proteína total

No debe contener más de 40 µg de proteína distinta de la hemaglutinina por cepa de virus y por dosis humana y, en ningún caso, debe ser mayor de 120 µg de proteína total distinta de la hemaglutinina, por dosis humana.

Ovoalbúmina

No más de 1 µg de ovoalbúmina por dosis humana, determinada por un método inmunoquímico apropiado (ver 635. *Método inmunoquímico*) y utilizando una preparación de referencia de ovoalbúmina apropiada.

Formaldehído libre

Proceder según se indica *Formaldehído libre* en *Vacunas de uso humano*.

Conservantes <80>

Cuando se haya utilizado, determinar el contenido de conservante antimicrobiano por un método químico apropiado. El contenido no debe ser menor que la cantidad mínima establecida como efectiva y no mayor de 115 por ciento de la cantidad indicada en el rótulo.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

No más de 100 U.I. por dosis humana.

VALORACIÓN

Determinar el contenido de antígeno hemaglutinina por un ensayo de inmunodifusión (ver 635. *Métodos Inmunoquímicos*) en comparación con una preparación de referencia de antígeno hemaglutinina, o con una preparación antigénica que haya sido calibrada frente a ella. Realizar el ensayo a una temperatura comprendida entre 20 y 25 °C. El intervalo de confianza del ensayo ($P = 0,95$) debe estar comprendido entre el 80 por ciento y el 125 por ciento del contenido estimado. El límite de confianza inferior ($P = 0,95$) no debe ser menor de 80 por ciento de la cantidad indicada en el rótulo.

ROTULADO

Indicar en el rótulo que la Vacuna Antigripal antígenos de superficie, inactivada ha sido preparada en huevos, la cepa o cepas del virus de la gripe utilizados en su preparación, el nombre y la cantidad de adyuvante utilizado, el método de

inactivación y el contenido de hemaglutinina en µg por cepa del virus por dosis. Indicar en el rótulo la estación del año durante la cual la vacuna protege.

VACUNA ANTIGRI PAL ANTÍGENOS DE SUPERFICIE, INACTIVADA, VIROSOMA

Vaccinum influenzae inactivatum ex corticis antigeniis praeparatum virosomale

Definición - La Vacuna Antigripal, antígenos de superficie, inactivada, virosoma es una suspensión estéril de una o varias cepas del virus de la gripe de los tipos A o B, o una mezcla de ambos, cultivadas individualmente en huevos embrionados de pollo, inactivadas y tratadas de forma que se obtenga una preparación consistente fundamentalmente en los antígenos hemaglutinina y neuraminidasa reconstituidas en virosomas con fosfolípidos, sin disminuir las propiedades antigénicas de los mismos. Debe contener 15 µg de antígeno hemaglutinina por dosis para cada cepa presente, a no ser que las evidencias clínicas sugieran el empleo de una cantidad diferente. La Vacuna Antigripal, antígenos de superficie, inactivada, virosoma debe cumplir con las siguientes especificaciones.

PRODUCCIÓN

Consideraciones generales

El método de producción ha demostrado ser uniforme en la obtención de vacunas que cumplen con los requisitos de eficacia, e inocuidad en humanos.

El método de producción debe estar validado para demostrar que el producto, al ser analizado, cumple con 360. *Ensayo de toxicidad anormal* y 745. *Vacunas de uso humano*.

Elección de la cepa vacunal

Proceder según se indica en *Elección de la cepa vacunal* en *Vacuna Antigripal antígeno de superficie inactivada*.

Sustrato para la multiplicación del virus

Proceder según se indica en *Sustrato para la multiplicación del virus* en *Vacuna Antigripal antígeno de superficie inactivada*.

Lote semilla del virus

Proceder según se indica en *Lote semilla del virus* en *Vacuna Antigripal antígeno de superficie inactivada*.

Multiplicación y cosecha del virus

Proceder según se indica en *Multiplicación y cosecha del virus* en *Vacuna Antigripal antígeno de superficie inactivada*.

Cosecha monovalente (mezcla)

A los fines de limitar el riesgo de contaminación la inactivación, iniciar lo antes posible después de la preparación. El método de inactivación viral debe estar validado por el fabricante y haber demostrado en tres lotes consecutivos ser capaz de inactivar el virus en forma uniforme. Se deberá demostrar que el método inactiva al virus de la gripe sin destruir su antigenicidad y causar mínima alteración de los antígenos hemaglutinina y neuraminidasa. Además se deberá demostrar también que el proceso es efectivo para la inactivación de virus de leucosis aviares y de micoplasmas. Si esta preparación a granel se almacena después de la inactivación, se deberá conservar a temperatura de 5 ± 3 °C.

Si se emplea solución de formaldehído, la concentración no debe ser mayor de 0,2 g de CH₂O por litro en cualquier momento de la inactivación; en caso de utilizar betapropiolactona, la concentración no debe ser mayor de 0,1 % v/v, en cualquier momento de la inactivación. Antes o después de realizar el proceso de inactivación, la cosecha monovalente (mezcla) se debe concentrar y purificar por centrifugación de alta velocidad o por otro método apropiado.

Para la preparación de virosomas sólo se pueden utilizar cosecha monovalente (mezcla) que cumpla con los siguientes requisitos.

Antígeno hemaglutinina

Determinar el contenido de antígeno hemaglutinina mediante un ensayo de inmunodifusión (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*) por comparación con una preparación de antígeno hemaglutinina de referencia o con una preparación de antígeno calibrada frente a la misma. Realizar el ensayo a una temperatura comprendida entre 20 y 25 °C.

Antígeno neuraminidasa

Confirmar la presencia y el tipo de antígeno neuraminidasa mediante métodos enzimáticos o inmunológicos apropiados en los tres primeros lotes de cosecha monovalente (mezcla), obtenidos con cada lote de siembra de trabajo.

Inactivación vírica

Proceder según se indica en *Inactivación vírica* en *Ensayos*.

Preparación de los virosomas monovalentes

Se deben fraccionar las partículas virales en sus subunidades integrantes, mediante un detergente apropiado y purificado tal manera que la preparación monovalente a granel consiste fundamentalmente en los antígenos hemaglutinina y neuraminidasa.

Los virosomas se forman luego de la adición de los fosfolípidos apropiados, solubilización por ultrasonificación, filtración estéril y remoción del detergente por cromatografía de absorción o por otra técnica aceptable. Se pueden mezclar varios virosomas monovalentes

Para la producción del lote final de vacuna a granel solo se puede utilizar virosomas monovalentes que cumplan con los siguientes requisitos.

Contenido de Antígeno Hemaglutinina

La determinación del contenido de antígeno hemaglutinina se efectúa por un método de inmunodifusión por comparación con el antígeno hemaglutinina de referencia o contra el antígeno calibrado contra este. Realizar el ensayo a una temperatura comprendida entre 20 y 25 °C.

Antígeno neuraminidasa

Confirmar la presencia y el tipo de antígeno de neuraminidasa mediante métodos enzimáticos o inmunológicos apropiados en los tres primeros lotes de la cosecha monovalente mezcla obtenidos con cada lote de siembra de trabajo.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, sembrando 10 ml en cada medio.

Pureza

Examinar la pureza de las preparaciones virosomales en gel de poliacrilamida o en otras técnicas aprobadas. Deben estar presentes mayoritariamente antígenos hemaglutininas y neuraminidasas.

Residuos químicos

Los ensayos para los químicos usados deben realizarse durante el proceso y deben estar dentro de los límites aprobados para cada producto particular.

Fosfolípidos

Determinar el contenido de identidad de los fosfolípidos por métodos inmunoquímicos o fisicoquímicos.

Relación fosfolípidos/hemaglutininas

La relación del contenido de fosfolípidos y el contenido de hemaglutininas debe estar dentro de los límites de cada producto en particular

Distribución del tamaño del virosoma

Determinar la distribución del tamaño del virosoma por un método apropiado tal como difracción de la luz láser. No debe ser menor de 100 nm y no mayor de 500 nm.

Vacuna final a granel

Se mezclan cantidades apropiadas de las preparaciones virosomales para obtener el granel final de vacuna

Para la preparación del lote final, sólo se puede utilizar una vacuna final a granel que cumpla los siguientes requisitos.

Conservante antimicrobiano <80>

Cuando se haya utilizado, determinar el contenido de conservante antimicrobiano por un método químico apropiado. No debe contener menos de 85 por ciento y no más de 115 por ciento de la cantidad declarada.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, sembrando 10 ml en cada medio.

Lote final

La vacuna final a granel se debe distribuir asépticamente en envases estériles, para inyectables, con cierre inviolable. Los envases deben estar cerrados de tal manera de evitar la contaminación. Solo el lote final que cumple con los requisitos en *Ensayos* y *Valoración* pueden ser liberados para su uso. Siempre que el ensayo *Inactivación vírica* se haya realizado en cada cosecha monovalente (mezcla), y los ensayos de *Formaldehído libre*, *Ovoalbúmina* y *Proteínas totales* se hayan realizado en la vacuna final a granel con resultados satisfactorios, estos ensayos pueden ser omitidos en el control del lote final.

ENSAYOS

Identificación

Confirmar la especificidad antigénica de la vacuna según se indica en *Valoración*.

Inactivación vírica

Proceder según se indica en *Inactivación vírica* en *Vacuna Antigripal antígenos de superficie, inactivada*.

Determinación del pH <250>

Entre 6,5 y 7,8.

Proteína total

No debe contener más de 40 µg de proteína distinta de la hemaglutinina por cepa de virus y por dosis humana y, en ningún caso, más de 120 µg de proteína total distinta de la hemaglutinina, por dosis humana.

Fosfolípidos

Determinar el contenido de identidad de los fosfolípidos por métodos inmunoquímicos (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*) o fisicoquímicos.

Relación fosfolípidos/hemaglutininas

La relación del contenido de fosfolípidos y el contenido de hemaglutininas debe estar dentro de los límites de cada producto en particular.

Formaldehído libre

Proceder según se indica *Formaldehído libre* en 745. *Vacunas de uso humano*.

Conservantes <80>

Cuando se haya utilizado, determinar el contenido de conservante antimicrobiano por un método químico apropiado. El contenido no debe ser menor que la cantidad mínima establecida como efectiva y no mayor de 115 por ciento de la cantidad declarada en el rótulo.

Ovoalbúmina

No más de 50 ng de ovoalbúmina por dosis humana, determinada por un método inmunoquímico apropiado (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*) y utilizando una preparación de referencia de ovoalbúmina apropiada.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Distribución del tamaño del virosoma

Determinar la distribución del tamaño del virosoma por un método apropiado como tal como difracción de luz láser. Debe estar comprendido entre de 100 nm y 500 nm.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 100 U.I. por dosis humana.

VALORACIÓN

Determinar el contenido de antígeno hemaglutinina por un ensayo de inmunodifusión (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*), mediante comparación con una preparación de referencia de antígeno hemaglutinina, o con una preparación antigénica que haya sido calibrada frente a ella. Realizar el ensayo a una temperatura comprendida entre 20 y 25 °C. El intervalo de confianza del ensayo ($P = 0,95$) debe estar comprendido entre el 80 por ciento y el 125 por ciento del contenido estimado. El límite de confianza inferior ($P = 0,95$) no debe ser menor de 80 por ciento de la cantidad indicada en el rótulo para cada cepa.

ROTULADO

Indicar en el rótulo que la Vacuna Antigripal antígenos de superficie, inactivada, virosoma ha sido preparada en huevos, la cepa o cepas del virus de la gripe utilizados en su preparación, el nombre y la cantidad de adyuvante utilizado, el método de inactivación y el contenido de hemaglutinina en μg por cepa del virus por dosis. Indicar en el rótulo la estación del año durante la cual la vacuna protege.

VACUNA ANTIGRI PAL VIRUS FRACCIONADOS, INACTIVADA

*Vaccinum influenzae inactivatum ex virorum
fragmentis praeparatum*

Definición - La Vacuna Antigripal virus fraccionados, inactivada es una suspensión acuosa estéril de una o varias cepas del virus de la gripe de los tipos A o B o una mezcla de ambos, cultivadas individualmente en huevos embrionados de pollo, inactivadas y tratadas de tal forma que se rompa la integridad de las partículas virales, sin disminuir las propiedades antigénicas de los antígenos hemaglutinina y neuraminidasa. Debe contener 15 µg de antígeno hemaglutinina por dosis para cada cepa presente, a no ser que las evidencias clínicas sugieran el empleo de una cantidad diferente. La Vacuna Antigripal virus fraccionados, inactivada debe cumplir con las siguientes especificaciones.

PRODUCCIÓN

Consideraciones generales

El método de producción debe estar validado para demostrar que el producto, al ser analizado, cumple con 360. *Ensayo de toxicidad anormal* y 745. *Vacunas de uso humano*.

Elección de la cepa vacunal

Proceder según se indica en *Elección de la cepa vacunal* en *Vacuna Antigripal, antígenos de superficie, inactivada*.

Sustrato para la multiplicación del virus

Proceder según se indica en *Sustrato para la multiplicación del virus* en *Vacuna Antigripal, antígenos de superficie, inactivada*.

Lote semilla del virus

Proceder según se indica en *Lote semilla del virus* en *Vacuna Antigripal, antígenos de superficie, inactivada*.

Multiplicación y cosecha del virus

Proceder según se indica en *Multiplicación y cosecha del virus* en *Vacuna Antigripal, antígenos de superficie, inactivada*.

Cosecha monovalente (mezcla)

A los fines de limitar el riesgo de contaminación, iniciar la inactivación lo antes posible después de la preparación. El método de inactivación viral debe estar validado por el fabricante, debe haber demostrado en tres lotes consecutivos ser capaz de inactivar el virus en forma uniforme. Se deberá demostrar que el

método inactiva al virus de la gripe sin destruir su antigenicidad y con la mínima alteración de los antígenos hemaglutinina y neuraminidasa. Además el proceso debe ser efectivo para la inactivación de virus de leucosis aviares y de micoplasmas. Si la mezcla covalente es almacenada después de la inactivación, se deberá conservar a una temperatura de 5 ± 3 °C.

Si se emplea solución de formaldehído, la concentración no debe ser mayor de 0,2 g de CH₂O por litro en cualquier momento de la inactivación; en caso de utilizar betapropiolactona, la concentración no debe ser mayor de 0,1 % v/v, en cualquier momento de la inactivación. Antes o después de realizar el proceso de inactivación, la cosecha monovalente (mezcla) se debe concentrar y purificar por centrifugación de alta velocidad o por otro método apropiado. Se deben fraccionar las partículas virales en sus subunidades integrantes, mediante procedimientos apropiados. Para cada nueva cepa se debe realizar un ensayo de validación, para demostrar que la monovalente a granel consiste fundamentalmente en partículas virales fraccionadas.

Para la preparación de lotes finales de vacuna a granel sólo se pueden utilizar cosecha monovalente (mezcla) que cumplan con los siguientes requisitos.

Antígeno hemaglutinina

Determinar el contenido de antígeno hemaglutinina mediante un ensayo de inmunodifusión (ver 635. *Métodos Inmunoquímicos*) por comparación con una preparación de antígeno hemaglutinina de referencia o con una preparación de antígeno calibrada frente a la misma. Realizar el ensayo a una temperatura comprendida entre 20 y 25 °C.

Si la forma física de las partículas de hemaglutinina impide el empleo de la inmunodifusión para la determinación cuantitativa del antígeno después de la inactivación del virus, realizar la determinación de antígeno en la cosecha mezcla monovalente antes de la inactivación. El proceso de producción debe estar validado para demostrar la apropiada conservación del antígeno hemaglutinina y como indicador apropiado para la formulación, por ejemplo del contenido en proteína.

Antígeno neuraminidasa

Confirmar la presencia y el tipo de antígeno neuraminidasa mediante métodos enzimáticos o inmunológicos apropiados en los tres primeros lotes de la cosecha monovalente (mezcla) obtenidos con cada lote de siembra de trabajo.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, sembrando 10 ml en cada medio.

Inactivación vírica

Proceder según se indica en *Inactivación vírica* en *Ensayos*.

Productos químicos

Determinar los productos químicos utilizados para el fraccionamiento de las partículas virales en la cosecha monovalente (mezcla) siendo los límites de los mismos los aprobados por la autoridad competente.

Vacuna final a granel

Proceder según se indica en *Vacuna final a granel* en *Vacuna Antigripal, antígenos de superficie, inactivada*.

Lote final

La vacuna final a granel se debe distribuir asépticamente en envases estériles, para inyectables, con cierre inviolable. Los envases deben estar cerrados de tal manera de evitar la contaminación.

Solamente los lotes finales que cumplan con los requisitos indicados en *Ensayos* y *Valoración* pueden ser autorizados para su uso.

ENSAYOS

Identificación

Confirmar la especificidad antigénica de la vacuna según se indica en *Valoración*.

Inactivación vírica

Proceder según se indica en *Inactivación vírica* en *Vacuna Antigripal, antígenos de superficie, inactivada*.

Proteína total

No debe contener más de seis veces la cantidad total de hemaglutinina determinada según se indica en *Valoración*, pero en ningún caso, no más de 100 µg de proteína por cepa de virus por dosis humana, y no más de 300 µg de proteína total por dosis humana.

Ovoalbúmina

No más de 1 µg de ovoalbúmina por dosis humana, determinada por método apropiado y utilizando una preparación de referencia de ovoalbúmina apropiada.

Formaldehído libre

Proceder según se indica *Formaldehído libre* en 745. *Vacunas de uso humano*.

Conservantes <80>

Cuando se haya utilizado, determinar el contenido de conservante antimicrobiano por un método químico apropiado. No debe contener menos de la cantidad mínima establecida como efectiva y no más de 115 por ciento de la cantidad declarada en el rotulo.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

No más de 100 U.I. por dosis humana.

VALORACIÓN

Determinar el contenido de antígeno hemaglutinina por un ensayo de inmunodifusión (ver 635. *Métodos Inmunoquímicos*) en comparación con una preparación de referencia de antígeno hemaglutinina, o con una preparación antigénica que haya sido calibrada frente a ella. Realizar el ensayo a una temperatura comprendida entre 20 y 25 °C. El intervalo de confianza del ensayo ($P = 0,95$) debe estar comprendido entre el 80 por ciento y el 125 por ciento del contenido estimado. El límite de confianza inferior ($P = 0,95$) no debe ser menor de 80 por ciento de la cantidad indicada en el rótulo.

Si no es posible realizar la determinación cuantitativa de antígeno hemaglutinina por comparación con una preparación de referencia, realizar una identificación inmunológica del antígeno hemaglutinina y una determinación semicuantitativa de su contenido por métodos apropiados.

ROTULADO

Indicar en el rótulo que la Vacuna Antigripal virus fraccionados, inactivada ha sido preparada en huevos, la cepa o cepas del virus de la gripe utilizados en su preparación, el método de inactivación y el contenido de hemaglutinina en µg por cepa del virus por dosis. Indicar en el rótulo la estación del año durante la cual la vacuna protege.

VACUNA BCG LIOFILIZADA

Vaccinum tuberculosis (BCG) cryodesiccatum

Definición - La Vacuna BCG Liofilizada es una preparación de bacterias vivas liofilizadas, de virulencia atenuada que provienen de un cultivo del bacilo de Calmette y Guérin (*Mycobacterium bovis* BCG), sobre la que se ha demostrado su capacidad para proteger al hombre contra la infección tuberculosa. La Vacuna BCG Liofilizada debe cumplir con las siguientes especificaciones.

PRODUCCIÓN

Consideraciones generales

La vacuna BCG liofilizada debe ser producida por un equipo de personas saludables que no trabajen con otros agentes infecciosos, en particular no deben trabajar con cepas virulentas de *Mycobacterium tuberculosis* ni estar expuestas a un riesgo conocido de infección tuberculosa. El personal deberá ser controlado periódicamente para tuberculosis. La vacuna BCG liofilizada es sensible a la luz solar; tanto los cultivos como las vacunas se deben proteger de la luz solar directa y de la luz ultravioleta en todas las etapas de producción, control y almacenamiento. La vacuna se debe preparar a partir de un sistema de lote semilla. Se debe demostrar que el método de producción produce vacuna BCG en forma consistente y que la misma induce una adecuada sensibilidad para la tuberculina en el hombre, es segura y tiene una potencia protectora aceptable en animales. La vacuna se debe preparar a partir de cultivos derivados de la semilla maestra con el menor número de subcultivos posibles y en ningún caso debe superar a ocho subcultivos. En el curso de estos subcultivos, la preparación solo puede ser liofilizada una vez.

Si en lugar del recuento de viables se utiliza la bioluminiscencia o cualquier otro método bioquímico, el método usado debe estar validado contra el método de recuento de viables para cada etapa del proceso en la que se utilice.

Lotes semilla bacteriana

La cepa utilizada para establecer el lote semilla maestra se debe seleccionar y mantener de manera que estén preservadas sus características, su capacidad de sensibilizar al hombre a la tuberculina, de proteger a los animales de la tuberculosis, y la ausencia relativa de patogenicidad para el hombre y para los animales de laboratorio. La cepa utilizada debe ser identificada mediante registros históricos documentados, que incluyan información sobre su origen y posterior manipulación.

Se debe preparar un lote de vacuna, a partir del primer lote semilla de trabajo que se reserva para ser utilizado como vacuna de comparación. Cuando se establece un nuevo lote semilla de trabajo, se debe realizar un ensayo de hipersensibilidad retardada en cobayos, sobre un lote de vacuna obtenido del nuevo lote semilla de trabajo; la vacuna debe demostrar que no es significativamente diferente en actividad a la vacuna de comparación.

Para la multiplicación de la cepa se debe utilizar un lote semilla que cumpla con los siguientes requisitos.

Identificación

Identificar las bacterias del lote semilla de trabajo como *Mycobacterium bovis* BCG empleando técnicas microbiológicas que pueden ser complementadas con técnicas de biología molecular.

Contaminación bacteriana y fúngica

Proceder según se indica en 370. *Ensayos de esterilidad*, empleando 10 ml para cada medio. El lote semilla de trabajo debe cumplir el ensayo de esterilidad excepto por la presencia de micobacterias.

Micobacterias virulentas

Examinar el lote de semilla de trabajo según se indica en el ensayo de *micobacterias virulentas* descripto para el lote final, utilizando diez cobayos.

Multiplicación y cosecha

Las bacterias se deben cultivar en un medio apropiado, durante no más de 21 días, por cultivo en superficie o en profundidad.

Los medios de cultivo no deben contener sustancias que provoquen reacciones alérgicas o tóxicas en el hombre o que den lugar a que las bacterias adquieran virulencia para los cobayos. El cultivo se debe cosechar y suspender en un medio líquido estéril que proteja la viabilidad de la vacuna determinada mediante un método apropiado para el recuento de bacterias viables.

Vacuna final a granel

La vacuna final a granel se prepara a partir de una cosecha única o por mezcla de varias cosechas individuales. Se puede agregar un estabilizador. Si el estabilizador interfiere con la determinación de la concentración bacteriana en el granel, la determinación de esta concentración debe ser realizada antes de la adición del mismo.

Para la preparación del lote final, sólo se puede utilizar una vacuna final a granel que cumpla los siguientes requisitos.

Contaminación bacteriana y fúngica

Proceder según se indica en 370. *Ensayos de esterilidad*, empleando 10 ml para cada medio. La vacuna final a granel debe cumplir el ensayo de

esterilidad excepto por la presencia de micobacterias.

Recuento de unidades viables

Determinar el número de unidades viables por ml, por recuento de las colonias sobre un medio sólido utilizando un método adecuado para la vacuna o por un adecuado método bioquímico. Realizar el ensayo en paralelo en una preparación de referencia de la misma cepa.

Concentración bacteriana

Determinar la concentración bacteriana total por un método apropiado, directamente por determinación de la masa de microorganismos o indirectamente por un método de opacidad calibrado en relación a la masa de microorganismos; si la concentración se mide antes de la adición del estabilizador, la concentración en la vacuna final a granel se establece por cálculo. La concentración bacteriana total debe estar comprendida entre los límites aprobados para cada producto específico. La relación entre el número de unidades viables y la concentración bacteriana total no debe ser menor de la aprobada para cada producto específico.

Lote final

La vacuna final a granel se debe distribuir en envases estériles y liofilizar hasta alcanzar un contenido en humedad residual favorable a la estabilidad de la vacuna; los envases se deben cerrar al vacío o bajo un gas inerte que no altere la vacuna. Cuando los envases llenos y cerrados, se conserven a una temperatura igual o menor de -20 °C, la fecha de caducidad no debe ser mayor de 4 años a partir de la fecha de cosecha.

Solamente se puede utilizar un lote final que satisfaga el recuento de unidades viables y cada uno de los requisitos especificados en *Ensayos y Valoración*. Si el ensayo de micobacterias virulentas, se ha realizado en la vacuna final a granel y resulta satisfactorio, se puede omitir su realización en el lote final.

El ensayo de *Reactividad dérmica excesiva* se puede omitir en el lote final si se ha realizado sobre el lote semilla de trabajo y sobre cinco lotes finales consecutivos derivados de dicho lote semilla con resultado satisfactorio.

Recuento de unidades viables

Determinar el número de unidades viables por ml en la vacuna BCG liofilizada reconstituida, por recuento de colonias en medio sólido, utilizando un método adecuado para la vacuna en ensayo.

ENSAYOS

Identificación

Realizar la identificación de la vacuna BCG liofilizada mediante observación microscópica, por

tinción de los bacilos, para demostrar su propiedad de resistencia al ácido y por el aspecto característico de las colonias en cultivos en medio sólido. Alternativamente se pueden utilizar técnicas de biología molecular.

Micobacterias virulentas

Inyectar una cantidad de vacuna equivalente a no menos de 50 dosis humanas por vía subcutánea o intramuscular, a seis cobayos de 250 a 400 g de peso que no hayan recibido ningún tratamiento que pudiera interferir con el ensayo. Observar los animales durante no menos de 42 días. Después de este tiempo, sacrificar los animales e investigar por autopsia signos de infección tuberculosa, ignorando cualquier reacción leve que pueda aparecer en el punto de la inoculación. Los animales que mueren durante el período de observación también deben ser examinados para signos de tuberculosis. La vacuna cumple con el ensayo si ninguno de los cobayos presenta signos de tuberculosis y si no muere más de un animal durante el período de observación. Si dos animales mueren durante este período y la autopsia no revela ningún signo de tuberculosis, repetir el ensayo en seis cobayos nuevos. La vacuna cumple con el ensayo si no muere más de un animal del segundo grupo durante los 42 días siguientes a la inyección y la autopsia no revela signos de tuberculosis.

Contaminación bacteriana y fúngica

La Vacuna BCG Liofilizada reconstituida debe cumplir con 370. *Ensayos de esterilidad*, excepto por la presencia de micobacterias.

Reactividad dérmica excesiva

Utilizar seis cobayos sanos, blancos o pálidamente coloreados, de no menos de 250 g de peso cada uno y que no hayan recibido ningún tratamiento que pueda interferir en el ensayo. Inyectar, por vía intradérmica, de acuerdo a un plan de randomización, 0,1 ml de la vacuna reconstituida y de diluciones seriadas (1 en 10 sucesivas) de la vacuna en ensayo e idénticas dosis de la vacuna de referencia. Observar las lesiones formadas en los puntos de inyección durante cuatro semanas. La vacuna cumple con el ensayo si la reacción que produce no es marcadamente diferente de la obtenida con la vacuna de referencia.

Estabilidad térmica

Mantener muestras de vacuna liofilizada a 37 °C durante cuatro semanas. Determinar el número de unidades viables en la vacuna sometida a calor y en la no tratada por calor, según se indica en *Valoración*. El número de unidades viables

contenido en la vacuna después del calentamiento no debe ser menor de 20 % del contenido en la vacuna no calentada.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 3,0 % p/p.

VALORACIÓN

Determinar el número de unidades viables en la vacuna reconstituida, por recuento de colonias en medio sólido, utilizando un método adecuado para la vacuna a examinar. El resultado obtenido debe estar comprendido entre el máximo y el mínimo de la cantidad declarada en el rótulo. Determinar en paralelo el número de unidades viables contenido en la vacuna de comparación.

ROTULADO

Indicar en el rótulo el número máximo y mínimo de unidades viables por ml en la vacuna reconstituida. En el rótulo deben figurar las siguientes leyendas: “*Conservar entre 2 y 8°C*”, “*Proteger de la luz solar directa*”.

VACUNA CONTRA LA DIFTERIA, ADSORBIDA

Vaccinum diphtheriae adsorbatum

Definición - La Vacuna contra la Difteria, Adsorbida es una preparación de toxoide diftérico formolizado, adsorbido sobre un soporte mineral. El toxoide formolizado se debe preparar a partir de la toxina producida por cultivo de *Corynebacterium diphtheriae* y debe cumplir con los siguientes requisitos.

PRODUCCIÓN

Consideraciones generales

El método de producción debe estar validado para demostrar que el producto, al ser analizado, cumple con el siguiente requisito.

Toxicidad específica

Seleccionar un grupo de cinco cobayos sanos, de 250 a 350 g de peso, sin tratamiento previo con alguna sustancia que pueda interferir con el ensayo. Inyectar a cada animal por vía subcutánea cinco veces la dosis humana indicada en el rótulo. Si dentro de los 42 días siguientes a la inyección, ninguno de los animales muere o muestra síntomas de toxemia diftérica, la vacuna cumple con el ensayo. Si muere más de un animal por causas inespecíficas, repetir el ensayo una vez; si muere más de un animal esta segunda vez, la vacuna no cumple con el ensayo.

Toxoide diftérico purificado a granel

En la producción de la toxina diftérica a partir de la cual se obtiene el toxoide, debe utilizarse un sistema definido de cultivo con lotes semilla que conserve la toxigenicidad del microorganismo; en caso de ser necesaria, esta toxigenicidad, debe ser restaurada por una reelección deliberada a partir de los lotes semillas. Los cultivos deben realizarse en un medio líquido apropiado y con una cepa altamente toxigénica de *Corynebacterium diphtheriae*, de procedencia e historia documentadas. Al final del periodo de incubación debe comprobarse la pureza de cada cultivo y se deben descartar los cultivos contaminados. El medio conteniendo la toxina se debe cosechar asépticamente y separar de la masa bacteriana tan pronto como sea posible. Se debe determinar el contenido en toxina (Lf por ml) para monitorear la consistencia de la producción. Para la preparación del granel del toxoide purificado se pueden mezclar cosechas individuales de toxina tetánica. La toxina debe purificarse con el objeto de eliminar sustancias que pudieran causar efectos adversos en humanos. La toxina purificada se debe detoxificar por tratamiento con formaldehído por un método que

evite la destrucción de la potencia inmunogénica del toxoide así como su reversión a toxina, particularmente si se expone al calor. También es posible llevar a cabo la purificación después de la detoxificación.

Para la producción de la preparación final de vacuna a granel sólo pueden utilizarse preparaciones de toxoide purificado que cumplan con los siguientes requisitos:

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, sembrando 10 ml en cada medio.

Ausencia de toxina e irreversibilidad del toxoide

Preparar una solución del toxoide purificado a granel de aproximadamente 100 Lf por ml., usando la misma solución reguladora de la vacuna sin adsorbente. Dividir la solución en dos porciones iguales. Conservar una de ellas a 5 ± 3 °C y la otra a 37 °C durante 6 semanas. Realizar el ensayo para la determinación de toxina diftérica activa en células Vero utilizando 50 µl por pocillo de ambas porciones. La muestra no debe contener conservantes antimicrobianos y los agentes detoxificantes deben estar presentes en una concentración menor a la concentración tóxica para células Vero. La toxicidad no específica puede ser eliminada por diálisis.

Utilizar células Vero recientemente tripsinizadas a una concentración adecuada, por ejemplo $2,5 \times 10^5$ cels por ml y toxina diftérica de referencia diluida en el toxoide diftérico 100 Lf por ml. Una toxina diftérica de referencia adecuada debe contener no menos de 100 LD₅₀ por ml o 67 a 133 lr por 100 en 1 Lf y 25.000 a 50.000 dosis mínimas reactivas para piel de cobayos en 1 Lf. Diluir la toxina en toxoide diftérico 100 Lf por ml a una concentración adecuada, por ejemplo 2×10^{-4} Lf por ml. Preparar diluciones seriadas al medio de la toxina diftérica de referencia diluida y usar las muestra a ensayar sin diluir (50 µl por pocillo). Distribuir las en los pocillos de una placa estéril para cultivo celular conteniendo el medio adecuado para células Vero. Para asegurar si cualquier efecto citotóxico encontrado es específico de la toxina diftérica, preparar diluciones en paralelo donde la toxina es neutralizada con una concentración adecuada de antitoxina diftérica, por ejemplo 100 UI por ml. Para verificar el crecimiento normal de las células Vero, incluir en cada placa pocillos de control que no contengan toxoide ni toxina y que contengan un toxoide no tóxico a 100 Lf por ml. Agregar la suspensión celular en cada pocillo, tapar las placas e incubar a 37 °C durante 5 a 6 días. El efecto citotóxico es evidenciado cuando hay una inhibición completa del metabolismo de las células

Vero indicado por el indicador de pH del medio. Confirmar el efecto citotóxico por examen al microscopio o con una tinción adecuada (colorante MTT). El ensayo es no válido si la toxina diftérica de referencia diluida a 5×10^{-5} Lf por ml en toxoide 100 Lf por ml no presenta efecto citotóxico en células Vero o si el efecto citotóxico de esa cantidad de toxina no es neutralizada en los pocillos conteniendo antitoxina diftérica.

El toxoide purificado a granel cumple con el ensayo si no se evidencia toxicidad neutralizable por antitoxina en ambas muestras.

Pureza antigénica

El contenido no debe ser menor de 1.500 Lf por mg de nitrógeno proteico.

Vacuna final a granel

La preparación final de vacuna a granel se obtiene mediante adsorción, de una cantidad apropiada de toxoide purificado a granel (no mayor a 30 Lf), en un soporte mineral como fosfato de aluminio hidratado o hidróxido de aluminio; la mezcla resultante debe ser aproximadamente isotónica con la sangre. Se puede agregar conservantes antimicrobianos adecuados. No se deben emplear algunos conservantes, como los fenólicos porque afectan la actividad antigénica. Para la preparación del lote final sólo pueden utilizarse graneles de vacuna que cumplen con los siguientes requisitos.

Conservantes <80>

Debe contener no menos de 85 % y no más de 115 % de la cantidad declarada.

Ensayo de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, sembrando 10 ml en cada medio.

Lote final

La vacuna final a granel debe ser distribuida asépticamente en envases estériles con cierre inviolable. Los envases deben ser cerrados de tal manera de evitar la contaminación.

Solo los lotes finales que cumplan todos los requisitos pueden ser liberados para su uso. El ensayo para conservantes antimicrobianos (ver 80. *Conservantes*), así como la determinación de la potencia, pueden omitirse en el producto terminado, siempre que se hayan llevado a cabo en la correspondiente preparación final de vacuna a granel con resultados satisfactorios.

El ensayo de *Formaldehído libre* puede omitirse en el producto terminado cuando los ensayos realizados en el toxoide purificado a granel o en la vacuna final a granel cumpla con los requisitos.

ENSAYOS

Identificación

El toxoide diftérico debe ser identificado por un método inmunoquímico apropiado (635. *Métodos inmunoquímicos*) previa desadsorción del soporte mineral utilizado como adyuvante. El siguiente método de desadsorción, aplicable a ciertas vacunas, es dado como ejemplo: disolver, en la vacuna sometida a examen una cantidad suficiente de citrato de sodio para obtener una solución de aproximadamente 100 g por litro. Mantener a 37 °C durante 16 horas y centrifugar hasta obtener un sobrenadante líquido claro que reacciona con una antitoxina diftérica, produciendo un precipitado.

Aluminio

Proceder según se indica en *Determinación de aluminio en vacunas adsorbidas* en 745. *Vacunas de uso humano*.

Formaldehído libre

Proceder según se indica en *Formaldehído libre* en 745. *Vacunas de uso humano*.

Conservantes <80>

Debe contener no menos de la mínima cantidad que haya mostrado ser efectiva y no más de 115 % de la cantidad indicada en el rótulo.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Determinar la potencia de la Vacuna contra la Difteria, adsorbida por comparación de la dosis de vacuna requerida para proteger cobayos de los efectos de una dosis eritrogénica de la toxina diftérica administrada intradérmicamente o de la dosis letal de la toxina diftérica administrada subcutáneamente con la dosis de una preparación de referencia, calibrada en Unidades Internacionales, necesaria para dar la misma protección. La Unidad Internacional es la actividad contenida en una cantidad establecida del Estándar Internacional que consiste en una cantidad de toxoide diftérico adsorbido en hidróxido de aluminio. La equivalencia en Unidades Internacionales del Estándar Internacional es establecida por la Organización Mundial de la Salud.

El diseño del ensayo descrito más adelante sigue un modelo de líneas paralelas con tres diluciones para la preparación a ser ensayada y la preparación de referencia. [NOTA: una vez que se posea suficiente experiencia con este método para una vacuna dada, es posible aplicar un modelo simplificado utilizando una única dilución para ambas preparaciones. Este modelo permite

determinar si la potencia de la muestra es significativamente mayor del mínimo requerido pero no da información sobre la linealidad, paralelismo y curva dosis respuesta.]

Método de desafío intradérmico

Selección y distribución de animales para el ensayo - Utilizar en el ensayo cobayos blancos sanos provenientes del mismo stock y de un tamaño adecuado para el número de sitios de desafío. La diferencia de masa corporal entre el animal más pesado y el más liviano no debe ser mayor de 100 g. Distribuir los cobayos en no menos de seis grupos iguales; utilizar grupos conteniendo un número de animales suficiente para obtener resultados que cumplan los requerimientos para un ensayo válido descriptos más adelante. Si la toxina de desafío a ser utilizada no ha mostrado ser estable o no ha sido adecuadamente estandarizada incluir 5 cobayos como control no vacunados. Utilizar cobayos del mismo sexo o machos y hembras igualmente distribuidos entre los grupos.

Selección de la toxina de desafío - Seleccionar una preparación de toxina diftérica conteniendo 67 a 133 lr/100 en 1 Lf y 25.000 a 50.000 dosis mínimas reactivas para la piel de los cobayos en 1 Lf. Si la preparación de la toxina de desafío ha demostrado ser estable no es necesario verificar la actividad en todos los ensayos.

Preparación de la solución de la toxina de desafío - Diluir inmediatamente antes de utilizar la toxina de desafío con un diluyente adecuado para obtener una solución conteniendo 0,0512 Lf en 0,2 ml. Preparar a partir de esta una serie de cinco diluciones seriadas al cuarto conteniendo alrededor de 0,0128; 0,0032; 0,0008; 0,0002 y 0,00005 Lf en 0,2ml.

Determinación de la potencia de la vacuna - Utilizando una solución de 9 g de cloruro de sodio por litro preparar diluciones de la vacuna en ensayo y de la preparación de referencia, de forma tal que para cada una, las diluciones formen una serie difiriendo por no más de 2,5 veces y en la cual las diluciones intermedias, cuando son inyectadas subcutáneamente a una dosis de 1,0 ml por cobayo, resulten en un puntaje intradérmico de aproximadamente 3 cuando los animales son desafiados. Asignar 1 dilución a cada grupo de cobayos e inyectar subcutáneamente 1,0 ml de cada dilución en cada cobayo. Después de 28 días, afeitar ambos flancos de cada cobayo e inyectar intradérmicamente 0,2 ml de cada una de las 6 diluciones de toxina en seis sitios separados en cada uno de los cobayos vacunados de manera de minimizar interferencias entre los sitios adyacentes.

Determinación de la actividad de la toxina de desafío - Si es necesario, inyectar los animales control no vacunados con diluciones conteniendo 80, 40, 20, 10 y 5 millones de un Lf de la toxina de desafío.

Lectura e interpretación de los resultados - Examinar todos los sitios de inyección 48 horas después de la inyección de la toxina de desafío y registrar la incidencia de eritema específico de difteria. Registrar también el número de sitios libres de esas reacciones como el puntaje intradérmico de desafío. Tabular conjuntamente los puntajes de desafío intradérmico para todos los animales que recibieron la misma dilución de vacuna y utilizar esos datos con una transformación adecuada, tal como $(\text{puntaje})^2$ o $\arcseno((\text{puntaje}/6)^2)$ para obtener un estimado de la potencia relativa para cada una de las preparaciones por análisis cuantitativo de líneas paralelas.

El ensayo sólo es válido si para la vacuna en ensayo y la preparación de referencia, el puntaje medio obtenido al menor nivel de dosis es menor de 3 y el puntaje medio al mayor nivel de dosis es mayor de 3; cuando corresponda, la dilución de la toxina que contiene 40 millones de un Lf da un eritema positivo en al menos 80 % de los cobayos control y la dilución conteniendo 20 millones de un Lf que da un eritema positivo en no menos de 80 % de los cobayos (si este criterio no es alcanzado se debe seleccionar una toxina diferente); los límites de confianza ($P=0.95$) son no menos de 50 % y no más de 200 % de la potencia estimada; el análisis estadístico no debe mostrar desviación de la linealidad y del paralelismo.

El ensayo puede ser repetido pero cuando se realiza más de 1 ensayo los resultados de todos los ensayos válidos deben ser combinados para la estimación de la potencia.

Método de desafío letal

Selección y distribución de los animales para el ensayo - Utilizar en el ensayo cobayos sanos provenientes del mismo stock, de 250 g a 350 g de peso. Distribuir los cobayos en no menos de 6 grupos iguales; utilizar grupos conteniendo un número de animales suficiente para obtener resultados que cumplan los requisitos para un ensayo válido descriptos más adelante. Si la toxina de desafío a ser utilizada no ha mostrado ser estable o no ha sido adecuadamente estandarizada, incluir 4 grupos más de 5 cobayos como control no vacunados. Utilizar cobayos del mismo sexo o machos y hembras igualmente distribuidos entre los grupos.

Selección de la toxina de desafío - Seleccionar una preparación de toxina diftérica conteniendo no

menos de 100 LD₅₀ por ml. Si la preparación de la toxina de desafío ha demostrado ser estable no es necesario verificar la dosis letal para cada ensayo.

Preparación de la solución de la toxina de desafío - Diluir inmediatamente antes de utilizar la toxina de desafío con un diluyente adecuado para obtener una solución conteniendo aproximadamente 100 LD₅₀ por ml. Cuando sea necesario, diluir porciones de la solución de la toxina de desafío 1 en 32, 1 en 100 y 1 en 320 con el mismo diluyente.

Determinación de la potencia de la vacuna - Utilizando una solución de 9 g de cloruro de sodio por litro, preparar diluciones de la vacuna en ensayo y de la preparación de referencia, de forma tal que para cada una, las diluciones formen una serie difiriendo por no más de 2,5 veces y en la cual las diluciones intermedias, cuando son inyectadas subcutáneamente a una dosis de 1,0 ml por cobayo protejan aproximadamente el 50 % de los animales de los efectos letales de la inyección subcutánea de la cantidad de toxina diftérica indicada para ensayo. Asignar 1 dilución a cada grupo de cobayos e inyectar subcutáneamente 1,0 ml de cada dilución en cada cobayo. Después de 28 días inyectar subcutáneamente en cada animal 1,0 ml de la solución de toxina de desafío (100 LD₅₀).

Determinación de la actividad de la toxina de desafío - Si es necesario, asignar la solución de la toxina de desafío y 3 diluciones realizadas a partir de esta, 1 a cada uno de los cuatro grupos de 5 cobayos e inyectar subcutáneamente 1,0 ml de cada solución en cada cobayo en el grupo en la cual esa solución fue asignada.

Lectura e interpretación de los resultados - Contar el número de cobayo sobrevivientes a 4 días después de la inyección de la toxina de desafío. Calcular la potencia relativa de la vacuna a ser examinada con respecto a la preparación de referencia en base a la proporción de animales sobrevivientes en cada uno de los grupos de cobayos vacunados, utilizando los métodos estadísticos usuales.

El ensayo sólo es válido si para la vacuna en ensayo y la preparación de referencia, la dosis protectora del 50 % cae entre la mayor y la menor dosis de las preparaciones dadas a los cobayos; cuando corresponda, el número de animales que muere en los cuatro grupos de 5 inyectados con la solución de la toxina de desafío y sus diluciones indican que la dosis de desafío es aproximadamente 100 LD₅₀; los límites de confianza (P=0.95) no deben ser menos de 50 % y no más de 200 % de la potencia estimada; el análisis estadístico no debe mostrar desviación de la linealidad y del paralelismo. El ensayo puede ser repetido pero cuando se realiza más de 1 ensayo los resultados de

todos los ensayos válidos deben ser combinados para la estimación de la potencia.

El límite de confianza inferior (P = 0,95) de la potencia estimada debe ser no menor de 30 UI por dosis humana.

ROTULADO

Indicar en el rótulo el número mínimo de U.I. por dosis humana, el nombre y la cantidad del adyuvante. Indicar en el rótulo que la vacuna es destinada para inmunización primaria de niños o para adultos. En el rótulo deben figurar las siguientes leyendas: “*Agitar antes de su uso*”; “*No congelar*”.

VACUNA CONTRA LA DIFTERIA, ADSORBIDA PARA ADULTOS Y ADOLESCENTES

Vaccinum diphtheriae adulti et adulescentis adsorbatum

Definición - La Vacuna Adsorbida contra la Difteria, para adultos y adolescentes, es una preparación de toxoide diftérico formolizado, adsorbido sobre un soporte mineral. El toxoide formolizado se debe preparar a partir de la toxina, producida por cultivo de *Corynebacterium diphtheriae* y debe cumplir con los siguientes requisitos.

PRODUCCIÓN

Consideraciones generales

El método de producción debe estar validado para demostrar que el producto, al ser analizado, cumple con el siguiente requisito.

Toxicidad específica

Proceder según se indica en *Toxicidad específica* en *Vacuna contra la Difteria, Adsorbida*.

Toxoide diftérico purificado a granel

Proceder según se indica en *Toxoide difterico purificado a granel* en *Vacuna contra la Difteria, Adsorbida*.

Vacuna final a granel

La preparación final de vacuna a granel se obtiene mediante adsorción de una cantidad apropiada de preparación de toxoide purificado a granel en fosfato de aluminio hidratado o hidróxido de aluminio; la mezcla resultante debe ser aproximadamente isotónica con la sangre. Se pueden agregar conservantes antimicrobianos apropiados. Algunos conservantes como los fenólicos no se deben emplear porque afectan la actividad antigénica. Para la preparación del lote final sólo se pueden utilizar una vacuna final a granel que cumpla con los siguientes requisitos:

Conservantes <80>

Debe contener no menos de 85 % y no más de 115 % de la cantidad declarada.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, sembrando 10 ml en cada medio.

Lote final

Debe cumplir con los requisitos según se indica en *Lote final* en *Vacuna contra la Difteria Adsorbida*.

ENSAYOS

Identificación

El toxoide diftérico debe ser identificado por un método inmunoquímico apropiado (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*) previa desadsorción del soporte mineral utilizado como adyuvante. El siguiente método de desadsorción, aplicable a ciertas vacunas, es dado como ejemplo: disolver, en la vacuna en ensayo una cantidad suficiente de citrato de sodio para obtener una solución de aproximadamente 100 g por litro. Mantener a 37 °C durante 16 horas y centrifugar hasta obtener un sobrenadante líquido claro que reacciona con una antitoxina diftérico, produciendo un precipitado.

En caso de no obtener precipitado; proceder del siguiente modo: centrifugar 15 ml de la vacuna en ensayo; resuspender el residuo en 5 ml de una mezcla recientemente preparada de 1 volumen de una solución de 56 g por litro de edetato disódico y 49 volúmenes de una solución de 90 g por litro de fosfato dibásico de sodio. Mantener a 37 °C por un período no menor a 6 horas y centrifugar hasta obtener un sobrenadante líquido claro que reacciona con una antitoxina diftérico, produciendo un precipitado.

Aluminio

Proceder según se indica en *Determinación de aluminio en vacunas adsorbidas* en 745. *Vacunas de uso humano*.

Formaldehído libre

Proceder según se indica en *Formaldehído libre* en 745. *Vacunas de uso humano*.

Conservantes <80>

Debe contener no menos que la mínima cantidad que haya mostrado ser efectiva y no más de 115 % de la cantidad declarada en el rótulo.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Proceder según se indica en *Valoración* en *Vacuna contra la Difteria, adsorbida*.

El límite de confianza inferior ($P = 0,95$) en la potencia estimada no debe ser menor de 2 U.I. por dosis humana única.

ROTULADO

Indicar en el rótulo el número mínimo de Unidades Internacionales por dosis humana, el nombre y la cantidad del adyuvante. En el rótulo deben figurar las siguientes leyendas: “*Agitar antes de su uso*”; “*No congelar*”.

VACUNA CONTRA HAEMOPHILUS TIPO B, CONJUGADA

Vaccinum haemophili stirpe b coniugatum

Definición - La Vacuna contra Haemophilus tipo B, conjugada es una preparación líquida o liofilizada de un polisacárido obtenido de una cepa apropiada de *Haemophilus influenzae* tipo b, unido por enlace covalente a una proteína transportadora. El polisacárido, fosfato poliribosilribitol, es denominado PRP y es un copolímero lineal compuesto de unidades repetidas de 3-β-D-ribofuranosil-(1→1)-ribitol-5-fosfato [(C₁₀H₁₉O₁₂P)_n] con un tamaño molecular definido. La proteína transportadora cuando se conjuga al PRP tiene capacidad de inducir una respuesta inmune T dependiente a los polisacáridos. La Vacuna contra Haemophilus tipo B, conjugada debe cumplir con las siguientes especificaciones.

PRODUCCIÓN

Consideraciones generales

El método de producción debe demostrar que proporciona de forma homogénea vacunas conjugadas contra el *Haemophilus tipo b*, de adecuada inocuidad e inmunogenicidad para el hombre. La producción de PRP y de la proteína transportadora se debe basar en sistemas de lote semilla. El método de producción debe estar validado para demostrar que el producto, cuando se analiza, cumple con los requisitos de 360. *Ensayo de toxicidad anormal* y 745. *Vacunas de uso humano*.

Durante los estudios de desarrollo y cuando sean necesarios la revalidación de los procesos de elaboración, se debe demostrar mediante ensayos en animales que la vacuna induce en forma consistente una respuesta inmune T dependiente. La estabilidad del lote final y de los intermediarios se debe evaluar mediante uno o más ensayos indicadores. Tales ensayos pueden incluir determinación del tamaño molecular, la determinación del PRP libre en el conjugado y el ensayo de inmunogenicidad en ratón. Las especificaciones de liberación de los lotes se establecen teniendo en cuenta los resultados de los ensayos de estabilidad, con el fin de asegurar que la vacuna será satisfactoria al final del período de validez.

Lotes semilla bacteriana

Los lotes semilla de *H. Influenzae* tipo b deben demostrar que están exentos de contaminación mediante métodos de sensibilidad adecuada. Estos

pueden incluir inoculación en medios apropiados, examinación de la morfología de las colonias, examinación microscópica de los frotis teñidos por coloración de Gram y aglutinación de los cultivos utilizando antisueros específicos adecuados. No debe incluirse ningún producto complejo de origen animal en el medio utilizado para la preservación de la viabilidad de la cepa ni para el almacenamiento del liofilizado o congelado. Es recomendable que el PRP producido por los lotes semilla sean caracterizados utilizando espectrometría de resonancia magnética nuclear.

Polisacárido de *H. Influenzae* tipo b (PRP)

El *H. Influenzae* tipo b se debe cultivar en un medio líquido que no contenga polisacáridos de alto peso molecular; si algún ingrediente del medio contiene sustancias derivadas de sangre, el proceso de fabricación debe ser validado para demostrar que, después de la etapa de purificación, tales sustancias no son detectables. La pureza bacteriológica del cultivo se debe verificar por métodos de sensibilidad apropiados. Estos pueden incluir inoculación en medios apropiados, examinación de la morfología de las colonias, examinación microscópica de los frotis teñidos por coloración de Gram y aglutinación de los cultivos utilizando antisueros específicos adecuados. Se puede inactivar el cultivo. El PRP se debe separar del medio de cultivo y se debe purificar por un método adecuado. Se determina en el polisacárido purificado la materia volátil, incluida el agua, por un método adecuado, tal como por termogravimetría (ver 20. *Análisis térmico*). El resultado se utiliza para calcular los resultados obtenidos de otros ensayos con referencia a la sustancia seca. Para la preparación del conjugado sólo se puede utilizar PRP que cumpla con los siguientes requisitos.

Identificación

Identificar el PRP mediante un método inmunoquímico apropiado (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*) u otro método adecuado, por ejemplo, ¹H espectrometría de resonancia magnética nuclear.

Distribución del tamaño molecular

Determinar por cromatografía de exclusión (ver 100. *Cromatografía*) el porcentaje de PRP eluido con anterioridad a un valor de K_0 determinado o dentro de un intervalo de valores de K_0 ; se establece un valor aceptable para un producto en particular y cada lote de PRP debe cumplir con este límite. Los límites aplicables usualmente a los productos aprobados, utilizando las fases estacionarias indicadas, se muestran a título de información en la *Tabla 1*. Cuando corresponda, la distribución de

pesos moleculares se determina también después de la modificación química del polisacárido.

La cromatografía líquida con detección de dispersión de luz láser de múltiple ángulo puede ser también utilizada para la determinación de la distribución de peso molecular. Se puede utilizar

una determinación validada del grado de polimerización o del peso promedio del peso molecular y de la dispersión de masas moleculares en lugar de la determinación de la distribución del peso molecular.

Tabla 1 - Características del producto y especificaciones del PRP y del proteína transportadora para los productos actualmente aprobados.

Vector			Polisacáridol de <i>Haemophilus</i>		Conjugación	
Tipo	Pureza	Cantidad nominal por dosis	Tipo de PRP	Cantidad nominal por dosis	Método de acoplamiento	Procedimiento
Toxoide diftérico	> 1.500 Lf/mg de nitrógeno	18 µg	PRP tamaño reducido k_D : 0,6-0,7 utilizando agarosa reticulada para cromatografía	25 µg	Activación del PRP con bromuro de cianógeno	Toxoide de la difteria activada (D-AH ⁺), PRP activado con bromuro de cianógeno, vacuna conjugada
Toxoide tetánico	> 1.500 Lf/mg de nitrógeno	20 µg	PRP $\geq 50\%$ $\leq k_D$: 0,3 utilizando agarosa reticulada para cromatografía	10 µg	Mediado por cabodiimida	PRP activado por ADH (PRP cov-AH) + Toxoide tetánico + EDAC-vacuna conjugada
Proteína diftérica CRM 197	> 90 % de proteína diftérica	25 µg	PRP tamaño reducido $D_p = 15-35$ o $10-35$	10 µg	Aminación reductiva (método de un paso) o activación de N-hidroxisuciniimida	Acoplamiento directo del PRP al CRM 197 (cianoborohidruro o activado)
OMP (Complejo proteico de membrana externa Meningococo grupo B)	Vesículas de la membrana proteica externa; $\leq 8\%$ de polisacárido	125µg o 250 µg	PRP tamaño reducido $k_D < 0,6$ utilizando agarosa reticulada para cromatografía $M_w > 50 \times 10^3$	7,5 µg o 15 µg	Enlace tioéter	Activación PRP por CDI PRP-IM + BuA2 + BrAc = PRP-BuA2-BrAc + OMP tioactivado-

ADH = dihidrazida del ácido adípico

BrAc = cloruro de bromoacetilo

BuA2 = butano-1,4-diamida

CDI = carbonildiimidazol

D_p = grado de polimerización

EDAC = 1- etil-3(3-dimetilaminopropil) carbodiimida

IM = imidazol

M_w = masa media del peso molecular

Ribosa

No menos de 32 %, calculado en base a la sustancia seca. Proceder del siguiente modo:

Solución estándar - Disolver 25 mg de ribosa en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Inmediatamente antes de su uso, diluir 1 ml de esta solución a 10 ml con agua. Transferir 0,10 ml; 0,20 ml; 0,40 ml; 0,60 ml; 0,80 ml y 1,0 ml de la solución obtenida a sendos tubos.

Solución muestra - Preparar una solución en un matraz apropiado que contenga 5 mg de polisacárido seco por ml. Transferir cuantitativamente el contenido de un envase de la vacuna a esta solución y diluir a volumen con agua. Diluir la solución tal que el volumen usado en el ensayo contenga 2,5 µg a 25 µg de ribosa. Transferir 0,20 ml y 0,40 ml de la solución obtenida a sendos tubos por triplicado.

Procedimiento - Completar el volumen de cada tubo hasta obtener 2 ml con agua y mezclar. Agregar 2 ml de una solución de 0,5 g de cloruro férrico por litro en ácido clorhídrico a cada tubo y mezclar. Agregar 0,2 ml de una solución de orcinol en alcohol. Colocar los tubos en un baño de agua durante 20 minutos. Colocar en agua congelada. Medir la absorbancia de cada solución a 670 nm usando un blanco preparado con 2 ml agua. Realizar una curva de calibración a partir de las absorbancia medidas para las *Soluciones estándar* en función del correspondiente contenido de ribosa en las mismas y leer a partir de la curva la cantidad de ribosa presente en la muestra de cada volumen ensayado. Calcular el promedio de los tres valores.

Fósforo

Entre 6,8 % y 9,0 %, calculado en base a la sustancia seca. Proceder del siguiente modo.

Solución estándar - Disolver 0,2194 g de fosfato dihidrógeno de potasio en 500 ml en agua hasta obtener una solución conteniendo un equivalente de 0,1 mg de fósforo por ml. Diluir 5,0 ml de la solución a 100 ml con agua. Transferir 0,5 ml; 1,0 ml y 2,0 ml de la solución diluida a 3 tubos de ignición.

Solución muestra - Preparar una solución que contenga 5 mg por ml de polisacárido seco. Transferir cuantitativamente el contenido de un envase de la vacuna al matraz y diluir a volumen con agua. Diluir la solución tal que el volumen usado en el ensayo (1 ml) contenga aproximadamente 6 µg de fósforo. Transferir 1 ml de esta solución a un tubo de ignición de 10 ml.

Procedimiento - Agregar a todos los tubos 0,2 ml de ácido sulfúrico y calentar en un baño de aceite a 120 °C durante 1 hora y luego a 160 °C hasta la aparición de humos blancos

(aproximadamente 1 hora). Enfriar y agregar 0,1 ml de una ácido perclórico y calentar a 160 °C hasta que la solución se decolore (aproximadamente 90 minutos). Enfriar y agregar a cada tubo 4 ml de agua y 4 ml de reactivo de molibdato de amonio. Calentar en baño de agua a 37 °C durante 90 minutos y enfriar. Ajustar el volumen a 10 ml con agua. El color azul desarrollado es estable por algunas horas. Medir la absorbancia de cada solución a 820 nm usando un blanco para compensación de líquido. Realizar una curva de calibración a partir de las absorbancia medidas para las tres *Soluciones estándar* en función de la cantidad de fósforo en dichas soluciones y leer a partir de la curva la cantidad de fósforo presente en la muestra.

Proteínas

No más de 1,0 %, calculado con respecto a la sustancia en base seca. Emplear una cantidad suficiente de PRP que permita la detección de proteínas de una concentración de 1 % o mayor. Proceder del siguiente modo:

Solución estándar - Disolver 0,100 g de albúmina bovina en 100 ml de una solución 0,1 M de hidrogeno de sodio. Diluir 1,0 ml de esta solución en 20 ml de hidrogeno de sodio 0,1 M (solución madre). Diluir 1 ml de esta solución en 4 ml de hidrogeno de sodio 0,1 M (solución diluida). Transferir a seis tubos de vidrio 0,10 ml; 0,20 ml, y 0,40 ml de la solución madre y 0,15 ml, 0,20 ml y 0,25 ml de solución diluida. Completar el volumen de cada tubo hasta 0,40 ml utilizando hidrogeno de sodio 0,1 M.

Solución muestra - Preparar una solución que contenga 5 mg por ml de polisacárido seco. Transferir cuantitativamente el contenido de un envase de la vacuna al matraz y diluir a volumen con agua. Transferir 1 ml de la solución a un tubo de vidrio y agregar 0,15 ml de una solución de 400 g por litro de ácido tricloroacético. Mezclar, dejar en reposo por 15 minutos, centrifugar durante 10 minutos a 5.000 rpm y descartar el sobrenadante. Agregar al precipitado de centrifugación 0,4 ml de hidrogeno de sodio 0,1 M.

Procedimiento - Agregar a todos los tubo 2 ml de solución de tartárico-cúprico, mezclar y dejar en reposo durante 10 minutos. Agregar a cada tubo 0,2 ml de una mezcla de volúmenes iguales de reactivo de fosfomolibdeno-tungstico y agua, preparada inmediatamente antes de su uso. Tapar los tubos y agitar por inversión y mantener en la oscuridad durante 30 minutos. El color azul desarrollado debe ser estable por 60 minutos. Si es necesario centrifugar para obtener una solución más clara. Medir la absorbancia de cada solución a

760 nm usando un blanco preparado empleando 0,4 ml de hidróxido de sodio 0,1 M. Dibujar una curva de calibración a partir de las absorbancia medidas de las 6 soluciones de referencia en función del correspondiente contenido de proteína de dichas soluciones y leer a partir de la curva el contenido de proteína presente en la muestra.

Ácido nucleico

No más de 1,0 %, calculado con respecto a la sustancia seca. Proceder del siguiente modo:

Solución muestra - Preparar una solución que contenga 5 mg por ml de polisacárido seco. Transferir cuantitativamente el contenido de un envase de la vacuna al matraz y diluir a volumen con agua. Diluir la solución muestra si es necesario para obtener un valor de absorbancia adecuado. Medir la absorbancia a 260 nm usando agua como blanco. La absorbancia de una solución de 1 g de ácido nucleico por litro a 260 nm es 20.

Ensayos de endotoxinas bacterianas <330>

No más de 25 U.I. de endotoxina por µg de PRP.

Tabla 2 . Requerimientos del conjugado a granel para los productos actualmente aprobados.

Ensayo	Vector proteico			
	Toxoide diftérico	Toxoide tetánico	CRM 197	OMP
PRP libre	< 37%	< 20 %	< 25%	< 15%
Proteína libre	< 4 %	< 1 %; cuando proceda	< 1% o < 2% según el método de acoplamiento	no aplicable
Relación PRP: proteína	1,25 – 1,8	0,30-0,55	0,3 – 0,7	0,05 – 0,1
<i>agarosa reticulada para cromatografía R</i>	95 % < 0,75	60% < 0,2	50% 0,3 – 0,6	85% < 0,3
<i>agarosa reticulada para cromatografía RI</i>	0,6 – 0,7	85% < 0,5		

En la preparación del conjugado sólo se puede utilizar una proteína transportadora que cumpla con los siguientes requisitos.

Identificación

Identificar la proteína transportadora mediante un método inmunoquímico apropiado (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*)

Ensayos de esterilidad <370>

Realizar el ensayo utilizando para cada medio 10 ml o el equivalente a 100 dosis, eligiendo la cantidad que sea menor.

Toxoide diftérico

Proceder según se indica en *Toxoide diftérico purificado a granel en Vacuna contra la Difteria, Adsorbida*.

Toxoide tetánico

Proceder según se indica en *Toxoide tetánico purificado a granel en Vacuna contra el Tétanos*,

Residuos de reactivos

Cuando se requiera, se efectúan ensayos para determinar residuos de los reactivos utilizados durante la inactivación y purificación. Se establece un valor aceptable para cada reactivo de un producto particular y cada lote de PRP debe cumplir con dichos límites. Si los estudios de validación han demostrado la remoción de un reactivo residual, se puede omitir el ensayo en el PRP.

Proteína transportadora

La proteína transportadora se elige de modo que, una vez conjugada al PRP, sea capaz de inducir una respuesta inmunitaria T dependiente. Las proteínas transportadoras y los métodos de acoplamiento actualmente aprobados se indican, a título de información, en la *Tabla 2*. Las proteínas transportadoras se obtienen por cultivo de microorganismos adecuados. Se debe verificar la pureza bacteriológica del cultivo; éste se puede inactivar; la proteína transportadora debe ser purificada mediante un método apropiado.

Adsorbida. La pureza antigénica no debe ser menor de 1.500 Lf por mg de nitrógeno proteico.

Proteína diftérica CRM 197

Debe contener no menos de 90 % de proteína diftérica CRM 197, determinada mediante un método adecuado. Realizar ensayos adecuados, para la validación o rutina, para demostrar que el producto no es tóxico.

OMP (Complejo proteico de la membrana externa de Neisseria meningococica grupo B)

Debe contener no más de 8 % de lipopolisacárido, determinado por un método apropiado. Debe cumplir con los requisitos de 340. *Ensayo de pirogenos*, inyectando a cada conejo 0,25 µg de OMP por kg de masa corporal.

Conjugado a granel

Para poder ser conjugado, el PRP se modifica químicamente; generalmente se realiza una despolimerización parcial antes o durante la conjugación. Los grupos funcionales reactivos o espaciadores se pueden introducir en la proteína transportadora o en el PRP previamente a la conjugación. Como una medida de consistencia se monitorea el alcance de la derivatización. El conjugado se obtiene por la unión covalente el PRP y la proteína vector. Si se requiere, los grupos funcionales no reactivos pero potencialmente reactogénicos se neutralizan mediante agentes enmascarantes y el conjugado es purificado para eliminar los residuos químicos. Para la preparación de la vacuna final a granel, sólo se puede utilizar un conjugado a granel que cumpla con los siguientes requerimientos. Para cada ensayo de un producto particular se establecen límites de aceptación, y cada lote de conjugado debe cumplir estos límites. Para algunos de estos ensayos, los límites aplicables a los productos aprobados en la actualidad se muestran a título de información en la *Tabla 2*. En el caso de la vacuna liofilizada, algunos de los ensayos se pueden realizar en el lote final antes que en el conjugado a granel, ya que el proceso de liofilización puede afectar el componente a ser ensayado.

PRP

Determinar el contenido de PRP según se indica en *Fósforo, Ribosa* o por un método inmunoquímico (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*)

Proteína

Realizar el método descrito anteriormente.

Relación entre PRP y proteínas

Determinar esta relación por cálculos.

Distribución de tamaño molecular

Proceder según se indica en *Cromatografía por exclusión en 100. Cromatografía*.

PRP libre

El PRP libre es determinado luego de remoción del conjugado, por ejemplo mediante cromatografía de: intercambio aniónico, de exclusión o hidrófoba, por ultrafiltración u otros métodos validados.

Proteína transportadora libre

Determinar el contenido por un método apropiado ya sea por cálculos directos o bien a partir de los resultados de otros ensayos. El contenido debe estar comprendido entre los límites aprobados para el producto particular.

Grupos funcionales no reactivos

El conjugado a granel no debe contener ningún grupo funcional que no haya reaccionado, a menos que en la validación del proceso se demuestre que

los grupos funcionales no reactivos detectados en esta etapa se eliminan en los procesos de fabricación posteriores (por ejemplo, debido a su corto tiempo de vida medio).

Residuos Químicos

La remoción de los reactivos químicos residuales, tales como cianuro, EDAC (etil dimetilaminopropilcarboxi-imida) y fenol, se confirma mediante ensayos adecuados o por validación del proceso.

Ensayos de esterilidad <370>

Realizar el ensayo utilizando para cada medio 10 ml o el equivalente a 100 dosis, eligiendo la cantidad que sea menor.

Vacuna final a granel

Se puede añadir al conjugado a granel, antes de la dilución de la concentración final con un diluyente adecuado, un adyuvante, un conservante antimicrobiano y un estabilizador. En la preparación del lote de vacuna final sólo se puede utilizar una vacuna final a granel que cumpla con los siguientes requisitos.

Conservante antimicrobiano <80>

Cuando se haya utilizado, se debe determinar la cantidad de conservante antimicrobiano por un método químico o fisicoquímico adecuado. El contenido no debe ser menor de 85 por ciento ni mayor de 115 por ciento de la cantidad declarada.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, sembrando 10 ml para cada medio.

Lote final

Sólo se libera para su utilización un lote final de vacuna que cumpla con los requisitos según se indica en *Ensayos*. Si en la vacuna final a granel se ha realizado el ensayo de conservantes antimicrobianos, se pueden omitir estos ensayos en el lote final.

Determinación del pH <250>

Debe encontrarse en el intervalo aprobado para el producto particular.

PRP libre

El PRP libre es determinado luego de remoción del conjugado, por ejemplo mediante cromatografía de: intercambio aniónico, de exclusión o hidrófoba, por ultrafiltración u otros métodos validados. El contenido de PRP libre no es mayor que el aprobado por el producto particular.

ENSAYOS

Identificación

Emplear un método inmunoquímico apropiado (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*) para identificar

Contenido de PRP

No menos de 80 % de la cantidad de PRP indicada en el rótulo. Determinar el PRP según se indica en *Ribosa*, *Fósforo* o por cromatografía líquida de intercambio aniónico con detección por amperímetro de pulso.

Aluminio

Proceder según se indica en *Determinación de aluminio* en 745. *Vacunas de uso humano*.

Conservantes <80>

Cuando se haya utilizado, se debe determinar la cantidad de conservante antimicrobiano por un método químico o fisicoquímico adecuado. El contenido no debe ser menor a la cantidad mínimo que demuestre ser eficaz y no debe ser mayor de 115 % de la cantidad declarada en el rótulo.

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. Para vacunas liofilizadas, no más de 3,0 %.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayos de pirogénos <340>

Inyectar, por kilogramos de masa corporal de conejo, una cantidad de vacuna equivalente a 1 µg de PRP en el caso de vacunas con toxoide diftérico o proteína diftérica CRM 197 utilizada como vector; 0,1 µg de PRP en el caso de vacunas con toxoide tetánico como vector; 0,025 µg de PRP en el caso de vacunas con OMP como vector.

ROTULADO

Indicar en el rótulo la cantidad en µg de PRP por dosis humana, el tipo y cantidad nominal de proteína transportadora por dosis humana.

VACUNA CONTRA LA HEPATITIS A INACTIVADA ADSORBIDA

Vaccinum hepatitis A inactivatum adsorbatum.

Definición - La Vacuna contra la Hepatitis A inactivada adsorbida es una suspensión de la cepa apropiada de virus de hepatitis A, crecida en cultivo celular, inactivada por un método validado y adsorbida en un transportador mineral. La Vacuna contra la Hepatitis A inactivada adsorbida debe cumplir con las siguientes especificaciones.

PRODUCCIÓN

La vacuna debe ser preparada a partir de un sistema de lotes semilla y, de un sistema de banco de células. El método de producción debe ser uniforme en la obtención de vacunas que cumplen con los requisitos de inmunogenicidad, inocuidad y estabilidad.

El método de producción debe estar validado para demostrar que el producto, al ser analizado, cumple con 360. *Ensayo de toxicidad anormal y 745. Vacunas de uso humano.*

A no ser que esté debidamente justificado y autorizado, el virus de la vacuna final no deberá tener un número de pasajes, desde el lote de semilla maestra, mayor al que se empleó para preparar la vacuna que demostró en estudios clínicos ser segura y eficaz.

Preparación de referencia - Debe ser una parte de un lote representativo de la producción, que haya demostrado ser al menos tan inmunogénico en animales como el lote utilizado en ensayo clínicos en jóvenes y adultos sanos, donde haya producido una seroconversión de no menos de 95 %, correspondiente a un nivel de anticuerpo neutralizante reconocido como protector después de un esquema completo de inmunización primaria. Se considera como protector un nivel de anticuerpos circulantes no menor de 20 mUI/ml determinado por ensayo de inmunoanálisis de enzima conjugado (ELISA).

Sustrato para multiplicación del virus

El virus se debe multiplicar en células diploides humanas (ver 1125. *Sustratos celulares para la producción de vacunas de uso humano*) o en cultivos continuos de células aprobadas por la Autoridad Sanitaria competente.

Lote semilla

La cepa del virus de hepatitis A utilizada debe estar identificada por registros históricos que

incluyan información sobre el origen de la cepa y su posterior manipulación.

Para la multiplicación del virus, solamente se puede utilizar un lote semilla de virus que cumpla los siguientes requisitos.

Identificación

Identificar el virus de hepatitis A en los lotes semilla maestros y lotes de semilla de trabajo, utilizando anticuerpos específicos.

Concentración del virus

Controlar la concentración del virus en los lotes semilla y de lote semilla de trabajo para verificar la uniformidad de la producción.

Ensayo para agentes extraños en vacunas virales <415>

El lote de semilla de trabajo debe cumplir con los requisitos para los lotes semilla maestros. Adicionalmente, si se han utilizado cultivos primarios de células de mono para el aislamiento de la cepa, se deberán tomar medidas que aseguren que la cepa no está contaminada por virus de simio tales como inmunodeficiencia de simios o por filovirus.

Multiplicación del virus y cosecha

Todos los procesos del banco celular y posteriores cultivos celulares se deben realizar bajo condiciones de asepsia, en una zona donde no se manejan otros tipos de células. En el medio de crecimiento celular se puede utilizar suero animal adecuado (pero no suero humano). El suero y la tripsina utilizados en la preparación de suspensiones celulares y de medios de cultivo deben estar exentos de agentes extraños. El medio de cultivo celular puede contener un indicador de pH, tal como rojo fenol, así como antibióticos apropiados, en la concentración efectiva más baja. Durante la producción es preferible disponer de un sustrato exento de antibióticos. No menos de 500 ml de la producción de cultivo celular se debe reservar como control de células no infectadas (células control).

Se pueden mezclar varias cosechas del mismo cultivo celular y considerar la mezcla como una cosecha individual. Para la preparación de la vacuna final a granel, solamente se puede utilizar una cosecha viral que cumpla los siguientes requisitos. [NOTA: cuando la determinación de la relación, entre la concentración de virus con el contenido de antígenos, se ha llevado a cabo de manera repetida y uniforme puede subsecuentemente ser omitida en los ensayos de rutina.]

Identificación

Los ensayos utilizados para la identificación del contenido de antígeno también sirven para la identificación en cada cosecha.

Contaminación bacteriana y fúngica

Cada cosecha debe cumplir con 370. *Ensayos de esterilidad*, empleando 10 ml para cada medio.

Ensayo de micoplasmas <336>

Cada cosecha debe cumplir con los requisitos empleando 1 ml de cada medio.

Control de células

Los controles de células de los cultivos células de producción deben cumplir con los ensayos de identificación y requisitos de agentes extraños.

Contenido de antígeno

Monitorear la uniformidad de producción por determinación de contenido de antígeno de hepatitis A por un método inmunoquímico apropiado (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*); el contenido debe estar dentro de los límites aprobados para cada producto en particular.

Relación entre la concentración de virus y el contenido de antígeno

La uniformidad de la relación entre la concentración de virus, determinada por un método de cultivo celular apropiado, y el contenido de antígeno se debe establecer por validación en un número apropiado de cosechas individuales.

Purificación y cosecha purificada

La cosecha, la cual puede ser obtenida de la mezcla de varias cosechas diferentes, debe ser purificada por métodos validados. Si utilizan líneas de cultivos de células continuas para la producción, los procesos de purificación deben haber demostrado reducir de manera importante los niveles de ADN de las células huésped. En la preparación de la cosecha final inactivada a granel, solamente se puede utilizar una cosecha purificada que cumpla con los siguientes requisitos.

Concentración viral

Determinar la concentración en virus en la cosecha purificada, por un método de cultivo celular adecuado, para monitorear la uniformidad de la producción y como punto de partida para monitorear la curva de inactivación.

Relación antígeno y proteína total

Determinar el contenido de antígeno de hepatitis A por un método inmunoquímico apropiado (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*). Determinar el contenido de proteína total por un método validado. La relación entre el contenido de antígeno de hepatitis A y la proteína debe estar comprendido dentro de los límites establecidos para cada producto.

Albumina sérica bovina

No más de 50 ng por dosis humana, determinada mediante un método inmunoquímico apropiado (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*). Para demostrar una purificación efectiva, cuando sea posible de acuerdo a los procesos de manufactura, otros marcadores de proteína apropiados pueden ser usados en forma efectiva.

ADN residual de la célula huésped

Si la vacuna se produce a partir de cultivos de células continuas, el contenido de ADN residual de la célula huésped, determinado por un método adecuado, no debe ser mayor de 100 pg de ADN en la cantidad de antígeno equivalente a una dosis humana de vacuna.

Residuos químicos

Si se han utilizado sustancias químicas durante el proceso de purificación, los controles deben efectuarse en la cosecha del purificado (o en la cosecha del inactivado) salvo que se haya validado que el proceso los ha removido. La concentración de estos residuos no debe ser mayor que la cantidad establecida para cada tipo de producto.

Inactivación y cosecha inactivada

Antes de la inactivación se pueden mezclar varias cosechas purificadas. A los fines de evitar interferencia en el proceso de inactivación deben evitarse la formación de agregados virales, o removerlos inmediatamente antes o durante el proceso de inactivación. El método para la inactivación viral debe estar validado, debe demostrar que en forma uniforme es capaz de inactivar el virus de hepatitis sin destruir la actividad antigénica e inmunogénica; para cada proceso de inactivación se debe trazar una curva de inactivación que represente la concentración del virus residual vivo medida con no menos de tres puntos en el tiempo (ejemplo 0, 1 y 2 días de la inactivación). Cuando se utiliza formaldehído para la inactivación, se debe verificar la presencia en exceso de formaldehído libre al finalizar el proceso de inactivación. En la preparación de la vacuna final a granel, solamente se puede utilizar una cosecha purificada inactivada que satisfaga los siguientes requisitos.

Eficacia de inactivación

Realizar un ensayo de amplificación para la detección de infección residual de virus de hepatitis A por inoculación de una cantidad de la cosecha inactivada equivalente al 5 % del lote o, caso de que la cosecha contenga el equivalente a 30.000 dosis o más, no menos de 1.500 dosis de vacuna, en cultivos de células del mismo tipo de las usadas en la producción. Incubar durante 70 días efectuando no menos que un pasaje dentro

de ese período. Al finalizar el período de incubación, realizar un ensayo de sensibilidad apropiado para infección residual viral. En las muestras tomadas al final de la inactivación no debe haber evidencia de multiplicación viral. Emplear como control, virus no infecciosos para demostrar la ausencia de interferencia y la susceptibilidad. Incubar no menos de 70 días, efectuando no menos que un pasaje de células durante este período.

Ensayos de esterilidad <370>

La cosecha de antígeno inactivado debe cumplir con los requisitos, sembrando 10 ml en cada medio.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

No debe contener menos de 2 U.I. equivalente a la dosis humana.

Contenido de antígeno

Emplear un método inmunoquímico apropiado (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*).

Residuos químicos

Proceder según se indica en *Purificación y cosecha purificada*.

Vacuna final a granel

La vacuna final a granel se debe preparar a partir de una o más cosechas inactivadas. Se pueden agregar adyuvantes, estabilizadores y conservantes antimicrobianos. En la preparación del lote final, solamente se puede utilizar vacuna final a granel que cumpla con los siguientes requisitos.

Ensayo de esterilidad <370>

Realizar el ensayo de esterilidad sembrando 10 ml en cada medio.

Conservantes <80>

No debe contener menos de 85 por ciento ni más de 115 por ciento de la cantidad declarada.

Lote final

La vacuna final a granel se debe distribuir asépticamente en envases estériles, para inyectables, con cierre inviolable. Los envases deben estar cerrados de tal manera de evitar la contaminación.

El lote final de vacuna debe cumplir con los requisitos indicados en *Ensayos y Valoración* para ser liberado para su uso. Si los ensayos de *Formaldehído libre* y *80. Conservantes* fueron realizados sobre la vacuna final a granel y dieron resultados satisfactorios, los mismos pueden omitirse en el lote final. Si la *Valoración* se realiza en ratones u otros animales en la vacuna final a granel y cuenta con resultados satisfactorios estos pueden ser omitidos en el lote final.

ENSAYOS

Identificación

Identificar el antígeno de hepatitis A por un método inmunoquímico apropiado (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*) usando anticuerpos específicos o por ensayos en vivo (valoración).

Aluminio

Proceder según se indica en *Determinación de aluminio en vacunas adsorbidas* en 745. *Vacunas para uso humano*.

Formaldehído libre

Proceder según se indica en *Formaldehído libre* en 745. *Vacunas para uso humano*.

Conservantes <80>

Si es aplicable, determinar la cantidad de conservante mediante un método químico o fisicoquímico adecuado. No debe contener menos de la cantidad mínima que demostró ser efectiva ni más de 115 por ciento de la cantidad declarada.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Comparar la capacidad de inducir anticuerpos específicos en ratones con una preparación de referencia in vivo o in vitro, mediante la determinación inmunoquímica del contenido de antígeno.

Ensayo in vivo

El ensayo en ratones es dado como un ejemplo de un método que ha sido encontrado adecuado para una vacuna dada, otros métodos validados pueden también ser usados.

Selección y distribución de los animales en el ensayo - Utilizar en el ensayo ratones sanos del mismo stock, de aproximadamente 5 semanas de edad y de una cepa que ha sido demostrada ser adecuada. Usar animales del mismo sexo. Distribuir los animales en al menos 7 grupos de un número adecuado para cumplir los requerimientos del ensayo.

Determinación de la potencia de - Usando una solución de 9 g/l de cloruro de sodio conteniendo aluminio usado como adyuvante en la vacuna, preparar al menos tres diluciones de la vacuna en ensayo e idénticas diluciones para la preparación de referencia. Asignar las diluciones una para cada uno de los grupos de animales e inyectar subcutáneamente no más de 1,0 ml de cada dilución en cada animal de cada grupo para las cuales ha sido asignada. Mantener un grupo de controles no vacunados, inyectados subcutáneamente con el mismo volumen de diluyente. Después de 28 a 32 días, anestesiarse y

sangrar los animales, manteniendo por separado los sueros individuales. Analizar el suero individual para anticuerpos específicos contra virus Hepatitis A por un método inmunoquímico apropiado.

Cálculos - Realizar los cálculos por un método estadístico usual para el ensayo de respuestas cuantales. A partir de la distribución de niveles de reacciones medidas en todos los sueros de los controles no vacunados, determinar el máximo de nivel reacción que puede esperarse ocurrir en un animal no vacunado para el ensayo en particular. Cualquier respuesta en animales vacunados que excede este nivel es por definición una seroconversión. Hacer una adecuada transformación del porcentaje de animales mostrando seroconversión en cada grupo (por ejemplo por método Probit) y analizar los datos siguiendo un modelo de líneas paralelas de curvas de respuesta vs log de dosis. Determinar la potencia de la preparación a ser examinada relativa a la preparación de referencia.

El ensayo sólo es válido si para la vacuna de referencia y muestra, la ED₅₀ cae entre las dosis más altas y más bajas dadas a los animales; el análisis estadístico no debe mostrar desviación significativa con respecto a la linealidad ni al paralelismo; los límites de confianza ($P=0.95$) no deben ser menos de 33 % y no más de 300 % de la potencia estimada.

Ensayo in vitro

Realizar una determinación inmunoquímica del contenido del antígeno con criterios de aceptación validados contra un ensayo in vivo. Los criterios de aceptación dadas para preparación de referencia serán aprobados por la autoridad competente a la luz de los datos de validación

ROTULADO

Indicar en el rótulo la cantidad de antígeno de Hepatitis por dosis y el tipo de células utilizado para la preparación de la vacuna.

VACUNA CONTRA LA HEPATITIS A, INACTIVADA VIROSOMAL

Vaccinum hepatitis A inactivatum virosomale

Definición - La Vacuna contra la Hepatitis A inactivada virosomal es una suspensión de la cepa de virus apropiado de hepatitis A, crecida en cultivo celular e inactivada por método validado. Los virosomas son compuestos por proteínas de virus de la influenza de una cepa aprobada para un producto particular y con fosfolípidos que son usados como adyuvantes. La Vacuna contra la Hepatitis A inactivada virosomal debe cumplir con los siguientes requisitos.

PRODUCCIÓN

Consideraciones generales

El método de producción debe demostrar ser uniforme en la obtención de vacunas que cumplan con los requisitos de eficacia, e inocuidad en humanos. El método de producción debe estar validado para demostrar que el producto, al ser analizado, cumple los requisitos de 360. *Ensayo de toxicidad anormal*.

Preparación de referencia - La preparación de referencia debe ser una vacuna inactivada de antígeno de hepatitis A calibrada contra un lote de hepatitis A (inactivado virosomal) que en ensayo clínicos en jóvenes y adultos sanos, donde haya producido una seroconversión de no menos de 95 %, correspondiente a un nivel de anticuerpo neutralizante reconocido como protector después de un esquema completo de inmunización primaria. Se considera como protector un nivel de anticuerpos circulantes no menor de 20 mUI/ml determinado por ensayo inmunoanálisis de enzima conjugado (ELISA).

Preparación de antígeno de virus de Hepatitis A

La producción de la vacuna se debe basar en un sistema de lotes semilla y, en un sistema de banco de células. El método de producción debe demostrar la obtención de vacunas uniformes que cumplan con los requisitos de inmunogenicidad, inocuidad y estabilidad.

A no ser que esté debidamente justificado y autorizado, el virus de la vacuna final no deberá tener un número de pasajes, desde el lote de semilla maestro, superior al que se empleó para preparar la vacuna utilizada en estudios clínicos satisfactorios de inocuidad y eficacia.

Sustrato para multiplicación del virus

El virus se debe multiplicar en células diploides humanas (ver 1125. *Sustratos celulares para la producción de vacunas de uso humano*).

Lote semilla

Proceder según se indica en *Lote semilla* en *Vacuna contra la Hepatitis A, inactivada adsorbida*.

Multiplicación del virus y cosecha

Proceder según se indica en *Multiplicación del virus y cosecha* en *Vacuna contra la Hepatitis A, Inactivada Adsorbida*.

Purificación y cosecha purificada

Proceder según se indica en *Purificación y cosecha purificada* en *Vacuna contra la Hepatitis A, Inactivada Adsorbida*.

Inactivación e inactivación de la cosecha

Proceder según se indica en *Inactivación e inactivación de la cosecha* en *Vacuna contra la Hepatitis A, Inactivada Adsorbida*.

Vacuna final a granel

La vacuna final a granel se debe preparar a partir del agregado de virosomas a antígenos de virus de Hepatitis A inactivados en una proporción aprobada de antígeno/virosoma. Se pueden mezclar varios graneles y agregar estabilizadores y conservantes antimicrobianos autorizados. En la preparación del lote final, solamente se puede utilizar vacuna final a granel que cumpla con los siguientes requisitos.

Contenido de proteínas

Determinar mediante un método químico apropiado.

Fosfolípidos

Determinar el contenido de identidad de los fosfolípidos por un métodos inmunoquímicos (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*) o fisicoquímicos. Los límites deben cumplir con las especificaciones aprobadas para el producto.

Contenido de Antígeno de Hemoaglutinina

Determinar el contenido de antígeno de hemoaglutinina por un método de inmunodifusión. El contenido de hemoaglutinina no debe ser mayor de los límites aprobados para el producto.

Contenido de Antígenos de Hepatitis A

Determinar el contenido de antígeno de hepatitis A por un método de inmunoquímico apropiado (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*). El contenido de antígeno no debe ser mayor de los límites aprobados para el producto.

Relación de antígeno de hepatitis A a hemaglutininas

La relación del contenido de hepatitis A y del contenido de hemaglutinina debe estar dentro de los límites aprobados para cada producto.

Ovoalbumina

No debe contener más de 1 µg de ovalabúmina en el equivalente de una dosis humana por el método y referencias apropiadas (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*).

Tamaño del virosoma

La distribución de la mezcla de virosoma-hepatitis A debe estar dentro de los límites aprobados para cada producto.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, sembrando 10 ml en cada medio.

Conservante <80>

No debe contener menos de 85 % ni más de 115 % de la cantidad declarada.

Residuos químicos

Si se utilizan químicos durante la formulación se deben analizar los residuos los que deben estar dentro de los límites aprobados para cada producto particular.

Lote final

Proceder según se indica en *Lote final* en *Vacuna contra la Hepatitis A, Inactivada Adsorbida*.

ENSAYOS

Identificación

Identificar el antígeno de hepatitis A por un método inmunoquímico apropiado (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*) usando anticuerpos específicos o por ensayos en vivo.

Formaldehído libre

Proceder según se indica en *Formaldehído libre* en 745. *Vacunas de uso humano*.

Conservantes <80>

No debe contener menos de 85 ni más de 115 % de la cantidad declarada.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Deben contener menos de 2 UI de endotoxinas del equivalente de dosis humana.

VALORACIÓN

Proceder según se indica en *Valoración* en *Vacuna contra la Hepatitis A, Inactivada Adsorbida*.

ROTULADO

Indicar en el rótulo la cantidad de antígeno de Hepatitis por dosis, el tipo de células utilizado para la preparación de la vacuna.

VACUNA CONTRA LA HEPATITIS B, ADN RECOMBINANTE

Vaccinum hepatitis B (ADN recombinante).

Definición - La Vacuna contra la Hepatitis B (ADNr) es una preparación del antígeno de superficie de hepatitis B, un componente proteico del virus de la hepatitis B. El antígeno puede ser adsorbido sobre un soporte mineral, como hidróxido de aluminio o fosfato de aluminio hidratado. El antígeno es obtenido por tecnología de ADN recombinante. La Vacuna contra la Hepatitis B, ADN recombinante debe cumplir con las siguientes especificaciones.

PRODUCCIÓN

Consideraciones generales

La vacuna debe inducir en el hombre anticuerpos específicos protectores. El método de producción debe demostrar obtener vacunas uniformes contra la hepatitis B que cumplan con los requisitos de inmunogenicidad e inocuidad. El método de producción debe estar validado para demostrar que el producto, al ser analizado, cumple los requisitos de 360. *Ensayo de toxicidad anormal.*

La vacuna de la hepatitis B (ADNr) se debe obtener por expresión del gen viral que codifica el antígeno de superficie de hepatitis B (HBsAg) en células de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) o en células de mamíferos [células de ovarios de hámster chino (CHO) u otras líneas celulares adecuadas], purificación del HBsAg resultante y para lograr de este antígeno una preparación inmunogénica. La idoneidad y seguridad de otras células utilizadas deben ser aprobadas por la Autoridad Sanitaria competente y haber demostrado ser seguras y efectivas. La vacuna puede contener el producto del gen S (proteína principal), una combinación de los productos del gen S y del gen pre-S2 (proteína intermedia) o una combinación de los productos del gen S, del gen pre-S2 y del gen pre-S1 (proteína grande).

Preparación de referencia - La preparación de referencia debe ser una parte de un lote representativo de la producción, que haya demostrado ser al menos tan inmunogénico en animales como el lote utilizado en ensayo clínicos en jóvenes y adultos sanos, donde haya producido una seroconversión de no menos de 95 %, correspondiente a un nivel de anticuerpo neutralizante de HbsAg reconocido como protector después de un esquema completo de inmunización primaria. Se considera como protector un nivel de anticuerpos circulantes no menos de 10 mUI por ml.

Caracterización del antígeno

El antígeno debe estar caracterizado en cuanto a su estructura completa proteica, lipídica y de carbohidratos. Las características morfológicas de las partículas antigénicas deben ser establecidas por microscopio electrónica. La densidad boyante media de las partículas de antígeno se determina por un método fisicoquímico tal como el de centrifugación en gradiente. Los epitopes antigénicos deben ser caracterizados. La fracción proteica del antígeno debe ser caracterizada en términos de estructura primaria (por ejemplo, determinando la composición en aminoácidos, análisis parcial de la secuencia de aminoácidos o por medio del mapeo peptídico).

Cultivo y cosecha

Se debe determinar la identidad, pureza microbiana, retención del plásmido y la uniformidad del rendimiento en determinadas etapas de la producción. Si se emplean células de mamíferos, se deben realizar los ensayos de 415. *Ensayo para Agentes extraños en vacunas virales* y 336. *Ensayo de micoplasmas.*

Antígeno purificado

En la preparación de la vacuna final a granel, solamente se puede utilizar un antígeno purificado que cumpla con los siguientes requisitos.

Proteína total

Determinar el contenido de proteína total por un método validado. Debe estar dentro de los límites aprobados para el producto específico.

Contenido antigénico e identificación

Determinar la cantidad y la especificidad del HBsAg por comparación con el Estándar Internacional del HbsAg subtipo *ad* o con una referencia interno, por un método inmunoquímico apropiado (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*). Los métodos apropiados pueden ser radioinmunoanálisis (RIA), ensayo de inmunoanálisis de enzima conjugado (ELISA), inmunotransferencia o inmunodotblot (preferiblemente utilizando un anticuerpo monoclonal dirigido contra un epítopo protector) o por difusión radial simple.

El cociente antígeno/proteína debe estar dentro de los límites aprobados para el producto específico. El peso molecular de la banda principal que se revela luego del análisis de electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio (SDS-PAGE) en condiciones reductoras, debe corresponderse con el valor esperado de acuerdo a la secuencia nucleotídica y peptídicas conocidas y la posible glicosilación.

Pureza antigénica

Determinar la pureza del antígeno por comparación con la preparación de referencia, usando cro-

matografía líquida o por otro método adecuado como SDS-PAGE con coloración de Coomassie o plata. El método elegido debe tener la sensibilidad suficiente como para detectar un posible contaminante con una concentración de 1 % de las proteínas totales. El HBsAg no debe representar menos de 95 % de la proteína total.

Composición

Determinar el contenido de proteínas, lípidos, ácidos nucleicos y carbohidratos.

ADN residual de la célula huésped y del vector

Si la vacuna es producida a partir de células de mamíferos, no debe contener más de 10 pg de ADN en la cantidad de antígeno equivalente a una dosis humana de vacuna.

Cesio

Si durante el proceso de producción se utiliza una sal de cesio, realizar un ensayo de cesio residual en el antígeno purificado. El contenido debe encontrarse entre los límites aprobados para el producto específico.

Ensayo de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, sembrando 10 ml en cada medio.

Dependiendo del método de producción utilizado, se podrán requerir otros análisis adicionales sobre el antígeno purificado: por ejemplo un ensayo para determinar el contenido de suero animal residual, si el sustrato corresponde a células de mamífero; o pruebas para sustancias químicas usadas durante la extracción y la purificación

Vacuna final a granel

La vacuna puede contener un conservante antimicrobiano y un adyuvante. Para la preparación del lote final solamente se puede utilizar una vacuna final a granel que cumpla los siguientes requisitos.

Conservantes <80>

No debe contener menos de 85 % ni más de 115 % de la cantidad declarada.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, sembrando 10 ml en cada medio.

Lote final

El lote final de vacuna debe cumplir con los requisitos indicados en *Ensayos y Valoración* para poder ser liberado para su uso. Si los ensayos de *Formaldehído libre* y *80. Conservantes*, fueron hechas sobre la vacuna final a granel, y dieron resultados satisfactorios, las mismas pueden omitirse en el lote final. Si la *Valoración* es realizada in vivo en el lote final a granel, con resultados satisfactorios, esta puede omitirse en el lote final.

ENSAYOS

Identificación

La prueba de valoración, o el perfil electroforético (donde se pueda realizar), pueden servir para identificar la vacuna.

Aluminio

Proceder según se indica en *Determinación de aluminio* en 745. *Vacunas de uso humano*.

Formaldehído libre

Proceder según se indica en *Formaldehído libre* en 745. *Vacunas de uso humano*.

Conservantes <80>

No debe contener menos que la cantidad que demostró ser efectiva ni más de 115 por ciento de la cantidad declarada.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de piretógenos <340>

Inyectar el equivalente a una dosis humana a cada conejo.

VALORACIÓN

El ensayo de valoración de la vacuna de Hepatitis B puede ser realizado in vivo, por comparación en condiciones dadas de su capacidad de inducir anticuerpos específicos contra antígeno de superficie de Hepatitis B en ratones o cobayos con la misma capacidad que la preparación de referencia, o in vitro, mediante la determinación inmunológica del contenido de antígeno.

Ensayo in vivo

Selección y distribución de los animales en el ensayo - Utilizar en el ensayo ratones sanos provenientes del mismo stock, de aproximadamente 5 semanas de edad. La cepa de ratón usada para este ensayo debe dar una pendiente significativa en las curvas de dosis-respuesta para el antígeno, son adecuadas ratones con haplotipo H-2^q o H-2^d. También son adecuados, cobayos sanos, de aproximadamente 7 semanas de edad, pesando entre 300 a 350 g provenientes del mismo stock. Usar animales del mismo sexo. Distribuir los animales en al menos 7 grupos de un número adecuado para cumplir los requerimientos del ensayo.

Determinación de la potencia - Usando una solución de 9 g de cloruro de sodio por litro conteniendo aluminio usado como adyuvante en la vacuna u otro diluyente, preparar al menos tres diluciones de la vacuna en ensayo e idénticas diluciones para la preparación de referencia. Asignar las diluciones una para cada uno de los grupos de animales e inyectar intraperitonealmente no más de 1,0 ml de cada dilución en cada animal de cada grupo para las

cuales ha sido asignada. Mantener un grupo de control de animales no vacunados, inyectados intraperitonealmente con el mismo volumen de diluyente. Después de un intervalo apropiado de tiempo (por ejemplo 4 a 6 semanas), anestesiar y sangrar los animales, manteniendo separado los sueros individuales. Analizar cada suero individual para anticuerpos específicos contra el antígeno de superficie del virus Hepatitis B por un método inmunológico adecuado.

Cálculos - Realizar los cálculos por un método estadístico usual para el ensayo de respuestas cuantales. A partir de la distribución de niveles de reacciones medidas en todos los sueros de los controles no vacunados, determinar el máximo nivel de reacción que puede esperarse ocurrir en un animal no vacunado para el ensayo en particular. Cualquier respuesta en animales vacunados que excede este nivel, es por definición una seroconversión. Hacer una adecuada transformación del porcentaje de animales que muestran seroconversión en cada grupo (por ejemplo por método Probit) y analizar los datos siguiendo un modelo de líneas paralelas de curvas de respuesta vs log de dosis. Determinar la potencia de la preparación a ser examinada relativa a la preparación de referencia.

El ensayo sólo es válido si para la vacuna de referencia y muestra, la ED_{50} cae entre las dosis más altas y más bajas dadas a los animales; el análisis estadístico no muestra desviación significativa con respecto a la linealidad ni al paralelismo, los límites de confianza ($P=0.95$) son no menos de 33 por ciento y no más de 300 por ciento de la potencia estimada.

El límite del intervalo de confianza superior ($P=0.95$) de la potencia relativa estimada no debe ser menor de 1,0.

Ensayo in vitro

Realizar una determinación inmunológica del contenido del antígeno con criterios de aceptación validados contra un ensayo in vivo. Se ha demostrado ser adecuados Enzima-inmunoanálisis (ELISA) y radio-inmunoensayo (RIA) usando anticuerpos monoclonales contra anticuerpos específicos para la protección-inducción de epítopes de HBsAg. Son usados para el análisis de los datos, número adecuados de diluciones de la vacuna a ser examinada y la preparación de referencia y modelos de líneas paralelas, los cuales pueden ser adecuadamente transformados. Son comercialmente disponibles kits para la medida del contenido HBsAg in Vitro y es posible adaptar sus procedimientos para ser usados en la valoración de la potencia in vitro.

Los criterios de aceptación asignados a la preparación de referencia son aprobados por la autoridad sanitaria a la luz de los datos de validación.

ROTULADO

Indicar en el rótulo la cantidad de HbsAg por envase, el tipo de células utilizado para la preparación de la vacuna, el nombre y cantidad del adsorbente utilizado. En el rótulo deben figurar las siguientes leyendas: “*Agitar antes de su uso*”; “*No congelar*”.

VACUNA CONTRA LA PAROTIDITIS, VIVA

Vaccinum parotiditis vivum

Definición - La Vacuna contra la Parotiditis, viva es una preparación liofilizada obtenida a partir de una cepa adecuada y atenuada de virus de la parotiditis. La vacuna reconstituida inmediatamente antes de su uso según se indica en el rótulo, tiene la apariencia de un líquido claro que puede ser coloreado por la presencia de un indicador de pH. La Vacuna contra la Parotiditis, viva debe cumplir con los siguientes requisitos.

PRODUCCIÓN

Consideraciones generales

La preparación de esta vacuna se basa en un sistema de virus de lotes semilla y un sistema de banco de células. El método de producción debe demostrar obtiene, de manera uniforme, vacunas vivas contra la parotiditis de adecuada inmunogenicidad e inocuidad para el hombre. A no ser que esté debidamente justificado y autorizado, el virus de la vacuna final no debe tener un número de pasajes, desde el lote de semilla maestro, superior al que se empleó para preparar la vacuna que demostró en estudios clínicos ser segura y eficaz.

El método de producción se debe validar para demostrar que el producto, si es analizado, cumple con 360. *Ensayo de toxicidad anormal y 745. Vacunas de uso humano.*

Sustrato para la multiplicación del virus

El virus se multiplica en células diploides humanas (ver 1125. *Sustratos celulares para la producción de vacunas de uso humano*) o en cultivos de células de embrión de pollo de líquido amniótico de embriones de pollo obtenidos de criaderos libres de patógenos especificados (ver 1030. *Criaderos de pollos libres de patógenos especificados para la producción y control de calidad de las vacunas*).

Lote de siembra

La cepa del virus de la parotiditis utilizada debe ser identificada por registros históricos que incluyan información sobre el origen de la cepa y su posterior manipulación. Para evitar la utilización innecesaria de monos en *Neurovirulencia*, los lotes semilla del virus se deben preparar en cantidades importantes y conservar a una temperatura menor de -20°C si están liofilizados, o por debajo de -60°C si no están liofilizados. Para la multiplicación del virus solamente se puede utilizar un lote semilla de virus que cumpla con los siguientes requisitos.

Identificación

Identificar los lotes semilla y de trabajo como virus de la parotiditis por un ensayo de seroneutralización en cultivo celular, utilizando anticuerpos específicos.

Concentración del virus

Controlar la concentración del virus en los lotes semilla y en el lote semilla de trabajo para verificar la uniformidad de la producción.

Ensayo para Agentes extraños en vacunas virales <415>

El lote semilla de trabajo debe cumplir con los requisitos para los lotes semillas maestra.

Ensayo de neurovirulencia para vacunas a virus vivo <339>

Debe cumplir con los requisitos. Los monos Macaca y Cercopithecus son apropiados para este ensayo.

Multiplicación del virus y cosecha

Todos los procesos del banco celular y posteriores cultivos celulares se deben realizar bajo condiciones de asepsia, en una zona donde no se manipulan otros tipos de células. En el medio de crecimiento celular se puede utilizar suero animal apropiado (pero no suero humano); sin embargo, el medio final, destinado al mantenimiento del crecimiento celular durante la multiplicación viral, no debe contener suero animal. Se debe demostrar que el suero y la tripsina utilizados en la preparación de suspensiones celulares y de medios de cultivo están libres de agentes extraños. El medio de cultivo celular puede contener un indicador de pH tal como rojo de fenol así como antibióticos apropiados en la concentración efectiva más baja. Durante la producción es preferible disponer de un sustrato libre de antibióticos. Se debe reservar no menos de 500 ml de la producción de cultivo celular como control de células no infectadas (células control). Si los virus se multiplican en células de embrión de pollo, el 2 por ciento pero no menos de veinte huevos, se deben dejar sin infectar como control de huevos no infectados. La suspensión de los cultivos de virus deben ser recolectados según el tiempo específico de las cepas virales utilizadas.

Para la preparación de la vacuna final a granel, solamente se puede utilizar una cosecha individual que cumpla los con los siguientes requisitos.

Identificación

Identificar los virus contenidos en cada cosecha obtenida como virus de la parotiditis por seroneutralización en cultivo celular, empleando anticuerpos específicos.

Concentración del virus

Determinar la concentración del virus en la cosecha obtenida, según se indica en *Valoración* con

el fin de monitorear la uniformidad de la producción y determinar la dilución a utilizar en la vacuna final a granel.

Ensayo para agentes extraños en vacunas virales <415>

Debe cumplir con los requisitos.

Células de control y control de huevos

Las células control y los controles de huevos de la producción del cultivo celular deben cumplir con los requisitos de *Identificación* y 415. *Ensayo para Agentes extraños en Vacunas virales.*

Vacuna final a granel

Las cosechas de virus que cumplen los ensayos indicados anteriormente se deben mezclar y clarificar para remover células. Se puede agregar un estabilizante adecuado y diluir las mezclas de cosechas de un modo apropiado.

Para la preparación del lote final solamente se puede utilizar una vacuna final a granel que cumpla los siguientes requisitos.

Contaminación bacteriana y fúngica

La vacuna final a granel debe cumplir con 370. *Ensayos de esterilidad*, empleando 10 ml para cada medio.

Lote final

Para la liberación del producto se debe establecer la mínima concentración de virus para asegurar que, basados en datos de estabilidad, la concentración indicada en el rótulo se encontrará presente al final del período de validez.

Sólo se puede liberar para su uso un lote final que cumpla los requisitos para la concentración mínima de virus, estabilidad térmica y cada uno de los requisitos especificados en *Ensayos*. Si en la vacuna final a granel se ha realizado el ensayo para albúmina sérica bovina con resultados satisfactorios, se puede omitir su determinación en el lote final.

Estabilidad térmica

Mantener las muestras de la vacuna liofilizada sin reconstituir a 37 ° C durante 7 días. Determinar la concentración del virus según se indica en *Valoración*, en paralelo entre la vacuna sometida a exposición al calor y la vacuna sin exposición al calor incubada a 5 ± 3 °C. La concentración de virus de la vacuna tratada térmicamente no debe ser mayor de 1,0 log 10 inferior que la concentración de la vacuna sin tratamiento térmico.

ENSAYOS

Identificación

Reconstituir según se indica en el rótulo y mezclar con anticuerpos específicos contra el virus de la parotiditis. Debe perder la capacidad de infectar cultivos celulares susceptibles a este virus.

Contaminación bacteriana y fúngica

La vacuna reconstituida debe cumplir con 370. *Ensayos de esterilidad.*

Albúmina sérica bovina

No más de 50 ng por dosis humana, determinada mediante un método inmunoquímico apropiado (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*).

Ovoalbúmina

Si la vacuna se produce en embrión de pollo, no debe contener más de 1 µg de ovoalbúmina por dosis humana, determinada por un método inmunoquímico apropiado (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*).

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 3,0 %.

VALORACIÓN

Determinar el título de virus infectivo, al menos por triplicado, utilizando como mínimo cinco cultivos celulares para cada dilución (factor de dilución 0,5 log₁₀) o por otro método de igual precisión. Utilizar una preparación de referencia de virus adecuada para validar cada titulación.

La concentración estimada del virus no debe ser menor a la indicada en el rótulo; la concentración de virus mínima no debe ser menor de 5 × 10³ CCID₅₀ por dosis humana. El ensayo sólo es válido si el intervalo de confianza (P = 0,95) del logaritmo de la concentración vírica es menor de ± 0.3.

ROTULADO

Indicar en el rótulo la cepa de virus utilizada para la preparación de la vacuna, el tipo y origen de las células empleadas en la preparación de la vacuna. Indicar en el rótulo el título mínimo del virus expresado en CCID₅₀, que se debe evitar el contacto con desinfectantes y el período de tiempo en el que la vacuna se puede utilizar una vez reconstituida.

VACUNA CONTRA LA PERTUSSIS, ADSORBIDA

Vaccinum pertussis adsorbatum

Sinonimia - Vacuna contra la Tos Ferina, Adsorbida.

Definición - La Vacuna Adsorbida contra la Pertussis es una suspensión salina, estéril, de células enteras inactivadas de una o varias cepas de *Bordetella pertussis*, adsorbidos sobre un soporte mineral como fosfato de aluminio hidratado o hidróxido de aluminio y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

PRODUCCIÓN

Suspensión de *B. pertussis* inactivada

La producción de la vacuna debe ser basada en un sistema de lotes semilla. Se pueden utilizar una o varias cepas de *B. pertussis* de procedencia e historia documentadas. La elección de las cepas, el medio y las condiciones de cultivo debe ser tal que en la vacuna final estén presentes los aglutinógenos 1, 2 y 3. Cada cepa se debe cultivar durante 24 a 72 horas en medio líquido o sólido, el cual carece en la etapa final de sangre o productos hemoderivados. Los medios empleados en cualquier etapa no pueden contener sangre humana o productos derivados de la misma. Las bacterias del cultivo, deben ser lavadas para eliminar sustancias del medio y suspendidas en una solución de 9 mg de cloruro de sodio por ml u otra solución isotónica apropiada. La turbidez de la suspensión se debe determinar, como máximo al cabo de 2 semanas de las cosecha de bacterias, por comparación con una Preparación Patrón Internacional de Turbidez; el resultado se utiliza como base para el cálculo a efectuar en las etapas sucesivas de la preparación de la vacuna. La Organización mundial de la Salud establece la equivalencia en Unidades Internacionales de la Preparación de Referencia Internacional.

Cada lote de células cosechadas del cultivo sólo se puede utilizar, para la preparación de la vacuna final a granel, si se demuestra que contiene células de *B. pertussis* de las mismas características que la cepa madre, en cuanto a crecimiento y aglutinógenos, y que está libre de contaminantes bacterianos y fúngicos. Las bacterias se deben inactivar y detoxificar en condiciones controladas, mediante tratamiento químico adecuado, o por calor, o por una combinación de ambos métodos. Debe demostrarse la ausencia de células vivas de *B. pertussis* sembrando en medio adecuado. La suspensión se debe mantener a 5 ± 3 °C durante un período apropiado para reducir la toxicidad.

Vacuna final a granel

Se deben mezclar cantidades apropiadas de lotes de células cosechados e inactivados y se debe agregar un soporte mineral como fosfato de aluminio hidratado o hidróxido de aluminio a la suspensión celular. Se pueden agregar conservantes antimicrobianos apropiados. La concentración bacteriana de la preparación final a granel, no debe ser mayor de la correspondiente a una turbidez de 20 U.I. por dosis humana. Si se utilizan dos o más cepas de *B. pertussis*, la composición de los lotes consecutivos debe ser consistente, de acuerdo con el porcentaje de cada una de las cepas medidas en unidades de turbidez. Para la preparación del lote final de vacuna sólo se puede utilizar una preparación final de vacuna a granel que cumpla con los siguientes requisitos.

Conservantes <80>

Debe contener no menos de 85 % y no más de 115 % de la cantidad declarada.

Ensayo de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, sembrando 10 ml en cada medio ensayo.

Lote final

La vacuna final a granel se debe distribuir asépticamente en envases estériles, para inyectables, con cierre inviolable. Los envases deben ser cerrados de tal manera de evitar la contaminación. Solamente los lotes finales que cumplan los requisitos indicados en *Ensayos y Valoración* pueden ser autorizados para su uso. Los ensayos de *Toxicidad específica, Formaldehído libre* y *80. Conservantes*, así como la *Valoración*, podrían omitirse en lotes finales de vacuna, siempre que hayan sido satisfactorios en la correspondiente preparación final de vacuna a granel.

ENSAYOS

Identificación

Disolver en la vacuna en ensayo, cantidad suficiente citrato de sodio para obtener una solución de aproximadamente 100 g por litro. Mantener a 37 °C durante 16 horas y centrifugar para obtener un sedimento bacteriano. Se pueden también emplear otros procedimientos apropiados para la separación de bacterias del adsorbente. Identificar mediante aglutinación de las bacterias del sedimento resuspendido, con antisueros específicos de *B. pertussis* o mediante el ensayo según se indica en *Valoración*.

Toxicidad específica

Seleccionar un grupo de cinco ratones sanos, de 14 a 16 g como grupo de ensayo de la vacuna y otros tantos para el grupo control. Usar ratones sanos del mismo sexo o distribuir machos y

hembras de manera homogénea entre ambos grupos. Los animales deben tener libre acceso al agua y alimento durante al menos 2 horas antes de la inyección y durante el ensayo. Inyectar a cada animal del grupo de vacuna, por vía intraperitoneal, un volumen de 0,5 ml de una cantidad de vacuna equivalente a no menos de media dosis humana. Inyectar los ratones del grupo control con 0,5 ml de una solución de 9 mg de cloruro de sodio estéril por ml, preferiblemente conteniendo la misma cantidad de conservante antimicrobiano presente en la vacuna inyectada. Pesar a ambos grupos de ratones inmediatamente antes de la inyección y dentro de las 72 horas y 7 días después de la misma. La vacuna cumple con el ensayo si al cabo de 72 horas la masa total de los ratones no es menor que antes de la inyección; si transcurridos los 7 días, el promedio de incremento de masa por ratón vacunado no es menor de 60 % del de los ratones control; y no mueren más de 5 % de los ratones vacunados durante el ensayo. El ensayo puede ser repetido y los resultados de ambos ensayos pueden ser combinados.

Aluminio

Proceder según se indica en *Determinación de aluminio en vacunas adsorbidas* en 745. *Vacunas de uso humano*.

Formaldehído libre

Proceder según se indica en *Formaldehído libre* en 745. *Vacunas de uso humano*.

Conservantes <80>

Debe contener no menos de la mínima cantidad que haya mostrado ser efectiva y no más de 115 % de la cantidad declarada en el rótulo.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Determinar la potencia de la vacuna contra pertussis por comparación de la dosis de vacuna requerida para proteger ratones de los efectos de una dosis letal de *Bordetella pertussis* administrada intracerebralmente con una cantidad de una preparación de referencia necesaria para dar la misma protección, calibrada en Unidades Internacionales. [NOTA: la Unidad Internacional es la actividad contenida en una cantidad establecida del Estándar Internacional que consiste en una cantidad de vacuna contra pertussis liofilizada. La equivalencia en Unidades Internacionales del Estándar Internacional es establecida por la Organización Mundial de la Salud].

Selección y distribución de animales para el ensayo - Utilizar en el ensayo ratones sanos de una cepa adecuada, de menos de 5 semanas de edad y provenientes del mismo stock. La diferencia de masa corporal entre el animal más pesado y el más liviano no debe ser mayor de 5 g. Distribuir los ratones en seis grupos de no menos de 16 y cuatro grupos de 10. Los ratones deben ser del mismo sexo o machos y hembras igualmente distribuidos entre los grupos.

Selección de la cepa de desafío y preparación de la suspensión de desafío - Seleccionar una cepa adecuada de *B. pertussis* capaz de causar la muerte de los ratones dentro de los 14 días de la inyección intracerebral. Si más de 20 % de los ratones muere dentro de las 48 horas de la inyección la cepa no es apropiada. Realizar un subcultivo de la cepa y suspender la cosecha de *B. pertussis* en una solución de pH comprendido entre 7,0 y 7,2 conteniendo 10 g de hidrolizado de caseína por litro y 6 g de cloruro de sodio por litro o en otra solución adecuada. Determinar la opacidad de la suspensión. Preparar una serie de diluciones a partir de la misma solución y asignar cada dilución a un grupo de diez ratones. Inyectar intracerebralmente a cada ratón una dosis (0,02 ml ó 0,03 ml) de la dilución asignada a cada grupo. Después de 14 días contar el número de ratones sobrevivientes en cada grupo. A partir de los resultados calcular la opacidad esperada de la suspensión conteniendo 100 LD50 en cada dosis de desafío. Para el ensayo de la vacuna a ser examinada realizar subcultivo fresco de la misma cepa de *B. pertussis* y preparar una suspensión de los organismos cosechados con una opacidad correspondiente alrededor de 100 LD50 en cada dosis de desafío. Preparar tres diluciones de la suspensión de desafío.

Determinación de la potencia - Preparar tres diluciones seriadas de la vacuna en ensayo y tres diluciones similares de la preparación de referencia de manera que en cada dilución intermedia proteja el 50 % de los ratones de los efectos letales de la dosis de desafío de *B. pertussis*. Las dosis sugeridas son 1/8, 1/40 y 1/200 de la dosis humana de la vacuna en ensayo y 0,5 UI, 0,1 UI y 0,02 UI de la preparación de referencia, cada dosis es contenida en un volumen no mayor de 0,5 ml. Asignar seis diluciones, una a cada uno de los grupos, de no menos de 16 ratones e inyectar intraperitonealmente en cada ratón una dosis de la dilución asignada al grupo. Después de 14 a 17 días inyectar intracerebralmente en cada animal de los grupos de no menos de 16 ratones una dosis de la suspensión de desafío. Asignar la suspensión de desafío y las tres diluciones realizadas a partir de esta, una a cada

grupo de 10 ratones e inyectar intracerebralmente una dosis de cada suspensión en cada ratón en el grupo en la cual la suspensión fue asignada.

Ignorar cualquier ratón que muera dentro de las 48 horas del desafío. Contar el número de ratones sobrevivientes en cada grupo después de 14 días. Calcular la potencia de la vacuna en ensayo relativa a la potencia de la preparación de referencia en base al número de animales sobrevivientes en cada uno de los grupos de no menos de 16 animales.

La potencia estimada no debe ser menor de 4 U.I. por dosis humana individual y el límite inferior de confianza ($P = 0,95$) en la potencia estimada no debe ser menor de 2 U.I. por dosis humana individual.

El ensayo sólo es válido si para la vacuna en ensayo y la preparación de referencia, la dosis protectiva del 50 % cae entre la mayor y la menor dosis de las preparaciones dadas a los ratones, el número de animales que mueren en los cuatro grupos de los 10 inyectados con la suspensión de desafío y sus diluciones indican que la dosis de desafío fue aproximadamente de 100 LD50, el análisis estadístico no muestra desviación de la linealidad y del paralelismo. El ensayo puede ser repetido pero cuando se realiza más de 1 ensayo los resultados de todos los ensayos válidos deben ser combinados para la estimación de la potencia.

ROTULADO

Indicar en el rótulo el número mínimo de U.I. por dosis humana, el nombre y la cantidad de adsorbente. En el rótulo deben figurar las siguientes leyendas: “*Agitar antes de su uso*”; “*No congelar*”.

VACUNA CONTRA LA POLIOMIELITIS INACTIVADA

Vaccinum poliomyelitidis inactivatum

Definición - La Vacuna contra la Poliomieltis, Inactivada es una preparación líquida obtenida a partir de cepas de poliovirus vivo atenuado de los tipos 1, 2 o 3, provenientes de cultivos adecuados e inactivados por un método validado. La vacuna es un líquido coloreado debido a la presencia de un indicador de pH. La Vacuna contra la Poliomieltis, Inactivada debe cumplir con las siguientes especificaciones.

PRODUCCIÓN

El método de producción debe haber demostrado ser uniforme en la obtención de vacunas inmunogénicas e inocuas para el hombre.

La producción de la vacuna se basa en un sistema de lotes semillas virales. Las líneas celulares se utilizan según un sistema de banco celular. Si se utilizan cultivos primarios, secundarios o terciarios de células renales de mono, la producción debe cumplir con los requerimientos indicados más adelante. A no ser que esté debidamente justificado y autorizado, el virus presente en la vacuna final no debe haber sido sometido a más pasajes del lote de semilla maestro, de los que tuvo en los lotes preparados para los ensayos clínicos en humanos para demostrar la inmonogenicidad e inocuidad.

El método de producción debe estar validado para que el producto, si es analizado, cumpla 360. *Ensayo de toxicidad anormal* y 745. *Vacunas de uso humano*.

Sustrato para la multiplicación del virus

El virus se debe multiplicar en células diploides humanas en líneas celulares continuas o en cultivos primarios, secundarios y terciarios de células renales de mono (ver 1125. *Sustratos celulares para la producción de vacunas de uso humano*).

Cultivos primarios, secundarios o terciarios de células renales de mono

Para los sustratos donde se hace la multiplicación del virus que utilizan cultivos primarios, secundarios y terciarios de células renales de mono proceder del siguiente modo:

Monos empleados para la preparación de los cultivos de células renales de mono y para el ensayo de control de vacuna - Los animales de especies aprobadas por la autoridad competente, deben estar en buen estado de salud. A no ser que esté debidamente justificado y autorizado no deben

haber sido utilizados previamente con fines experimentales. Los riñones usados para la producción y control de vacunas se obtienen de una colonia cerrada de monos criados en cautiverio monitoreados, y no de animales capturados en la naturaleza. Los lotes previamente autorizados para preparar lote semilla de virus pasados por células de riñón de animales salvajes si tiene como justificación los datos de seguridad históricos de la producción, se pueden utilizar sujetos a la aprobación de la autoridad competente.

Monitoreo de colonias cerradas de monos

Los monos deben mantenerse en grupos en las jaulas. Los animales mantenidos en colonias son sometidos a un control veterinario sistemático y continuo con monitoreo de agentes infecciosos que corrobora la ausencia de agentes extraños. La provisión de animales esta certificada por una autoridad sanitaria competente. A cada mono se le efectúan estudios serológicos a intervalos regulares durante el periodo de cuarentena de no menos de 6 semanas impuestas para el ingreso a la colonia y durante el tiempo que permanece en la misma. Los monos que se utilizan deben tener los estudios de tuberculina negativos, deben estar libres de anticuerpos de virus de simio (SV40) y de virus de la inmunodeficiencia de simio. La muestra de sangre usada en los ensayos para la determinación de anticuerpos SV40 debe ser tomada lo más cercana posible al tiempo de extirpación de los riñones. Si se utilizan monos *Macaca spp* para la producción, se debe verificar asimismo que estén exentos de anticuerpos del herpesvirus B (Cercopithecine herpesvirus I 1). El herpesvirus humano es utilizado como indicador de la ausencia de anticuerpos contra el virus B, debido al peligro que entraña la manipulación del Cercopithecine herpesvirus I (virus B).

Los monos de cuales se obtendrán los riñones son cuidadosamente examinados particularmente par la detección de infección por tuberculosis y de herpes virus B (Cercopithecine herpesvirus I)

Si un mono muestra lesiones patológicas de importancia para la utilización de sus riñones en la preparación de un lote semilla o de una vacuna no debe ser utilizado; tampoco se deben utilizar el resto de los monos de ese grupo de cuarentena, al menos que sea evidente que su utilización no afectará a la inocuidad del producto.

Todas las operaciones descriptas en la presente sección se deben efectuar fuera de los locales de producción de la vacuna.

Cultivos de células de riñón de mono para la producción de la vacuna

Los riñones utilizados para la preparación de cultivos celulares no deben presentar ningún signo patológico. Cada grupo de células que deriva de cada mono individualmente conforma una producción separada y por lo tanto una cosecha separada. Los cultivos primarios de células de riñón de mono en suspensión deben cumplir con 335. *Ensayo de micobacteria* y para el cual deben efectuarse la destrucción de las células previa a su realización. Si se utilizan células secundarias y terciarias debe demostrarse por un método adecuado y validado que de cuenta que el número de pasajes que se usara en producción esta libre de tumorigenicidad.

Lotes semilla del virus

Cada una de las 3 cepas del poliovirus utilizadas en producción deben estar identificadas por registros históricos que incluyan información sobre el origen de la cepa y su posterior manipulación. Para la multiplicación del virus sólo se puede utilizar un lote semilla que cumpla los siguientes requisitos.

Identificación

Identificar cada lote semilla de trabajo como poliovirus humano tipos 1, 2, y 3 por neutralización en cultivos celulares utilizando anticuerpos específicos.

Concentración de virus

Determinar según se indica en *Valoración*. La concentración de virus se utiliza para establecer la cantidad de virus utilizada en la inoculación de los cultivos de producción.

Ensayo para agentes extraños en vacunas virales <415>

El lote de semilla de trabajo debe cumplir los requisitos para los lotes semillas de las vacunas virales. Además, si el aislamiento del lote semilla de trabajo se produce en cultivos primarios, secundarios o terciarios se deben confirmar que las cepas no están contaminadas con virus de simios tales como la inmunodeficiencia de los simios, virus 40 filovirus, y herpesvirus B (Cercopithecine herpesvirus I). Las semillas de trabajo de virus producidos en cultivos primarios, secundarios y terciarios deben cumplir con los requisitos en *Multiplicación y cosecha del virus monovalente en esas células*.

Multiplicación y cosecha

Todos los procesamientos de los bancos celulares y de los posteriores cultivos celulares se realizan bajo condiciones de asepsia, en un área donde no se manipulen otros tipos de células. En el medio de crecimiento celular se puede utilizar suero

animal apropiado (pero no suero humano); sin embargo, el medio final, destinado al mantenimiento del crecimiento celular a lo largo de la multiplicación viral, no contiene suero animal. El suero y la tripsina utilizados en la preparación de suspensiones celulares y de medios de cultivo deben estar exentos de agentes extraños. El medio de cultivo celular puede contener un indicador de pH, como el rojo de fenol, y antibióticos autorizados en la concentración efectiva más baja. Se separan no menos de 500 ml de los cultivos celulares empleados en la producción de la vacuna, como muestra de cultivos celulares no infectado (control celular); cuando se utilizan cultivos celulares continuos en fermentadores la muestra control debe tener 200×10^6 células, cuando se utilizan cultivos secundarios y terciarios de células renales de mono las muestras son equivalentes al menos 500 ml de células en suspensión a la concentración usada en la producción.

Para la preparación de la vacuna sólo se pueden utilizar cosecha de virus individuales que cumplan los siguientes requisitos. Los ensayos de identificación de bacterias y de contaminación de hongos pueden ser realizados como alternativa en la mezcla de cosechas monovalentes purificada. Una vez que se haya demostrado la uniformidad de la producción se puede llevara cabo el ensayo de concentración de virus en la mezcla de cosechas monovalentes, purificada.

Células control

Las células control del cultivo celular de producción a partir del cual se obtiene la cosecha viral deben cumplir con los requisitos de *Identificación y 415. Ensayo para agentes extraños en vacunas virales* o, si se utilizan cultivos de células primarias, secundarias o terciarias de riñón mono cumplen los siguientes:

Ensayo en células de cultivo de riñón de conejo - Inocular en células de cultivo de riñón de conejo al menos 10 ml de las mezclas de sobrenadante líquidos en los cuales se ha controlado ausencia de herpes B (Cercopithecine herpesvirus 1) y otros virus. La dilución de la siembra en el medio de crecimiento no debe ser mayor de 0,25 y el área de la capa celular de $3 \text{ cm}^3 / \text{ml}$ de inóculo. Separar uno o más envases de cada lote de células con el mismo medio como control de células no inoculadas. Incubar los cultivos a 37°C durante 2 semanas. Los ensayos no son válidos si más de 20 % de los frascos de cultivo fueron descartados por razones accidentales no específicas.

Ensayo en células de riñón de monos cercopitecos - Inocular 10 ml de las mezclas de sobrenadante líquidos en los cuales se ha controlado

ausencia virus SV40 y otros agentes extraños en células de riñón de cercopitecos o en células que han demostrado ser sensibles al SV40 en células como las usadas en el ensayo en células de cultivo de riñón de conejo. El ensayo sólo es válido si menos de 20 % de los frascos de cultivo fueron descartados por razones accidentales no específicas.

Identificación

Identificar en cada cosecha individual poliovirus humano tipos 1,2, y 3 por neutralización en cultivos celulares utilizando anticuerpos específicos.

Concentración de virus

Establecer la concentración de virus de cada cosecha por medio de la titulación de virus infeccioso en los cultivos celulares en *Valoración*.

Contaminación bacteriana y fúngica

Cada cosecha debe cumplir con 370. *Ensayos de esterilidad*, llevado a cabo en 10 ml de cada medio.

Ensayo de micoplasmas <336>

Cada cosecha debe cumplir con los requisitos, empleando 10 ml.

Ensayo en células de cultivo de riñón de conejo

Cuando se utilizan en producción células de cultivo primario, secundario o terciario para la producción, inocular al menos 10 ml de la cosecha individual en la cual se ha controlado ausencia de herpes B (*Cercopithecine herpesvirus 1*) y otros virus en células de cultivo de riñón de conejo y continuar según se indica en *Control de células*.

Ensayo en células de riñón de mono cercopitecos

Cuando se utilizan en producción células de cultivo primario, secundario o terciario para la producción, inocular 10 ml de la cosecha individual en la cual se ha controlado ausencia virus SV40 y otros agentes extraños en células de riñón de cercopitecos; las muestras se neutralizan con un antisuero de título alto contra cada poliovirus específico. Las muestras del ensayo deben previamente haber demostrado en los cultivos de células primarias de cercopitecos o de células ser susceptibles al SV40. Los cultivos se incuban a 37°C y se observan por 14 días. Al finalizar este periodo se efectúan al menos un subcultivo de los sobrenadantes en los mismos sistemas de células y se observa tanto el cultivo primario como los subcultivos por un periodo adicional de 14 días.

Purificación y cosecha mprnovalente purificada

Las cosechas monovalentes se pueden preparar mezclando y concentrando varias cosechas individuales. Las cosechas monovalentes o las mezclas de cosechas monovalentes son purificadas por un método validado y autorizado. Si se utilizan células de cultivo continuas en la producción debe

demostrarse la purificación en forma uniforme reduce los contenidos de ADN en el sustrato celular a no mas de 100 pg por contenido de dosis humano. Para la preparación de la cosecha monovalente inactivada sólo se puede utilizar una cosecha monovalente purificada que cumpla los siguientes requisitos.

Identificación

Identificar el virus por neutralización en cultivos celulares utilizando anticuerpos específicos o por determinación del antígeno D.

Concentración de virus

La concentración de virus de cada cosecha se establece por medio de la titulación de virus infeccioso.

Actividad específica

La relación entre la concentración del virus o antígeno D, determinada por un método inmunoquímico adecuado, (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*) y el contenido total de proteína de la cosecha monovalente purificada debe estar comprendida entre los límites aprobados para cada producto en particular.

Inactivación y cosecha inactivada monovalente

Antes de la inactivación se pueden mezclar varias cosechas purificadas monovalentes del mismo tipo. A los fines de evitar interferencia en el proceso de inactivación deben evitarse la formación de agregados virales, o removerlos inmediatamente antes o durante el proceso de inactivación, efectuándose para ello la filtración antes y durante la inactivación. La inactivación debe efectuarse a un tiempo adecuado, preferiblemente luego de las 24 hs y en cada caso no más allá de las 72 hs, de la filtración previa. El método para la inactivación viral debe estar validado; debe haber demostrado que en forma uniforme que es capaz de inactivar el poliovirus sin destruir la actividad antigénica e inmunogénica. Durante los estudios de validación se traza una curva de inactivación que representa la reducción de la concentración del virus residual vivo con no menos de 4 puntos en el tiempo (ejemplo 0, 24, 48, y 96 horas) Cuando se utiliza formaldehído para la inactivación, se debe verificar la presencia en exceso de formaldehído libre al finalizar el proceso de inactivación.

En la preparación de la mezcla trivalente con las cosechas inactivadas monovalentes por tipo de virus o para la preparación final del granel de vacuna solamente se puede utilizar una cosecha purificada inactivada que cumpla con los siguientes requisitos

Ensayo de eficacia de inactivación

Neutralización del formaldehído utilizado en la inactivación, con bisulfito de sodio (en el caso de

que este sea el utilizado) y verificar la ausencia de poliovirus inoculando a cultivos adecuados con 2 muestras de cada cosecha monovalente inactivada, correspondiente a no menos de 1.500 dosis humanas. Tomar las muestras no más allá de que hayan transcurrido tres cuartas partes del proceso de inactivación y al final del mismo. La dilución de la siembra en el medio de crecimiento no debe ser mayor de 0,25 y el área de la capa celular debe ser aproximadamente 3 cm³/ml de inoculum. Separar uno o más envases de cada lote de células con el mismo medio como control de células no inoculadas. Observar los cultivos durante 3 semanas. Hacer no menos de 2 pasajes para cada envase, uno al final de del periodo de observación y otro una semana antes de, para los pasajes se debe usar sobrenadante de células y se inocula de la misma manera que en las siembras iniciales. Observar los subcultivos durante 2 semanas: no se debe observar ningún signo de multiplicación de poliovirus. Al final del periodo de observación, ensayar que las células utilizadas mantienen la susceptibilidad al virus por inoculación de los poliovirus de los mismos tipos que la cosecha monovalente inactivada.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, realizado utilizando 10 ml en cada medio

Contenido de Antígeno D

Determinar el contenido de antígeno D por medio de una técnica inmunológica apropiada (ver 635. *Métodos inmunológicos*). Debe cumplir con límites autorizados para el producto.

Vacuna final a granel

La vacuna final a granel se prepara a partir de cosechas monovalentes inactivadas de los poliovirus 1, 2, y 3° a partir de mezclas trivalentes de las cosechas inactivadas. Si se usa mezclas trivalentes de las cosechas inactivadas, se puede efectuar un ensayo de eficacia de la inactivación en esta mezcla en lugar de la vacuna final granel. Se pueden agregar sustancias estabilizadoras y conservadores antimicrobianos adecuados. Para la preparación del lote final sólo se puede utilizar una vacuna final a granel que cumpla los siguientes requisitos.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, realizado utilizando 10 ml en cada medio

Conservantes <80>

De haberse utilizado, determinar la cantidad por un método químico o fisicoquímico apropiado. No debe contener menos de 85 % y no más de 115 % de la cantidad declarada.

Inactivación

Una muestra de 1.500 ml de la formulación, o de la vacuna purificada y concentrada el equivalente a 1.500 dosis se reservan antes del agregado del conservador antimicrobiano para ensayadas en cultivos celulares con el fin de verificar si han quedado poliovirus residuales según el ensayo descrito anteriormente para la cosecha monovalente inactivada. Cuando la vacuna final es esta preparada por una mezcla de monovalentes inactivada, este ensayo debe ser realizado en ese nivel antes que en la vacuna final a granel.

Lote final

Debe cumplir con los requisitos de *Ensayos y Valoración*. Si el ensayo de *Formaldehído libre* (de haberse utilizado) y 80. Conservantes (de haberse utilizado), fueron hechas sobre la vacuna final a granel, dieron resultados satisfactorios, las mismas pueden omitirse en el lote final. Si cumple con los requisitos de *Seroalbumina bovina* en la mezcla trivalente de cosechas inactivadas o en las cosechas inactivadas monovalentes se puede omitir su realización en el lote final de vacuna.

ENSAYOS

Identificación

La vacuna debe demostrar que contiene poliovirus de cada tipo 1, 2 y 3 por un método inmunológico adecuado (ver 635. *Métodos inmunológicos*) tal como *Contenido de antígeno D* efectuado por inmunoanálisis de enzima conjugado (ELISA).

Formaldehído libre

Proceder según se indica en *Formaldehído libre* en 745. *Vacunas de uso humano*.

Conservantes <80>

De contenerlo determinar la cantidad de conservante antimicrobiano por un método químico o fisicoquímico adecuado. No debe contener menos de 85 % y no más de 115 % de la cantidad declarada.

Contenido de nitrógeno proteico

Método de Lowry. No debe contener más de 10 µg de la dosis humana.

Seroalbumina bovina

No debe contener más de 50 ng por dosis humana, determinada por un método inmunológico apropiado (ver 635. *Métodos inmunológicos*).

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos

Ensayo de endotoxinas bacterianas < 330>

Debe contener menos de 5 UI por dosis humana.

VALORACION

Contenido de antígeno D - Como una medida de la uniformidad de la producción determinar el contenido de poliovirus 1, 2, y 3 por un método inmunoquímico adecuado (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*) usando como referencia una preparación calibrada en Unidades Antígeno D apropiada. Para cada tipo de virus el contenido, expresado en relación con la cantidad establecida en el rotulo, esta dentro de los límites autorizados para el producto.

Ensayo en vivo

Debe cumplirse con el ensayo de in vivo para la vacuna poliomiélfica inactivada. La capacidad de la vacuna para inducir la formación de anticuerpos neutralizantes es determinada in vivo por uno de los siguientes métodos:

Ensayo en pollos o cobayos

Preparar una serie adecuada de no menos de tres diluciones de la vacuna a ser examinada usando una solución salina bufferada adecuada. Distribuir cobayos que pesen entre 250 y 350 g o pollos de 3 semanas de edad en grupos de diez animales, y asignar a cada grupo cada una de las diluciones de las vacunas. Inyectar intramuscularmente en cada animal 0,5 ml de la dilución asignada a cada grupo. Después de 5 a 6 días, sangrar los animales y separar los sueros individuales. Examinar los sueros para la presencia de anticuerpos neutralizantes en una dilución 1/4 para cada uno de los tipos de poliovirus humanos 1,2 y 3.

Mezclar 100 CCID₅₀ de virus con la dilución de suero e incubar a 37 °C durante 4,5 y 6 horas. Si es necesario para la consistencia de los resultados, mantener a 5 ± 3 °C durante 12 y 18 horas. Inocular las mezclas en cultivos celulares para la detección de virus no neutralizados y leer los resultados hasta los 7 días posteriores a la inoculación. Para cada grupo de animales, anotar el número de suero que tiene anticuerpos neutralizantes y calcular la dilución de la vacuna que de una respuesta de anticuerpo en el 50 por ciento de los animales. Llevar a cabo en paralelo los ensayos control usando una adecuada preparación de referencia. La vacuna cumple con el ensayo si a una dilución de 1/100 o más produce una respuesta de anticuerpo para cada uno de los tres tipos de virus en el 50 por ciento de los animales.

Ensayo en ratas

Un método apropiado de ensayo in vivo consiste en la inyección intramuscular en la pata trasera de no menos de tres diluciones de vacuna a ser examinada y de referencia, usando para cada dilución un grupo de 10 ratas de una cepa adecuada

libres de patógenos específicos. Es a menudo necesario el uso de 4 diluciones para obtener resultados validados para los 3 tipos serotípicos. El número de animales en cada grupo deberá ser suficiente para obtener resultados que cumplan con los criterios de validez; grupos de 10 ratas son usualmente suficientes aunque resultados válidos pueden resultar con menos animales por grupo. Si son utilizados animales de diferente sexo, machos y hembras deberán ser distribuidos equitativamente en todos los grupos. Un peso de 175 y 250 g puede ser adecuado. Es utilizada una inoculación de 0,5 ml por rata. El rango de dosis es elegido tal que se obtenga una respuesta de dosis para los 3 tipos de poliovirus. Después de 20 y 22 días se sangran los animales. Se miden separadamente los anticuerpos neutralizantes contra los 3 tipos de poliovirus usando 100 CCID₅₀ de cepa Sabín como desafío de virus, Vero o Hep2 como indicador de células y una condición de neutralización de 3 horas entre 35 y 37 °C, si es necesario para la consistencia de los resultados seguido de 18 horas entre 2 y 8 °C. Los resultados son leídos después de la fijación y tinte de las placas después de 7 días de incubación a 35 °C. Para un ensayo válido de anticuerpos, el título de cada virus de desafío debe mostrar estar dentro del rango de 10 CCID₅₀ a 1.000 CCID₅₀ y el título de anticuerpo neutralizantes del suero control debe estar dentro del doble de la dilución de la media geométrica del título de suero. La potencia es calculada por comparación de la proporción de respondedores de la vacuna a ser examinada y la vacuna de referencia por el método de probit o después de la validación, usando un modelo de líneas paralelas. En el caso de método de probit es necesario establecer un título de anticuerpos neutralizantes de corte para cada tipo de poliovirus para definir un respondedor. Debido a la variación interlaboratorio, no es posible definir valores de corte que puedan ser aplicados a todos los laboratorios. Preferentemente, los valores de corte son determinados por cada laboratorio sobre la base de una serie mínima de 3 ensayos con una vacuna de referencia. El punto medio de la escala logarítmica en base 2 de la media geométrica del título mínimo y máximo de una serie de 3 o más ensayos, es usado como valor de corte. Para cada uno de los tres tipos de poliovirus, la potencia de la vacuna no es significativamente menor que la de la preparación de referencia.

El ensayo es no válido a menos que para la vacuna a ser examinada y la de referencia la ED₅₀ se encuentre entre las dosis más bajas y más altas dadas a los animales, el análisis estadístico no muestre desviación significativa con respecto a la linealidad ni al paralelismo y los límites de

confianza ($P=0,95$) no sean menos de 25 % y no más de 400 % de la potencia estimada.

ROTULADO

Indicar en el rótulo los tipos de virus de la poliomielitis contenidos en la vacuna, cantidad nominal de cada tipo de virus contenido por dosis humana expresado como Unidades de antígeno D, el sustrato celular utilizado para la preparación de la vacuna.

VACUNA CONTRA LA POLIOMIELITIS ORAL

Vaccinum poliomyelitidis perorale

Definición - La Vacuna contra la Poliomieltis Oral consiste en una preparación obtenida a partir de cepas de poliovirus vivo atenuado de los tipos 1, 2 o 3, provenientes de cultivos in vitro en células aprobadas, que contiene cualquiera de los 3 tipos de las cepas Sabín o cualquier combinación de ellas preparada en una forma adecuada para la administración oral. La vacuna es un líquido claro que puede ser coloreado por la presencia de un indicador de pH. Debe cumplir con los siguientes requisitos.

PRODUCCIÓN

Consideraciones generales

Se debe demostrar que las cepas vacunales y el método de producción hayan resultado ser uniformes en la obtención de vacunas inmunogénicas y seguras para el hombre. La producción de la vacuna se basa en un sistema de lotes de semilla virales. Las líneas celulares se utilizan según un sistema de banco celular. Si se utilizan cultivos primarios de células renales de mono, la producción debe cumplir con los requisitos. A no ser que esté debidamente justificado y autorizado, el virus presente en la vacuna final no debe haber sido sometido a más de dos pasajes a partir del lote de semilla maestro.

Sustrato para la multiplicación del virus

El virus se debe multiplicar en células diploides humanas (ver 1125. *Sustratos celulares para la producción de vacunas de uso humano*), en líneas celulares continuas o en cultivos primarios de células renales de mono (incluyendo pasajes celulares seriados a partir de células primarias de riñón de mono).

Cultivos primarios de células renales de mono

Para los sustratos donde se realiza la multiplicación del virus que utilizan los cultivos primarios de células renales de mono se deben aplicar los siguientes requisitos especiales.

Monos empleados para la preparación de los cultivos primarios de células renales de mono y para el ensayo del virus

Si la vacuna se prepara en cultivos primarios de células renales de mono se deben utilizar animales de especies aprobadas por la autoridad competente, en buen estado de salud, mantenidos en colonias cerradas o intensivamente monitoreadas y que no

hayan sido utilizados previamente con fines experimentales.

Los monos deben alojarse en jaulas tan distantes entre si como sea posible, en bioterios bien construidos y adecuadamente ventilados. Se deben tomar las precauciones necesarias para evitar las infecciones cruzadas entre las jaulas. No se deben colocar más de dos monos por jaula e intercambiar compañeros de jaula. Los monos se deben mantener en grupos sometidos a cuarentena, en el país de fabricación de la vacuna, durante un período no menor de 6 semanas antes de ser utilizados. [NOTA: un grupo de cuarentena es una colonia de monos seleccionados, en buen estado de salud, alojados en una sala con instalaciones separadas para alimentación y limpieza, privados de todo tipo de contacto con otros monos durante el período de cuarentena]. Si en algún momento de dicho período la tasa global de mortalidad de un envío compuesto por uno o varios grupos supera el 5% (con exclusión de las muertes debidas a accidentes o cuando la causa fue determinada no ser de origen infeccioso), los monos del envío entero deben continuar en cuarentena como mínimo 6 semanas contadas a partir del momento en que se ha detectado el 5 % de muertes.

Los grupos deben mantenerse en aislamiento continuo como en la cuarentena, incluso después de finalizar este período y hasta ser utilizados. Cuando se haya desalojado el último mono de un grupo, se debe limpiar rigurosamente la habitación y descontaminar para poder emplearla y alojar a un nuevo grupo. Si se utilizan riñones de monos nacidos antes de término la madre se debe someter a cuarentena hasta el final de la gestación.

Los monos que van a ser sometidos a extirpación de los riñones deben ser anestesiados y examinados minuciosamente para evidenciar particularmente signos de infección tuberculosa o de una infección de herpesvirus B (*Cercopithecine herpesvirus 1*). Si un mono presenta alguna lesión patológica relevante para la utilización de sus riñones en la preparación de un lote semilla o de una vacuna, no debe ser utilizado. Tampoco se deben utilizar el resto de los monos de ese grupo de cuarentena, a menos que sea evidente que su utilización no afectará a la inocuidad del producto.

Todas las operaciones descriptas en la presente sección se deben efectuar fuera de los locales de producción de la vacuna.

En los monos empleados se debe demostrar que no presentan anticuerpos contra el virus de Simio 40 (SV40) ni contra el virus de la inmunodeficiencia de simios y el Espuma virus. La muestra de sangre empleada en los ensayos para la determinación de anticuerpos SV40 debe ser

tomada lo más cercana posible del tiempo de extirpación de los riñones. Si se utilizan monos *Macaca spp* para la producción, se debe verificar asimismo que estén exentos de anticuerpos del herpesvirus B (*Cercopithecine herpesvirus 1*). El herpesvirus humano se ha empleado como indicador de la ausencia de anticuerpos contra el virus B, debido al peligro que entraña la manipulación del herpesvirus B (*Cercopithecine herpesvirus 1*).

Cultivos primarios de células de riñón de mono para la producción de la vacuna

Los riñones utilizados para la preparación de cultivos celulares no deben presentar ningún signo patológico. Solo si los monos proceden de una colonia mantenida para la producción de la vacuna se pueden utilizar, para la multiplicación del virus, pasajes seriados de los cultivos de células renales de mono a partir de las células renales primarias; en cualquier otro caso las células de riñón de mono no deben ser propagadas en serie. El virus utilizado para la preparación de la vacuna se propaga en estos cultivos por métodos asépticos. Si se utiliza suero animal en la multiplicación de las células, el medio de mantenimiento que se utiliza luego de la inoculación de los virus no debe contener agregado de suero.

Cada grupo de cultivo celular derivado de un único mono o de fetos proveniente de no más de 10 monos pretérmino se prepara y se controla como un grupo individual.

Lotes semilla del virus

Las cepas del poliovirus empleadas deben estar identificadas por registros históricos documentados que incluyan información sobre el origen de la cepa y su posterior manipulación. Los lotes semilla de trabajo son preparados por un único pasaje a partir del lote semilla maestro y con un número de pasajes aprobado a partir del virus Sabin original. Los lotes semilla virales se preparan en grandes cantidades y se deben conservar a una temperatura menor de -60 °C.

Para la multiplicación del virus sólo se puede utilizar un lote semilla que cumple con los siguientes requisitos.

Identificación

Cada lote semilla de trabajo se identifica como poliovirus de un tipo dado utilizando anticuerpos específicos.

Concentración de virus

Proceder según se indica en *Valoración*. La concentración de virus se utiliza para establecer la cantidad de virus empleada en el ensayo de *Neurovirulencia*.

Ensayo para agentes extraños en vacunas virales <415>

Si el lote de siembra de trabajo se produce en células diploides humanas o en líneas celulares continuas, éste debe cumplir los requisitos para los lotes semillas de las vacunas virales. Si el lote semilla de trabajo se produce en cultivos primarios de células renales de mono, debe cumplir con los requisitos especificados en *Multiplicación del virus y cosecha*, y en *Cosecha Monovalentes (Mezcla)*. Debe cumplir con los ensayos en ratones adultos, ratones lactantes y cobayos. Los lotes de siembra de trabajo deben estar libres de secuencias de ADN detectables provenientes del virus 40 de simios (SV40).

Neurovirulencia

Cada lote semilla maestro y lote semilla de trabajo debe cumplir con los requisitos en *Ensayo para la vacuna contra la Poliomieltis oral en 415. Ensayo de neurovirulencia para vacunas a virus vivo*. El lote de siembra no debe emplearse para la producción de la vacuna si la frecuencia de resultados no satisfactorios, para las mezclas de cosechas monovalentes producidas a partir del mismo, es mayor al valor predicho estadísticamente. Esta predicción estadística se calcula luego de cada ensayo, sobre la totalidad de las mezclas de cosechas monovalentes en ensayo. Esta es igual a la probabilidad de un falso rechazo al realizar un primer ensayo (es decir 1 por ciento), siendo la probabilidad de un falso rechazo al repetir el ensayo despreciable.

Marcadores genéticos

Cada lote de semilla de trabajo es analizado para establecer su capacidad de multiplicación a temperaturas comprendidas entre 36 y 40 ° C según se indica en *Cosechas monovalentes (Mezcla)*.

Multiplicación del virus y cosecha

Todos los procesamientos de los bancos celulares y de los posteriores cultivos celulares se deben realizar bajo condiciones de asepsia, en un área donde no se manipulen otros tipos de células. En el medio de crecimiento celular se puede emplear suero animal apropiado (pero no suero humano); sin embargo, el medio final, destinado al mantenimiento del crecimiento celular a lo largo de la multiplicación viral, no contiene suero animal. El suero y la tripsina empleados en la preparación de suspensiones celulares y de medios de cultivo deben estar exentos de agentes extraños. El medio de cultivo celular puede contener un indicador de pH, como el rojo de fenol (SR), y antibióticos autorizados en la concentración efectiva más baja. Durante la producción es preferible utilizar un sustrato exento de antibióticos. El día de la

inoculación con el lote semilla de trabajo del virus, se debe separar un mínimo de 5 % o 1.000 ml, la cantidad que sea menor, de los cultivos celulares empleados en la producción de la vacuna, como muestra de cultivos celulares no infectado (control celular). Cuando la vacuna se produce en cultivos primarios de células renales de mono, se aplican a las células control requisitos especiales especificados a continuación. La suspensión viral se cosecha como máximo 4 días después de la inoculación del virus. Luego de la inoculación del cultivo celular de producción con el lote semilla de trabajo del virus, los cultivos celulares infectados se mantienen a una temperatura constante entre 33 y 35 °C; con una precisión de $\pm 0,5$ °C. Los cultivos celulares control se deben mantener entre 33 y 35 °C durante los períodos de incubación pertinentes.

Para la preparación de las mezclas de cosechas monovalentes, sólo se pueden emplear cosechas de virus individuales que cumplan los siguientes requisitos:

Concentración de virus

Controlar la concentración de la cosecha de virus según se indica en *Valoración* para asegurar la uniformidad de la producción y para determinar la dilución a utilizar en la vacuna final a granel.

Ensayo para agentes extraños en vacunas virales <415>

Debe cumplir con los requisitos.

Células control

Las células control del cultivo celular de producción a partir del cual se obtiene la cosecha viral deben cumplir con el ensayo de *Identificación* y con los requisitos de 415. *Ensayo para agentes extraños en vacunas virales*. Si se emplean cultivos de células primarias de mono deben cumplir con los siguientes requisitos.

Cultivo de células primarias de mono

Se deben aplicar los siguientes requerimientos especiales a la multiplicación y cosecha viral en cultivos de células primarias de riñón de mono.

Cultivos celulares

El día de inoculación con el virus del lote semilla de trabajo, se debe examinar cada cultivo celular con el fin de comprobar que no presenta degeneraciones causadas por un agente infeccioso. Si se detecta la presencia de algún agente extraño en un cultivo celular, se rechaza la totalidad del grupo de cultivos relacionados con el mismo.

El día de la inoculación con el virus del lote semilla de trabajo, una muestra de al menos 30 ml de la mezcla de líquidos procedentes de cultivos celulares de los riñones de cada mono, o de fetos de un máximo de 10 monos pretérmino se divide en dos alícuotas iguales. Una de éstas se ensaya en cultivos de células renales de mono procedentes de

la misma especie que el animal utilizado para la producción de la vacuna, pero no del mismo animal. La otra alícuota se ensaya, si fuera necesario, en cultivos de células renales de mono de otra especie, de modo que los ensayos se realicen sobre cultivos celulares procedentes de al menos una especie que sea de sensibilidad conocida frente al virus SV40. La mezcla de líquidos se debe inocular en los frascos que contienen estos cultivos celulares de modo que la dilución de la mezcla en el medio nutritivo no exceda la proporción 1 en 4. El área de la capa celular debe ser al menos de 3 cm² por ml de mezcla de fluidos. Al menos un frasco de cada tipo de cultivo celular no se debe inocular para emplear como control. Si la especie de mono utilizada para la producción de la vacuna es sensible a SV40 no es necesario repetir la prueba en una segunda especie. Se puede utilizar suero animal en la propagación de las células, con la condición de que no contenga anticuerpos SV40. Luego de la inoculación de la preparación en ensayo, el medio de mantenimiento no debe contener suero añadido salvo en las condiciones anteriormente descriptas.

Los cultivos se deben incubar a una temperatura entre 35 y 37 °C y se deben observar durante un período no menor de 4 semanas. Durante este período de observación, no antes de las 2 semanas de incubación, se efectúa como mínimo un subcultivo del fluido de cada uno de los cultivos en el mismo sistema de cultivo celular. Los subcultivos también se deben mantener en observación durante al menos 2 semanas. Se puede agregar suero al cultivo original en el momento del subcultivo, con la condición de que no contenga anticuerpos SV40.

Las técnicas de inmunofluorescencia pueden resultar útiles para la detección del virus SV40 o de otros virus en las células. Se debe verificar la ausencia del herpesvirus B (*Cercopithecine herpesvirus 1*) y de otros virus en cultivos celulares de riñón de conejo en otra muestra de al menos 10 ml de mezcla líquida.

Se debe demostrar que el suero empleado en el medio nutritivo de los cultivos está libre de inhibidores del virus B. El herpesvirus humano se debe emplear como indicador de la ausencia de los inhibidores del virus B, debido al peligro que implica la manipulación del herpesvirus B (*Cercopithecine herpesvirus 1*). La muestra se debe inocular en los frascos que contienen los cultivos celulares, de modo que la dilución de la mezcla en el medio nutritivo no sea mayor de la proporción 1 en 4. El área de la capa celular debe ser al menos 3 cm² / ml de mezcla líquida. Al menos un frasco de cada tipo de cultivo celular no se debe inocular para ser empleada como control.

Los cultivos se deben incubar a una temperatura entre 35 y 37 °C y observar durante un período de al menos 2 semanas.

La ausencia de agentes contaminantes se verifica sobre otra muestra de 10 ml de la mezcla de líquidos separados de los cultivos celulares el día de la inoculación con el lote semilla de virus en cultivos de células humanas sensibles al virus del sarampión. Los ensayos no son válidos si más de 20 por ciento de los frascos de cultivo fueron descartados por razones accidentales no específicas al final de los períodos de tiempo respectivos de los ensayos.

Si estos ensayos revelan la presencia de un agente extraño, la cosecha individual procedente del conjunto de cultivos celulares se descarta.

Si se demuestra la presencia de herpesvirus B (*Cercopithecine herpesvirus 1*), la fabricación de la vacuna antipoliomielítica oral se interrumpe y se informa a la Autoridad competente. La fabricación no se debe reanudar hasta que no se finalice una investigación rigurosa y se tomen precauciones frente a cualquier reaparición de la infección con la aprobación de la Autoridad competente.

Si los ensayos anteriores no se realizan inmediatamente, las muestras de mezclas de líquidos de cultivos celulares, deben mantenerse a una temperatura de -60 °C o menor, con excepción de la muestra empleada para el análisis del virus B que se puede mantener a una temperatura de 4 °C, siempre y cuando el ensayo se realice dentro de los 7 días posteriores a la obtención de la muestra.

Cultivos de células control

El día de la inoculación con el virus del lote semilla de trabajo, se toma el 25 % (pero no más de 2,5 litros) de la suspensión celular procedente de los riñones de cada mono, o de fetos de no más de diez monos pretermino para la preparación de células control no inoculadas. Estos cultivos control se incuban en las mismas condiciones que los cultivos inoculados durante al menos 2 semanas y se examinan durante este período para evidenciar posibles cambios citopáticos.

Los ensayos no son válidos si más de 20 % de los cultivos celulares control han sido rechazados por razones accidentales no específicas. Al final del período de observación, se examinan los cultivos celulares control para verificar que no presentan signos de degeneración debidos a un agente infeccioso. Si este examen, o cualquiera de los ensayos requeridos en la presente sección, revelan la presencia de un agente extraño en un cultivo control, el virus de la poliomielitis proveniente de los cultivos inoculados procedentes del mismo grupo debe ser rechazado.

Ensayo de virus hemoabsorbente

Tomar una muestra de 4 por ciento de los cultivos de células control en el momento de la cosecha o dentro de los 4 días luego de la inoculación de los cultivos de producción con el virus del lote semilla de trabajo y realizar el ensayo para poner de manifiesto la posible presencia de virus hemoabsorbentes según se indica en 415.

Ensayo de agentes extraños en vacunas vírales. Al final del período de observación se debe realizar el mismo ensayo en las restantes células control .

Ensayos para otros agentes extraños

Tomar una muestra de al menos 20 ml de la mezcla de líquidos obtenida de cada grupo de cultivos control en el momento de la cosecha o dentro de los 7 días siguientes a la inoculación de los cultivos de producción con el virus del lote semilla de trabajo y realizar el ensayo en dos tipos de cultivos de células renales de mono, como se describió anteriormente para las mismas células en el punto Multiplicación del virus y cosecha. Tomar muestras similares de la mezcla de líquidos al final del período de observación de los cultivos celulares control original, y repetir los ensayos sobre los dos tipos de cultivos de células renales de mono, así como sobre los cultivos celulares de conejo, según se indica en *Cultivos celulares en Multiplicación del virus y cosecha*. Si se demuestra la presencia de herpesvirus B (*Cercopithecine herpesvirus 1*), no se deben emplear los cultivos celulares destinados a la producción y se deben aplicar las medidas concernientes a la producción de la vacuna.

Los líquidos obtenidos a partir de los cultivos celulares control en el momento de la cosecha del virus y al final del período de observación se pueden mezclar antes de los ensayos para agentes extraños. Se debe examinar una muestra de 2 % de la mezcla en cada uno de los sistemas de cultivos celulares indicados.

Cosecha individual

Ensayos para cosechas individuales neutralizadas en cultivos primarios de células renales de mono

Neutralizar una muestra de al menos 10 ml de cada cosecha individual, con un antisuero específico del tipo de poliovirus preparado en animales diferentes al mono. En la preparación del antisuero para este propósito, los antígenos inmunizantes deben ser preparados en células no simias.

La mitad de la suspensión neutralizada (correspondiente al menos a 5 ml de cosecha individual) se debe analizar en cultivos de células renales procedentes de un mono de la misma especie que el animal empleado para la producción de la vacuna, pero no del mismo animal. La otra

mitad debe ser analizada, si fuera necesario, en cultivos de células renales de otra especie de mono, de tal modo que las pruebas sean practicadas en cultivos celulares procedentes de al menos una especie de sensibilidad conocida frente al virus SV40.

Inocular las suspensiones neutralizadas en frascos de estos cultivos celulares, de modo que la dilución de la suspensión en el medio nutritivo no exceda una proporción 1 en 4. El área de la capa celular debe ser al menos $3 \text{ cm}^2 / \text{ml}$ de suspensión neutralizada. Al menos un frasco de cada tipo de cultivo celular no se debe inocular para emplear como control. Mantener este frasco con medio nutritivo que contenga la misma concentración de antisuero específico utilizado para la neutralización. Se puede emplear suero animal en la multiplicación de las células, con la condición de que no contenga anticuerpos SV40, pero después de la inoculación de la preparación en el material de ensayo, el medio de mantenimiento no debe contener otro suero que el antisuero neutralizante del poliovirus, salvo en las condiciones descriptas más adelante.

Los cultivos se deben incubar a una temperatura entre 35 y 37°C y observar durante un período de al menos 4 semanas. Durante este período de observación, y después de 2 semanas de incubación como mínimo, se efectúa al menos 1 subcultivo de cada uno de los cultivos sobre el mismo sistema de cultivo celular. Los subcultivos también se deben mantener en observación durante al menos 2 semanas. Se puede agregar suero al cultivo inicial en el momento del subcultivo, con la condición de que no contenga anticuerpos SV40.

Realizar ensayos adicionales para determinar la ausencia de agentes extraños en otra muestra de cosechas individuales neutralizadas, por inoculación de 10 ml de muestra en cultivos de células humanas sensibles al virus del sarampión.

Las técnicas de inmunofluorescencia resultan útiles para la detección del virus SV40 o de otros virus en las células.

Los ensayos no son válidos si más de 20 por ciento de los frascos del cultivo fueron rechazados por razones accidentales no específicas al final de los períodos de tiempo respectivos de los ensayos.

Si se produce algún cambio citopático en alguno de los cultivos, se deben investigar las causas del mismo. Si se demuestra que los cambios citopáticos se deben a poliovirus no neutralizados, se debe repetir el ensayo. Si se evidencia la presencia de SV40 o de otros agentes extraños atribuibles a la cosecha individual, ésta debe ser descartada.

Cosechas monovalentes (mezcla)

Las cosechas monovalentes (mezcla) se deben preparar mezclando un número de cosechas individuales satisfactorias del mismo tipo viral. Las cosechas monovalentes (mezcla) producidas en una línea celular continua pueden ser purificadas. Filtrar cada cosecha monovalente (mezcla) a través de un filtro que retenga las bacterias.

Para la preparación de la vacuna final a granel sólo se puede utilizar una cosecha monovalente (mezcla) que cumpla con los siguientes requisitos.

Identificación

Identificar poliovirus de un tipo dado en cada cosecha monovalente (mezcla) empleando anticuerpos específicos.

Concentración de virus

Determinar la concentración del virus según se indica en *Valoración* como base para el cálculo de las diluciones para la preparación de la vacuna final a granel, para tener la cantidad de virus empleado en 339. *Ensayo de neurovirulencia para vacunas a virus vivo* y para establecer y monitorear la uniformidad de la producción.

Marcadores genéticos

Determinar la relación entre la capacidad de multiplicación del virus en la mezcla monovalente cosechado en un rango de temperaturas comprendidas entre 36 y 40°C en comparación con el lote semilla o con una preparación de referencia destinada a ensayos de marcador y con cepas rct/40- y rct/40+ adecuadas del poliovirus del mismo tipo. Controlar las temperaturas de incubación empleadas en el ensayo, con una precisión de $\pm 0,1^\circ \text{C}$. La cosecha monovalente (mezcla) cumple con el ensayo si el título del virus determinado a 36°C , cuando tanto en la cosecha como en la preparación de referencia, el título es al menos 5,0 log mayor que el determinado a 40°C . Si el crecimiento a 40°C es tan bajo que no se puede establecer una comparación válida, se emplea una temperatura comprendida entre $39,0$ y $39,5^\circ \text{C}$; a esta temperatura la reducción del título de virus en el material de referencia debe ser tal que se encuentre entre 3,0 log y 5,0 log de su valor a 36°C ; la reducción mínima aceptable, para cada cepa de virus, se debe determinar a una temperatura dada. Si los títulos obtenidos para 1 o más de los virus de referencia no son concordantes con los valores esperados se debe repetir el ensayo.

Ensayo de Neurovirulencia para vacunas a virus vivo <339>

Proceder según se indica en *Ensayo para la vacuna contra la poliomiélitis oral*.

Cultivos primarios de células renales de mono

Los siguientes requisitos especiales se aplican a cosecha monovalente (mezcla) obtenidas de cultivos primarios de células de mono.

Retrovirus

La cosecha monovalente (mezcla) debe ser examinada empleando un ensayo de transcriptasa reversa. No se debe encontrar indicación de presencia de retrovirus.

Ensayo en conejos

Una muestra de no menos de 100 ml de cosecha monovalente (mezcla) debe ser analizada para herpesvirus B (*Cercopithecine herpesvirus 1*) y otros virus por inoculación en al menos 10 conejos sanos y de un peso entre 1,5 y 2,5 kg. Cada conejo debe recibir una cantidad no menor de 10 ml y no mayor de 20 ml; de los cuales 1 ml es administrado por vía intradérmica en múltiples puntos y el resto por vía subcutánea. Observar los conejos durante al menos 3 semanas y registrar las muertes y los síntomas de enfermedad. Realizar la autopsia de todos los conejos que mueran en las primeras 24 horas o que presenten síntomas de enfermedad y examinar detalladamente el cerebro y otros órganos removidos para establecer la causa de la muerte.

El ensayo sólo es válido si no más de 20 % de los conejos inoculados muestran síntomas de infección intercurrente durante el período de observación. La cosecha monovalente (mezcla) de cumple con el ensayo si ninguno de los conejos muestra signos de infección con el virus B o con otros agentes extraños o lesiones de cualquier tipo atribuibles a la suspensión a granel. Si se demuestra la presencia del virus B se toman las medidas concernientes a la producción de vacunas especificadas en *Cultivos celulares*.

Ensayos en cobayos

Si los cultivos primarios de células renales de mono no derivan de monos mantenidos en una colonia cerrada, la mezcla de cosecha monovalente debe cumplir con el siguiente ensayo.

Administrar al menos a 5 cobayos, de peso comprendido entre 350 y 450 g, 0,1 ml de la cosecha monovalente (mezcla) por vía intracerebral y 0,5 ml por inyección intraperitoneal. Medir la temperatura rectal de cada animal, cada día de trabajo durante 6 semanas. Al final del período de observación, realizar la autopsia de cada animal. Por otro lado, administrar al menos a otros 5 cobayos 0,5 ml por inyección intraperitoneal y observar como se describió anteriormente, durante 2 a 3 semanas. Al final del período de observación, realizar un pasaje a partir de estos animales al menos a otros 5 cobayos, utilizando sangre y una suspensión de tejido de hígado o bazo. Medir la temperatura rectal de estos últimos cobayos durante

2 a 3 semanas. Examinar por autopsia todos los animales que, después del primer día de ensayo, mueren o se sacrifican porque muestran signos de enfermedad o porque presentan durante 3 días consecutivos temperaturas mayores a 40,1 ° C; realizar un examen histológico para detectar infección con filovirus; además, inyectar una suspensión de tejido de hígado o bazo o de sangre, intraperitonealmente, en al menos 3 cobayos. Si se observa algún síntoma de infección con filovirus realizar en la sangre de los animales afectados ensayos de confirmación serológica.

La cosecha monovalente (mezcla) cumple el ensayo si como mínimo el 80 por ciento de los cobayos sobreviven al final del período de observación, permaneciendo en buen estado de salud y ninguno de los animales muestra signos de infección con filovirus.

Vacuna final a granel

La vacuna final a granel se prepara a partir de una o más cosechas monovalentes (mezcla) satisfactorias y puede contener más de un tipo de virus. Se pueden añadir sustancias saborizantes y estabilizadoras adecuadas. Para la preparación del lote final sólo se puede utilizar una vacuna final a granel que cumpla con los siguientes requisitos.

Contaminación bacteriana y fúngica

Proceder según se indica en 370. *Ensayos de esterilidad*, empleando 10 ml para cada medio.

Lote final

Para liberar la vacuna para su uso, el lote final debe cumplir con los siguientes requerimientos de estabilidad térmica y satisfacer los requisitos especificados en *Identificación*, *Ensayos* y en *Valoración* y debe cumplir con el siguiente requisito.

Estabilidad térmica

Mantener muestras del lote final a 37 °C durante 48 horas. Determinar la concentración total de virus según se indica en *Valoración*, en paralelo para la vacuna tratada térmicamente y no tratada. La diferencia estimada entre la concentración de virus total de la vacuna sin tratamiento térmico y la sometida a tratamiento térmico no debe ser mayor de 0,5 log₁₀ unidades de virus infeccioso (DICC50) por dosis humana.

ENSAYOS

Identificación

Demostrar que la vacuna contiene poliovirus de cada tipo declarado en el rótulo, empleando anticuerpos específicos.

Contaminación bacteriana y fúngica

Debe cumplir con 370. *Ensayos de esterilidad*.

VALORACIÓN

Utilizar una preparación de referencia de virus adecuada para validar cada ensayo. Si la vacuna contiene más de un tipo de poliovirus, titular por triplicado cada tipo por separado empleando un antisuero tipo-específico adecuado (o preferiblemente un anticuerpo monoclonal) para neutralizar cada uno de los otros tipos presentes.

Para una vacuna trivalente, el título promedio de virus estimado no debe ser menor de $1 \times 10^{6,0}$ unidades virales infecciosas (DICC50) para el tipo 1 para una dosis humana, de $1 \times 10^{5,0}$ unidades virales infecciosas (DICC50) para el tipo 2, y de $1 \times 10^{5,5}$ unidades virales infecciosas (DICC50) para el tipo 3.

En el caso de una vacuna monovalente o divalente, los títulos mínimos de virus son decididos por la Autoridad competente.

Procedimiento - Inocular grupos de 8 a 12 pocillos de fondo plano de una placa de microtitulación, con 0,1 ml de cada una de las diluciones de virus seleccionadas, seguidas de un volumen adecuado de una suspensión celular de la línea Hep-2 (*Cincinnati*). Incubar las placas a una temperatura apropiada. Observar los cultivos entre los días 7 y 9. El ensayo no es válido si el intervalo de confianza ($P = 0,95$) del logaritmo de la concentración de virus es mayor de $\pm 0,3$.

ROTULADO

Indicar en el rótulo indica los tipos de virus de la poliomiелitis contenidos en la vacuna, la cantidad mínima de cada tipo de virus contenido en una dosis humana, expresados en DICC50 y el sustrato celular empleado para la preparación de la vacuna. Indicar que la vacuna no debe ser inyectada.

VACUNA CONTRA LA RUBEOLA, VIVA

Vaccinum rubellae vivum

Definición - La Vacuna contra la Rubéola, viva es una preparación liofilizada obtenida a partir de una cepa adecuada atenuada de virus de la rubéola. La vacuna, reconstituida inmediatamente antes de su uso según se indica en el rótulo, se presenta bajo la forma de un líquido claro que puede ser coloreado por la presencia de un indicador de pH. La Vacuna contra la Rubéola, viva debe cumplir con las siguientes especificaciones.

PRODUCCIÓN

La preparación de esta vacuna se basa en un sistema de lotes semilla y un sistema de banco de células. El método de producción debe demostrar que obtiene, de un modo consistente, vacunas vivas contra la rubéola de adecuada inmunogenicidad e inocuidad para el hombre. A no ser que esté debidamente justificado y autorizado, el virus de la vacuna final no deberá tener un número de pasajes, desde el lote de semilla maestra, superior al que se empleó para preparar la vacuna que demostró en estudios clínicos ser segura y eficaz. El método de producción debe estar validado para demostrar que el producto, si es analizado, cumple con los requisitos cuando se ensaya según se indica en 360. *Ensayo de toxicidad anormal y 745. Vacunas de uso humano.*

Sustrato para la multiplicación del virus

El virus se multiplica en células diploides humanas (ver 1125. *Sustratos celulares para la producción de vacunas de uso humano*)

Lote de siembra

La cepa del virus de la rubéola utilizada deberá ser identificada por registros históricos que incluyan información sobre el origen de la cepa y su posterior manipulación. Para evitar la utilización innecesaria de monos en el ensayo de neurovirulencia, los lotes semillas del virus se preparan en cantidades importantes y se conservan a temperatura inferior a -20°C si están liofilizados, o por debajo de -60°C , si no están liofilizados. Para la multiplicación del virus, solamente se puede utilizar un lote semilla de virus que cumpla los siguientes requisitos.

Identificación

Se identifican los lotes semilla y de trabajo como de virus de la rubéola por un ensayo de seroneutralización en cultivo celular, utilizando anticuerpos específicos.

Concentración del virus

La concentración del virus en los lotes semilla y de lote semilla de trabajo, se controla para verificar la consistencia de la producción.

Ensayo para agentes extraños en vacunas virales <415>

El lote semilla de trabajo debe cumplir con los requisitos para los lotes semillas maestra.

Ensayo de neurovirulencia para vacunas a virus vivo <339>

Debe cumplir con los requisitos. Los monos *Macaca* y *Cercopithecus*, son apropiados para este ensayo.

Multiplicación del virus y cosecha

Todos los procesos del banco celular y posteriores cultivos celulares se realizan bajo condiciones de asepsia, en una zona donde no se manipulan otros tipos de células. En el medio de crecimiento celular se puede utilizar suero animal adecuado (pero no suero humano); sin embargo, el medio final, destinado al mantenimiento del crecimiento celular durante la multiplicación viral, no contiene suero animal. Se debe demostrar que el suero y la tripsina utilizados en la preparación de suspensiones celulares y de medios de cultivo están libres de agentes extraños. El medio de cultivo celular puede contener un indicador de pH tal como rojo fenol así como antibióticos adecuados en la concentración efectiva más baja. Durante la producción es preferible disponer de un sustrato libre de antibióticos. Se reserva aparte no menos de 500 ml de la producción de cultivo celular como control de células no infectadas (células control) La temperatura de incubación es controlada durante el crecimiento de los virus. Las suspensiones virales se cosechan, en una o más ocasiones, dentro de los 28 días posteriores a la inoculación. Se pueden mezclar varias cosechas del mismo cultivo celular y considerar la mezcla como una cosecha individual. Para la preparación de la vacuna final a granel, solamente se puede utilizar una cosecha que cumpla los siguientes requisitos.

Identificación

Identificar los virus contenidos en la cosecha obtenida como virus de la rubéola por seroneutralización en cultivo celular, utilizando anticuerpos específicos.

Concentración en virus

Determinar la concentración en virus en la cosecha obtenida, para monitorear la consistencia de la producción y determinar la dilución a utilizar en la vacuna final a granel, según se indica en *Valoración*.

Ensayo para Agentes extraños en Vacunas virales <415>

Debe cumplir con los requisitos.

Células control

Las células control de la producción del cultivo celular deben cumplir el ensayo de *Identificación* y 415. *Ensayo para agentes extraños en vacunas virales.*

Vacuna final a granel

Las cosechas de virus que cumplen los ensayos indicados anteriormente se mezclan y se clarifican para remover células. Se puede añadir un estabilizante adecuado y diluir las recolecciones mezcladas de un modo apropiado. Para la preparación del lote final, solamente se puede utilizar una vacuna final a granel que cumpla los siguientes requisitos.

Contaminación bacteriana y fúngica

La vacuna final a granel debe cumplir con los requisitos cuando se ensaya según se indica en 370. *Ensayo de esterilidad*, realizado utilizando 10 ml para cada medio.

Lote final

Para la liberación del producto se establece la mínima concentración de virus para asegurar que, basados en datos de estabilidad, la concentración indicada en la etiqueta se encontrará presente al final del período de validez.

Sólo se puede liberar para su uso un lote final que cumple los requisitos para la concentración mínima de virus, estabilidad térmica y cada uno de los requisitos según se indica en *Ensayos*. Si en la vacuna final a granel se ha realizado el ensayo para albúmina sérica bovina con resultados satisfactorios, se puede omitir su determinación en el lote final.

Estabilidad térmica

Mantener las muestras de la vacuna liofilizada sin reconstituir a 37 ° C durante 7 días. Determinar la concentración del virus según se indica en *Valoración* en paralelo entre la vacuna sometida a exposición al calor y la vacuna sin exposición al calor incubada a 5 ± 3 °C. La concentración de virus de la vacuna tratada térmicamente no debe ser mayor de 1,0 log₁₀ inferior que la concentración de la vacuna sin tratamiento térmico.

ENSAYOS

Identificación

Cuando la vacuna se reconstituye como se indica en la etiqueta y se mezcla con anticuerpos específicos contra el virus de la rubéola, pierde la capacidad de infectar cultivos celulares susceptibles a este virus.

Contaminación bacteriana y fúngica

Debe cumplir con de 370. *Ensayo de esterilidad.*

Albúmina sérica bovina

No más de 50 ng por dosis humana, determinada mediante un método inmunoquímico apropiado (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*).

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 3,0 %.

VALORACIÓN

Determinar el título de virus infectivos, al menos por triplicado, utilizando como mínimo cinco cultivos celulares para cada dilución (factor de dilución 0,5 log₁₀) o por otro método de igual precisión. Utilizar una preparación de referencia de virus adecuada para validar cada titulación. La concentración estimada del virus no es inferior a la indicada en la etiqueta; la concentración de virus mínima indicada en el rotulo, no debe ser menor de 1 × 10³ CCID₅₀ por dosis humana. El ensayo sólo es válido si el intervalo de confianza (*P* = 0,95) del logaritmo de la concentración vírica es menor de ± 0,3.

ROTULADO

Indicar en el rótulo la cepa de virus utilizada para la preparación de la vacuna, el tipo y el origen de las células utilizadas en la preparación de la vacuna, el título mínimo del virus expresado en CCID₅₀, que se debe evitar el contacto con desinfectantes, el período de tiempo en el que la vacuna se puede utilizar, una vez reconstituida, que la vacuna no debe ser administrada a mujeres embarazadas y que la mujer no puede quedar embarazada dentro de los dos meses posteriores a la administración de vacuna.

VACUNA CONTRA EL SARAMPION, VIVA

Vaccinum morbillorum vivum

Definición - La Vacuna contra el Sarampión, viva es en una preparación liofilizada obtenida a partir de una cepa viva atenuada del virus del sarampión. La vacuna, reconstituida inmediatamente antes de su uso según lo indicado en el rótulo, debe tener la apariencia de un líquido transparente, que puede ser coloreado por la presencia de un indicador de pH. La Vacuna contra el Sarampión, viva debe cumplir con los siguientes requisitos.

PRODUCCIÓN

La producción de la vacuna se basa en un sistema de lotes de semilla de virus, en el caso de virus que se propagan en células diploides humanas se utiliza un sistema de banco de células. El método de producción debe demostrar que obtiene en forma uniforme, vacunas vivas contra el sarampión de adecuada inmunogenicidad e inocuidad para el hombre. A no ser que esté debidamente justificado y autorizado, el virus de la vacuna final no deberá tener un número de pasajes, desde el lote de semilla maestro, superior al que se empleó para preparar la vacuna que demostró en los estudios clínicos ser segura y eficaz. Incluso en las excepciones autorizadas, el número de pasajes, más allá del utilizado para estudios clínicos, no deberá ser mayor de cinco.

El método de producción debe estar validado para demostrar que el producto, si es analizado, cumple con los requisitos de 360. *Ensayo de toxicidad anormal* y 745. *Vacunas de uso humano*.

Sustrato para multiplicación del virus

El virus se multiplica en células diploides humanas o en cultivos de células de embrión de pollo obtenidos de criaderos libres de patógenos específicos (ver 1125. *Sustratos Celulares para la producción de Vacunas de uso humano*).

Lote semilla

La cepa del virus de sarampión utilizada debe estar identificada por registros históricos que incluyan información sobre el origen de la cepa y su posterior manipulación. Para evitar la utilización innecesaria de monos en el ensayo de neurovirulencia, los lotes de siembra se deben preparar en cantidades importantes y se deben conservar a una temperatura menor de -20°C si están liofilizados, o menor de -60°C , si no están liofilizados.

Para la multiplicación del virus, solamente se puede utilizar un lote semilla de virus que cumpla los siguientes requisitos.

Identificación

Identificar los lotes semilla maestra y de trabajo como de virus del sarampión, por un ensayo de seroneutralización en el cultivo celular, utilizando anticuerpos específicos.

Concentración del virus

Controlar la concentración del virus en los lotes semilla y de lote semilla de trabajo para asegurar la uniformidad de la producción.

Ensayo para agentes extraños en vacunas virales <415>

El lote de semilla de trabajo debe cumplir con los requisitos para los lotes semilla maestros.

Ensayo de neurovirulencia para vacunas a virus vivo <339>

Debe cumplir con los requisitos. Los monos *Macaca* y *Cercopithecus*, sensibles al virus del sarampión, son apropiados para este ensayo.

Multiplicación del virus y cosecha

Todos los procesos del banco celular y posteriores cultivos celulares se deben realizar bajo condiciones de asepsia, en una zona donde no se manipulan otros tipos de células. En el medio de crecimiento celular se puede utilizar suero animal apropiado, pero no suero humano; sin embargo, el medio final, destinado al mantenimiento del crecimiento celular a lo largo de la multiplicación viral, no contiene suero animal. El suero y la tripsina utilizados en la preparación de suspensiones celulares y de medios de cultivo deben estar libres de agentes extraños. El medio de cultivo celular puede contener un indicador de pH, tal como rojo fenol, así como antibióticos apropiados en la concentración efectiva más baja. Durante la producción es preferible disponer de un sustrato exento de antibióticos. Se debe reservar aparte como células control no infectadas (células control) no menos de 500 ml de la producción de cultivo celular. Las suspensiones vírales se cosechan al tiempo apropiado para la cepa viral utilizada.

Para la preparación de la vacuna final a granel, solamente se puede utilizar una cosecha individual que cumpla los siguientes requisitos.

Identificación

Identificar los virus contenidos en la cosecha individual como virus del sarampión, por un ensayo de seroneutralización en cultivo celular, utilizando anticuerpos específicos.

Concentración de virus

Determinar la concentración de virus en la cosecha individual según se indica en *Valoración*, para monitorear la uniformidad de la producción y

determinar la dilución a utilizar en la vacuna final a granel.

Ensayo para agentes extraños en vacunas virales <415>

La cosecha individual debe cumplir con los requisitos.

Células control

Si se utilizan células diploides humanas para la producción, las células control deben cumplir con los requisitos de *Identificación y 415. Ensayo para agentes extraños en vacunas virales.*

Vacuna final a granel

Las cosechas de virus que cumplen con los ensayos indicados anteriormente se mezclan y se clarifican para remover las células. Se puede agregar un estabilizante apropiado y diluir las cosechas mezcladas de un modo apropiado. Para la preparación del lote final, solamente se puede utilizar una vacuna final a granel que cumpla el siguiente requisito.

Contaminación bacteriana y fúngica

La vacuna final a granel debe cumplir con *370. Ensayos de esterilidad* realizado utilizando 10 ml para cada medio.

Lote final

Para la liberación del producto se establece la mínima concentración de virus para asegurar que, basados en datos de estabilidad, la concentración indicada en el rótulo se encontrará presente al final del período de validez. Sólo se puede liberar para su uso un lote final que cumpla los requisitos de la concentración mínima de virus, *Estabilidad térmica* y con cada uno de los requisitos indicados en *Ensayos*. Si en la vacuna final a granel se ha realizado el ensayo para albúmina sérica bovina con resultados satisfactorios, se puede omitir su determinación en el lote final.

Estabilidad térmica

Mantener las muestras del lote final de la vacuna liofilizada en condiciones sin reconstituir a 37 °C durante 7 días. Determinar la concentración de virus según se indica en *Valoración* en paralelo entre la vacuna tratada térmicamente y la vacuna sin exposición al calor conservada a 5 ± 3 °C. La concentración de virus para la vacuna tratada térmicamente no debe ser mayor de $1,0 \log_{10}$ inferior que para la vacuna sin tratamiento térmico.

ENSAYOS

Identificación

Reconstituir la Vacuna contra el Sarampión, viva según se indica en el rótulo, mezclar con anticuerpos específicos del virus del sarampión: debe perder la capacidad de infectar cultivos celulares susceptibles a este virus.

Contaminación bacteriana y fúngica

Reconstituir la vacuna según se indica en el rótulo. Debe cumplir con *370. Ensayos de esterilidad.*

Albúmina sérica bovina

No más de 50 ng por dosis humana, determinada mediante un método inmunoquímico apropiado (ver *635. Métodos inmunoquímicos*).

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 3,0 % p/p.

VALORACIÓN

Determinar el título de virus infectivos, al menos por triplicado, utilizando como mínimo cinco cultivos celulares para cada dilución (factor de dilución $0,5 \log_{10}$) o por otro método de similar precisión. Utilizar una preparación de referencia de virus adecuada para validar cada titulación. La concentración de virus estimada no debe ser menor a la indicada en el rótulo; la concentración de virus mínima indicada en el rótulo no debe ser menor de 1×10^3 CCID₅₀ por dosis humana. El ensayo sólo es válido si el intervalo de confianza ($P = 0,95$) del logaritmo de la concentración vírica es menor de $\pm 0,3$.

ROTULADO

Indicar en el rótulo la cepa de virus utilizada para la preparación de la vacuna, el tipo y el origen de las células utilizadas, la mínima concentración de virus expresada en dosis infectiva en cultivos de células (CCID₅₀), que se debe evitar el contacto con desinfectantes, y el periodo de tiempo en el que la vacuna se puede utilizar, una vez reconstituida.

VACUNA CONTRA EL TÉTANOS, ADSORBIDA

Vaccinum tetani adsorbatum

Definición - La Vacuna contra el Tétanos, Adsorbida es una preparación de toxoide tetánico formolizado, adsorbido sobre un soporte mineral. El toxoide formolizado se prepara a partir de la toxina producida por cultivo de *Clostridium tetani*. La Vacuna contra el Tétanos, Adsorbida debe cumplir con los siguientes requisitos.

PRODUCCIÓN

Consideraciones generales

El método de producción debe estar validado para demostrar que el producto al ser analizado, cumple el siguiente requisito.

Toxicidad específica

Seleccionar un grupo de cinco cobayos sanos, de 250 a 350 g de peso, sin tratamientos previos con alguna sustancia que pueda interferir con el ensayo e inyectar a cada animal, por vía subcutánea, cinco veces la dosis humana indicada en el rótulo. Si dentro de los 21 días siguientes a la inyección, ninguno de los animales muere o muestra síntomas de tétanos, la vacuna cumple con el ensayo. Si muere más de un animal por causas inespecíficas, repetir el ensayo una vez. Si muere más de un animal esta segunda vez, la vacuna no cumple con el ensayo.

Toxoide tetánico purificado a granel

En la producción de la toxina tetánica, a partir de la cual se obtiene el toxoide, se debe utilizar un sistema de cultivo de lote semilla que conserve la toxigenicidad del microorganismo. En caso de ser necesario restaurar por reelección deliberada a partir de los lotes semilla. Los cultivos se deben realizar en un medio líquido apropiado y con una cepa altamente toxigénica de *Clostridium tetani*, de procedencia e historia documentadas. Al final del período de incubación, debe comprobarse la pureza de cada cultivo y descartar los contaminados. El medio conteniendo la toxina se debe cosechar asépticamente y se debe determinar el contenido en toxina (Lf por ml) para monitorear la consistencia de la producción. Para la preparación del granel del toxoide purificado se pueden mezclar cosechas individuales de toxina tetánica. La toxina se debe purificar con el objeto de eliminar sustancias que pudieran causar efectos adversos en humanos. La toxina purificada es detoxificada por tratamiento con formaldehído por un método que evite la destrucción de la potencia inmunogénica del toxoide así como su reversión a toxina, particularmente si se expuso al calor. También es

posible realizar la purificación después de la detoxificación.

Para la producción de la preparación final de vacuna a granel sólo pueden utilizarse preparaciones de toxoide purificado que cumplan con los siguientes requisitos.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, sembrando 10 ml por cada medio.

Ausencia de toxina tetánica e irreversibilidad del toxoide

Preparar una solución de toxoide purificado a granel empleando la misma solución reguladora de la vacuna final sin adsorbente, a la misma concentración final que en la vacuna. Dividir la dilución en dos partes iguales. Mantener una a $5 \pm 3^\circ\text{C}$ y la otra a 37°C durante 6 semanas. Utilizar quince cobayos, de 250 a 350 g de peso, sin tratamientos previos con alguna sustancia que pueda interferir con el ensayo y dividirlos en tres grupos de cinco animales cada uno. Inyectar a cada animal del primer grupo, por vía subcutánea, 5 ml de la dilución incubada a $5 \pm 3^\circ\text{C}$. Inyectar, a cada animal del segundo grupo, por vía subcutánea, 5 ml de la dilución incubada a 37°C . Inyectar, a cada animal del tercer grupo por vía subcutánea, no menos de 500 Lf de toxoide purificado no incubado, en un volumen de 1 ml. El toxoide purificado a granel cumple con el ensayo si dentro de los 21 días siguientes a la inyección, ninguno de los animales muere o muestra síntomas de toxemia tetánica. Si muere más de un animal por causas inespecíficas, se repite el ensayo una vez. Si muere más de un animal esta segunda vez, el toxoide no cumple con el ensayo.

Pureza antigénica

El contenido no debe ser menor de 1.000 Lf por mg de nitrógeno proteico.

Vacuna final a granel

La preparación final de vacuna a granel se obtiene mediante adsorción, de una cantidad apropiada de toxoide purificado a granel (no mayor de 25 Lf), en un soporte mineral como el fosfato de aluminio hidratado o hidróxido de aluminio; la mezcla resultante es aproximadamente isotónica con la sangre. Se pueden agregar conservantes antimicrobianos apropiados. Algunos conservantes, como los fenólicos no se deben emplear porque afectan la actividad antigénica. Para la preparación del lote final sólo pueden utilizarse graneles de vacuna que cumplen los siguientes requisitos.

Conservantes <80>

La cantidad no debe ser menos de 85 % y no más de 115 % de la cantidad declarada.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, sembrando 10 ml en cada medio.

Lote final

La vacuna final a granel se debe distribuir asépticamente en envases estériles, para inyectables, con cierre inviolable. Los envases deben ser cerrados de tal manera de evitar la contaminación. Solo los lotes finales que cumplan los requisitos indicados en *Ensayos y Valoración*, pueden ser liberados para su uso. Los ensayos de *Formaldehído libre*, 80. *Conservantes* y la *Valoración* pueden omitirse en los lotes finales de vacuna, siempre que se demuestre que se han llevado a cabo en la vacuna final a granel con resultados satisfactorios.

ENSAYOS

Identificación

Identificar el toxoide tetánico por un método inmunoquímico apropiado (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*) previa desadsorción del soporte mineral utilizado como adyuvante. El siguiente método de desadsorción, aplicable a ciertas vacunas, es dado como ejemplo: disolver, en la vacuna en ensayo suficiente cantidad de citrato de sodio para obtener una solución de aproximadamente 100 g por litro. Mantener a 37 °C durante 16 horas y centrifugar hasta obtener un sobrenadante líquido claro. Dicho sobrenadante reacciona con una antitoxina tetánica, produciendo un precipitado.

Aluminio

Proceder según se indica en *Determinación de aluminio en vacunas adsorbidas* en 745. *Vacunas de uso humano*.

Formaldehído libre

Proceder según se indica en *Formaldehído libre* en 745. *Vacunas de uso humano*.

Conservantes <80>

El contenido no debe ser menor que la mínima cantidad que haya mostrado ser efectiva y no más de 115 % de la cantidad declarada en el rótulo.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Determinar la potencia de la Vacuna contra el Tétanos, Adsorbida por administración de la vacuna a animales (cobayos o ratones) seguida por el desafío con toxina tetánica (método A o B) o por la determinación del título de anticuerpos contra el toxoide tetánico en el suero de los cobayos (método C). En ambos casos la potencia de la vacuna se

calcula por comparación con la vacuna de referencia calibrada en Unidades Internacionales. Para los métodos A y B puede usarse el método de DL₅₀. Para el método de DL₅₀, el número de animales y el procedimiento son idénticos a los descritos para el método de parálisis pero el punto final es la muerte de los animales en lugar de la parálisis. [La Unidad Internacional es la actividad contenida en una cantidad establecida del Estándar Internacional para el toxoide tetánico adsorbido. La equivalencia en Unidades Internacionales del Estándar Internacional es establecida por la Organización Mundial de la Salud.]

El método elegido para la valoración de la vacuna contra el tétanos adsorbida depende del propósito propuesto. Los métodos A o B se utilizan durante el desarrollo de la vacuna, para valoración de lotes producidos para validar la producción; o cuando se necesita validación después de un cambio significativo en el proceso de manufactura. Pueden ser utilizados para valoración de rutina de lotes de vacunas pero teniendo en cuenta criterios de protección animal, siempre que sea posible se utiliza el método C.

El método C puede ser utilizado, excepto en los puntos 1 y 2 mencionados anteriormente, después de la verificación de la adecuabilidad del mismo para el producto a ser examinado. Para verificar su adecuabilidad, un número adecuado de lotes (usualmente 3) deben ser valorados por el método C y por el método A o B.

Cuando se preparan diferentes vacunas (monovalentes o combinadas) a partir de toxoide tetánico del mismo origen, la adecuabilidad demostrada para la combinación con el mayor número de componentes puede asumirse como válida para las combinaciones con menor número de componentes y para la vacuna monovalente. Para combinaciones con componente pertussis celular se debe realizar una demostración separada de la equivalencia para la mayor combinación.

El diseño de los ensayos sigue un modelo de diluciones múltiples para la preparación a ser ensayada y la de referencia.

En base a datos de potencia obtenida en los ensayos de diluciones múltiples es posible disminuir el número de animales necesario para obtener un resultado estadísticamente significativo por aplicación de un modelo simplificado utilizando una única dilución para ambas preparaciones. Este modelo permite al analista determinar si la potencia de la preparación a ser ensayada es significativamente mayor que el mínimo requerido pero no da información sobre la curva dosis respuesta, su pendiente, linealidad y paralelismo.

Cuando se utiliza un ensayo de una única dilución, debe monitorearse a lo largo del tiempo la consistencia del ensayo y de la producción usando indicadores adecuados y realizando un ensayo completo de diluciones múltiples periódicamente, por ejemplo cada 2 años. Para valoraciones serológicas, los indicadores adecuados para monitorear la consistencia del ensayo son valor promedio y desviación estándar de los títulos relativos de antitoxina o scores de las muestras de suero obtenido después de la administración de una dosis fija de la preparación de referencia, títulos de antitoxinas de los controles ensayados (muestras de sueros positivos y negativos), relación de los títulos de antitoxina del suero control positivo y las muestras de suero correspondientes a la vacuna de referencia.

Método A. Ensayo de desafío en cobayos.

Selección y distribución de los animales para el ensayo - Emplear en el ensayo cobayos sanos provenientes del mismo stock, de 250 a 350 gr. de peso. Distribuir los cobayos en no menos de 6 grupos iguales; utilizar grupos conteniendo un número de animales suficiente para obtener resultados que cumplan los requerimientos de validez del ensayo. Si es necesario determinar la actividad de la toxina de desafío a ser utilizada, incluir 3 grupos más de 5 cobayos como controles no vacunados. Emplear cobayos del mismo sexo o machos y hembras igualmente distribuidos entre los grupos.

Selección de la toxina de desafío - Seleccionar una preparación de toxina tetánica conteniendo no menos de 50 veces la dosis parálitica 50 % por mililitro. Si la preparación de la toxina de desafío ha demostrado ser estable no es necesario verificar la dosis parálitica para cada ensayo.

Preparación de la solución de la toxina de desafío - Diluir, inmediatamente antes de emplear, la toxina de desafío con un diluyente adecuado (por ejemplo, solución salina peptonada regulada pH 7,4) para obtener una solución de toxina de desafío estable conteniendo aproximadamente 50 veces la dosis parálitica 50 % por ml. Cuando sea necesario, utilizar porciones de la solución de toxina de desafío diluida 1/16, 1/50 y 1/160 con el mismo diluyente para determinar la actividad de la toxina.

Dilución de la muestra y de la preparación de referencia - Preparar diluciones de la vacuna a ser examinada y de la preparación de referencia empleando una solución de cloruro de sodio 9 g/l de forma tal que las diluciones formen una serie difiriendo por no más de 2,5 veces y que las diluciones intermedias, cuando son inyectadas subcutáneamente a una dosis de 1.0 ml por cobayo

protejan aproximadamente el 50 por ciento de los animales de los efectos paráliticos de la inyección subcutánea de la cantidad de toxina tetánica indicada para ese ensayo.

Inmunización y desafío - Asignar 1 dilución a cada grupo de cobayos e inyectar subcutáneamente 1,0 ml de cada dilución en cada cobayo del grupo al cual la dilución fue asignada. Después de 28 días, inyectar subcutáneamente en cada animal 1,0 ml de la solución de toxina de desafío (conteniendo 50 veces la dosis parálitica 50 %).

Determinación de la actividad de la toxina de desafío - Si es necesario, asignar las 3 diluciones realizadas a partir de la solución de toxina de desafío, una a cada uno de los 3 grupos de 5 cobayos e inyectar subcutáneamente 1.0 ml de cada solución en cada cobayo del grupo en el cual esa solución fue asignada.

La actividad y la estabilidad de la toxina de desafío se determinan realizando un número adecuado de determinaciones de la dosis parálitica 50 %, por lo tanto no es necesario repetir la determinación para cada ensayo.

Lectura e interpretación de los resultados - Examinar los cobayos dos veces al día. Remover y sacrificar todos los animales que muestren signos definidos de parálisis tetánica. Contar el número de cobayos sin parálisis 5 días después de la inyección de la toxina de desafío. Calcular la potencia de la vacuna a ser examinada relacionada a la potencia de la preparación de referencia en base a la proporción de animales desafiados sin parálisis en cada uno de los grupos de los cobayos vacunados, empleando métodos estadísticos usuales.

El ensayo sólo es válido si tanto para la vacuna a ser analizada como para la preparación de referencia la dosis protectora 50 % se encuentra entre la mayor y la menor dosis administradas a los cobayos; cuando corresponda, el número de animales paralizados en los tres grupos de los cinco inyectados con las diluciones de la solución de la toxina de desafío indican que el desafío fue aproximadamente 50 veces la dosis parálitica 50 %; los límites de confianza ($P=0.95$) son no menores que 50 por ciento y no mayores que 200 por ciento de la potencia estimada; - el análisis estadístico muestra pendiente significativa y no muestra desviación de la linealidad y del paralelismo de las curvas dosis respuesta. El ensayo puede ser repetido, pero si se realiza más de 1 ensayo, los resultados de todos los ensayos válidos deben ser combinados para la estimación de la potencia.

Método B. Ensayo de desafío en ratones

Selección y distribución de los animales para el ensayo - Emplear ratones sanos provenientes del

mismo stock, de alrededor de 5 semanas de edad, de una cepa que haya mostrado ser adecuada. Distribuir los ratones en no menos de 6 grupos iguales, utilizar grupos conteniendo un número de animales suficiente para obtener resultados que cumplan los requerimientos de validez del ensayo. Si la toxina de desafío a ser utilizada no ha mostrado ser estable o no ha sido adecuadamente estandarizada, incluir 3 grupos de no menos de 5 ratones como controles no vacunados. Utilizar ratones del mismo sexo o machos y hembras igualmente distribuidos entre los grupos.

Selección de la toxina de desafío - Seleccionar una preparación de toxina tetánica conteniendo no menos de 100 veces la dosis parálítica 50 % por mililitro. Si la preparación de la toxina de desafío ha demostrado ser estable, no es necesario verificar la dosis parálítica para cada ensayo.

Preparación de la solución de la toxina de desafío - Diluir inmediatamente antes de emplear, la toxina con un diluyente adecuado (por ejemplo, solución salina peptonada regulada pH 7.4) para obtener una solución de toxina de desafío estable conteniendo aproximadamente 50 veces la dosis parálítica 50 % en 0.5 ml. Cuando sea necesario, diluir porciones de la solución de la toxina de desafío 1/16, 1/50 y 1/160 con el mismo diluyente para determinar la actividad de la toxina.

Dilución de la muestra y de la preparación de referencia - Preparar diluciones de la vacuna a ser examinada y de la preparación de referencia usando una solución de 9 g de cloruro de sodio por litro, de forma tal que, las diluciones formen una serie difiriendo por no más de 2, 5 veces y que las diluciones intermedias, cuando son inyectadas subcutáneamente a una dosis de 0,5 ml por ratón proteja aproximadamente el 50 por ciento de los animales de los efectos paralíticos de la inyección subcutánea de la cantidad de toxina tetánica indicada para ese ensayo.

Inmunización y desafío - Asignar una dilución a cada grupo de ratones e inyectar subcutáneamente 0,5 ml de cada dilución en cada ratón del grupo al cual la dilución fue asignada. Después de 28 días, inyectar subcutáneamente en cada animal 0,5 ml de la solución de toxina de desafío (conteniendo 50 veces la dosis parálítica 50 %).

Determinación de la actividad de la toxina de desafío - Si es necesario, asignar tres diluciones realizadas a partir de la solución de toxina de desafío, a cada uno de los tres grupos de no menos de 5 ratones e inyectar subcutáneamente 0,5 ml en cada ratón en el grupo en la cual esa dilución fue asignada.

Lectura e interpretación de los resultados - Examinar los ratones 2 veces al día. Remover y

sacrificar todos los animales que muestren signos definidos de parálisis tetánica. Contar el número de ratones sin parálisis cuatro días después de la inyección de la toxina de desafío. Calcular la potencia de la vacuna a ser examinada relacionada a la potencia de la preparación de referencia en base a la proporción de animales desafiados sin parálisis en cada uno de los grupos de los ratones vacunados, utilizando los métodos estadísticos usuales.

El ensayo sólo es válido si para la vacuna a ser examinada y la preparación de referencia, la dosis protectora 50 % cae entre la mayor y la menor dosis de las preparaciones dadas a los ratones; cuando corresponda, el número de animales paralizados en los tres grupos de no menos de 5 animales inyectados con las diluciones de la solución de la toxina de desafío indican que el desafío fue aproximadamente 50 veces la dosis parálítica 50 %; los límites de confianza ($p=0.95$) son no menor que el 50 por ciento y no mayor que el 200 por ciento de la potencia estimada; el análisis estadístico muestra pendiente significativa y no muestra desviación de la linealidad y del paralelismo de las curvas dosis-respuesta. El ensayo puede ser repetido pero cuando se realiza más de un ensayo, los resultados de todos los ensayos válidos deben ser combinados para la estimación de la potencia.

Método C. Determinación de anticuerpos en cobayos.

Selección y distribución de los animales para el ensayo - Emplear en el ensayo, cobayos sanos provenientes del mismo stock, de 250-350 gr. de peso. Utilizar cobayos del mismo sexo o machos y hembras igualmente distribuidos entre los grupos. Distribuir los cobayos en no menos de 6 grupos iguales, utilizar grupos conteniendo un número de animales suficiente para obtener resultados que cumplan los requerimientos de validez del ensayo. Emplear un grupo de cobayos no vacunados del mismo origen como control de suero negativo. Si la consistencia del ensayo fue demostrada se puede utilizar un control de suero negativo de referencia.

Preparación de referencia - Emplear una preparación de referencia adecuada o un lote de vacuna que haya demostrado ser efectiva en estudios clínicos, o un lote representativo de éste que hayan sido calibradas en Unidades Internacionales con una vacuna adsorbida contra tétanos de referencia o con un estándar Internacional para el toxoide tetánico adsorbido.

Dilución de la muestra y de la preparación de referencia - Preparar diluciones seriadas de la vacuna a ser examinada y de la preparación de referencia empleando una solución de cloruro de sodio 9 g por litro (pueden ser adecuadas series

difiriendo por 2, 5 a 5 veces). Utilizar no menos de tres diluciones en un rango de por ejemplo 0,5 a 16 UI por ml para cada una de las series. Utilizar las diluciones para inmunización preferiblemente antes de una hora de su preparación. Asignar una dilución a cada grupo de cobayos.

Inmunización - Inyectar subcutáneamente en la nuca de cada cobayo 1,0 ml de la dilución asignada a cada grupo.

Extracción de sangre - Luego de 35 a 42 días de la inmunización, extraer una muestra de sangre a cada cobayo vacunado y control utilizando un método apropiado.

Preparación de muestras de suero - Evitar el congelamiento y descongelamiento frecuente de las muestras de suero. Para evitar contaminación bacteriana es preferible realizar las manipulaciones en un gabinete de flujo laminar.

Determinación del título de anticuerpos - Determinar el título de anticuerpos relativo o score de cada muestra de suero por un método inmunoquímico adecuado. Métodos tales como ELISA e Inhibición de la unión de toxina (IUTO) se consideran adecuados y son descriptos más adelante.

Cálculo de la potencia - Calcular la potencia de la vacuna a ser examinada en Unidades Internacionales relacionada a la preparación de referencia, utilizando los métodos estadísticos usuales. [NOTA: Unidades Internacionales de potencia refiere a la vacuna de referencia y no a las Unidades Internacionales de la antitoxina del suero de cobayo de referencia.]

El ensayo sólo es válido si los límites de confianza ($p=0.95$) son no menor que 50 por ciento y no mayor que 200 por ciento de la potencia estimada,; el análisis estadístico muestra pendiente significativa y no muestra desviación de la linealidad y del paralelismo de la curva dosis-respuesta. El ensayo puede ser repetido pero cuando se realiza más de un ensayo los resultados de todos los ensayos válidos deben combinarse para la estimación de la potencia.

El límite de confianza inferior ($P = 0,95$) de la potencia estimada no debe ser menor de 40 U.I por dosis humana.

CONSIDERACIONES

Método A. Ensayo de desafío en cobayos

Lectura e interpretación de los resultados - Con el fin de minimizar el sufrimiento de los animales de prueba se recomienda registrar el grado de parálisis en una escala. La escala da signos típicos cuando la inyección de la toxina de desafío se realiza en la región media-ventral, directamente detrás del esternón con una aguja apropiada a través

del cuello del cobayo. El grado T3 es dado como punto final, pero con experiencia el grado T2 puede ser utilizado en su lugar. La toxina tetánica produce por lo menos parálisis de 1 de los miembros delanteros que puede ser reconocido en un estadio temprano. El grado de tetania en cobayos se caracteriza por los siguientes signos:

-T1: leve rigidez de un miembro delantero, pero difícil de observar;

-T2: paresia de un miembro delantero que puede todavía funcionar.

-T3: parálisis de 1 miembro delantero. El animal se mueve de mala gana, el cuerpo está ligeramente con forma de banana debido a la escoliosis.

-T4: el miembro delantero está completamente rígido y los dedos inmóviles. La contracción muscular de los miembros delanteros es muy pronunciada y usualmente se observa escoliosis.

-T5: ataque tetánico, espasmo tónico continuo de los músculos,

-D: muerte

Método B. Ensayo de desafío en ratones.

Lectura e interpretación de los resultados - Con el fin de minimizar el sufrimiento de los animales de prueba se recomienda registrar el grado de parálisis en una escala como se muestra más adelante. La escala da signos típicos cuando la inyección de la toxina de desafío se realiza en la región dorsal, cerca de una de las patas traseras. El grado T3 es dado como punto final, pero con experiencia el grado T2 puede ser utilizado en su lugar. La toxina tetánica produce en la pata trasera inyectada con la toxina paresia seguida de parálisis que puede ser reconocido en un estadio temprano. El grado de tetania en ratones se caracteriza por los siguientes signos:

-T1: leve rigidez de la pata trasera inyectada con la toxina, solo cuando el ratón es levantado por la cola;

-T2: paresia de la pata trasera inyectada con toxina, la cual puede funcionar para caminar;

-T3: parálisis de la pata posterior inyectada con toxina; la cual no funciona para caminar;

-T4: la pata posterior inyectada con toxina está completamente rígida con los dedos inmóviles;

-T5: ataque tetánico, espasmo tónico continuo de los músculos,

-D: muerte

Método C. Determinación de anticuerpos en cobayos.

Preparación de muestras de suero - Invertir los tubos conteniendo muestras de sangre 6 veces e incubar en posición vertical a 37 °C por 2 horas, luego a 4°C por 2 horas. Centrifugar a temperatura ambiente a 800 g por 20 minutos. Transferir el

siero a tubos estériles y conservar a temperatura inferior a -20°C , Al menos una producción de 40% de suero es obtenido por este procedimiento.

Determinación del título de anticuerpos - Los ensayos de ELISA e IUTo son algunos ejemplos de métodos inmunoquímicos que han sido encontrados adecuados para la determinación del título de anticuerpos.

Determinación del título de anticuerpos en suero de cobayos por ensayo de ELISA - Se realizan diluciones de la muestra y del suero de referencia en placas de ELISA adsorbidos con toxoide tetánico. Se incluyen en cada placa un control de suero de cobayo positivo y un control de suero de cobayo negativo para monitorear la performance del ensayo. Se agrega anticuerpos de conejo o cabra anti-IgG de cobayo conjugado a peroxidasa seguido por el agregado de un sustrato de peroxidasa. Se mide la absorbancia y se calcula el título relativo de anticuerpos utilizando métodos estadísticos usuales.

Reactivos y equipamiento:

- placas de ELISA de 96 pocillos, 1-12 columnas, filas A-H

- antisuero de cobayo contra *Clostridium tetani*

- conjugado de peroxidasa: anticuerpos de conejo o cabra contra IgG de cobayo conjugados a peroxidasa.

- toxoide tetánico

- Solución reguladora de carbonato para cobertura pH 9,6: Disolver 1,59 g de carbonato de sodio anhidro y 2,93 g de carbonato ácido de sodio en 1.000 ml de agua. Distribuir en botellas de 150 ml y esterilizar por autoclave a 121°C por 15 minutos.

- Solución reguladora salina fosfatada pH 7.4 (PBS): Disolver con agitación 80 g de cloruro de sodio, 2,0 g de fosfato diácido de potasio, 14,3 g de fosfato monoácido disódico dihidratado y 2,0 g de cloruro de potasio en 1.000 ml de agua. Conservar a temperatura ambiente para prevenir la cristalización. Diluir 10 veces su volumen con agua antes de usar.

- Solución de ácido cítrico: Disolver 10,51 g de ácido cítrico en 1.000 ml de agua y ajustar la solución a pH 4.0 con una solución de hidróxido de sodio 400 g por litro

- Solución reguladora de lavado: PBS conteniendo 0,5 g por litro de polisorbato 20

- Solución diluyente bloqueante: PBS conteniendo 0,5 g por litro de polisorbato 20 y 25 g por litro de leche descremada deshidratada.

- Sustrato de la peroxidasa: Poco antes de su uso, disolver 10 mg de 2,2 azino-bis(3etil-benzotiazolina-6-sulfonato)de diamonio en 20 ml de solución de ácido cítrico. Inmediatamente antes

de su uso agregar 5 μl de solución de peróxido de hidrogeno fuerte.

Método:

La siguiente descripción es dada como ejemplo de un posible diseño de la placa pero pueden ser utilizados otros diseños. Los pocillos 1 A-H son para el suero control negativo y los pocillos 2 A-H y 3 A-H son para el suero control positivo para monitoreo del ensayo. Los pocillos 4-12 A-H son para muestras. Cubrir cada pocillo de las placas de ELISA con 100 μl de solución de toxoide tetánico (0,5 Lf por ml en solución reguladora de carbonato para cobertura).

Incubar toda la noche a 4°C en una atmósfera húmeda. Para evitar interferencia por el gradiente de temperatura no apilar más de 4 placas. Al día siguiente, lavar las placas completamente con solución reguladora de lavado. Bloquear las placas por agregado de 100 μl de solución diluyente bloqueante en cada pocillo.

Incubar en atmósfera húmeda a 37°C por una hora. Lavar las placas completamente con solución reguladora de lavado. Colocar 100 μl solución diluyente bloqueante en cada pocillo de las placas, excepto aquellas de la fila A. Preparar diluciones adecuadas de suero control negativo, suero control positivo (a partir de 0,01 UI por ml) y del suero a ensayar. Asignar el suero control negativo a la columna 1, suero control positivo a las columnas 2 y 3, el suero a ensayar a las columnas 4-12 y agregar 100 μl de cada suero a los primeros 2 pocillos de la columna a la cual fue asignado. Utilizando una micropipeta multicanal, realizar diluciones seriadas al medio a partir de la fila B hacia abajo de la placa hasta la fila H por transferencia de 100 μl hacia el siguiente pocillo. Descartar 100 μl de la última fila de manera que todos los pocillos contengan 100 μl . Incubar a 37°C por 2 horas. Lavar minuciosamente con solución reguladora de lavado. Preparar diluciones adecuadas (p.ej. una dilución 1/2000) del conjugado de peroxidasa en solución diluyente bloqueante y agregar 100 μl a cada pocillo. Incubar a 37°C en atmósfera húmeda por 1 hora. Lavar las placas con solución reguladora de lavado. Agregar 100 μl de sustrato de peroxidasa a cada pocillo. Incubar a temperatura ambiente, protegido de la luz, por 30 minutos. Leer las placas a 405 nm en el mismo orden en que el sustrato fue agregado.

Determinación del título de anticuerpos en suero de cobayos por inhibición de la unión del toxoide o de la toxina (IUTo).

Se agrega la toxina o el toxoide tetánico a diluciones seriadas del suero muestra y de referencia; la mezcla suero/ antígeno se incuban toda la noche. Para determinar el toxoide o la toxina

no unida, las mezclas son transferidas a una placa de ELISA cubierta con antitoxina tetánica. Se agrega IgG antitetánica equina conjugada a peroxidasa seguida por el sustrato de peroxidasa. Se mide la absorbancia y el título de anticuerpos se calcula utilizando métodos estadísticos usuales. Un suero control positivo y un suero control negativo son incluidos en cada placa para monitorear la performance del ensayo.

Reactivos y equipamiento:

- placas de microtitulación de poliestireno rígidas de fondo redondeado.
- placas de ELISA de fondo plano
- toxina tetánica o toxoide tetánico
- antisuero de cobayo anti *Clostridium tetani*
- IgG equina antitetánica
- IgG equina antitetánica conjugada con peroxidasa
- Solución reguladora carbonato pH 9,6: Disolver 1,5 g de carbonato de sodio anhidro, 2,39 g de carbonato ácido de sodio y 0,2 g de azida sódica en 1.000ml de agua, ajustar a pH 9,6 y autoclavar a 121 °C por 20 minutos.
- Solución reguladora acetato de sodio pH 5,5: Disolver 90,2 g de acetato de sodio anhidro en 900 ml de agua. Ajustar a pH 5,5 usando una solución saturada de ácido cítrico monohidratado y diluir a 1.000 ml con agua.
- Solución reguladora salina fosfatada pH 7,2 (PBS). Disolver 135 g de cloruro de sodio, 20,55 g de fosfato monoácido disódico dihidratado y 4,8 g de fosfato diácido monosódico monohidratado en agua y diluir a 15 litros con el mismo solvente. Autoclavar a 100 °C durante 1 hora.
- Solución reguladora diluyente: PBS conteniendo albúmina bovina 5 g por litro y 0,5 g por litro de polisorbato 80.
- Solución reguladora bloqueante: PBS conteniendo albúmina bovina 5 g por litro.
- Solución de tetrametilbencidina: Solución de tetrametilbencidina 6 g por litro en alcohol. La sustancia se disuelve dentro de los 30-40 minutos a temperatura ambiente.
- Sustrato de peroxidasa. Mezclar 90 ml de agua, 10 ml de solución reguladora de acetato de sodio pH 5,5; 1,67 ml de solución de tetrametilbencidina y 20 µl de solución de peróxido de hidrogeno fuerte.
- Solución de lavado: agua de red conteniendo 0,5 g por litro de polisorbato 80.

Método:

Bloquear las placas de microtitulación de fondo redondeado colocando en cada pocillo 150 µl de solución reguladora bloqueante. Cubrir las placas

con un film o sellador. Incubar en atmósfera húmeda a 37 °C durante 1 hora. Lavar las placas completamente con solución de lavado. Colocar 100 µl de PBS en cada pocillo. Colocar 100 µl de la antitoxina tetánica de cobayo de referencia en el primer pocillo de cada una de las filas asignadas. Colocar 100 µl del suero muestra no diluida en el primer pocillo de cada una de las filas asignadas utilizando una pipeta multicanal realizar diluciones seriadas al medio a lo largo de la placa (hasta la columna 10) por transferencia de 100 µl de contenido al siguiente pocillo. Descartar 100 µl de la última columna de manera que todos los pocillos contengan 100 µl. Preparar una solución de toxina o toxoide tetánico 0,1 Lf por ml empleando PBS como diluyente. Agregar 40 µl de esta solución a todos los pocillos excepto a los de la columna 12. Los pocillos de la fila 11 son control positivo. Agregar 40 µl de PBS a los pocillos de la columna 12 (control negativo). Agitar las placas suavemente y cubrir las con tapas.

Cobertura de las placas de ELISA:

Inmediatamente antes del uso realizar una dilución adecuada de IgG antitetánica equina en solución reguladora carbonato pH 9,6 y agregar 100 µl a todos los pocillos. Incubar las dos series de placas toda la noche en una atmósfera húmeda a 37°C. Cubrir las placas con las tapas. Para evitar los efectos del gradiente de temperatura no apilar más de cuatro placas. Al día siguiente lavar las placas de ELISA con solución de lavado. Bloquear las placas colocando en cada pocillo 125 µl de solución reguladora bloqueante. Incubar a 37° C en atmósfera húmeda por 1 hora. Lavar las placas completamente con solución de lavado. Transferir 100 µl de la mezcla de preincubación de las placas de poliestireno a los pocillos correspondientes de las placas de ELISA, comenzando con la columna 12 y luego de la 1 a la 11. Cubrir las placas con tapas. Incubar a 37°C en atmósfera húmeda por 2 hs. Lavar las placas de ELISA con solución de lavado. Realizar una dilución adecuada (una dilución 1 en 4.000 puede ser adecuada) de la IgG anti tetánica equina conjugada con peroxidasa en solución reguladora diluyente. Agregar 100 µl de esta solución en cada pocillo y tapar las placas. Incubar a 37 °C en atmósfera húmeda por 1,5 horas. Lavar la placa de ELISA completamente con solución de lavado. Agregar 100 µl de sustrato de peroxidasa a cada pocillo. Se desarrolla un color azul. Incubar las placas a temperatura ambiente. Detener la reacción a un tiempo dado (dentro de los 10 minutos) por el agregado de 100 µl de ácido sulfúrico 2 M a cada pocillo en el mismo orden de la adición de sustrato. El color cambia de azul a amarillo. Medir la absorbancia a 450 nm

inmediatamente después del agregado de ácido sulfúrico o mantener las placas en un lugar oscuro hasta su lectura.

ROTULADO

Indicar en el rótulo el número mínimo de U.I. por dosis humana, el nombre y la cantidad del adyuvante. En el rótulo deben figurar las siguientes leyendas: “*Agitar antes de su uso*”; “*No congelar*”.

VACUNA CONTRA LA DIFTERIA Y EL TETANOS, ADSORBIDA

Vaccinum diphtheriae et tetani adsorbatum

Definición - La Vacuna contra la Difteria y el Tétanos, Adsorbida es en una preparación de toxoide diftérico y toxoide tetánico formolizados adsorbidos sobre un soporte mineral. Los toxoides formolizados se debe preparar a partir de las toxinas, producidas por cultivo de *Corynebacterium diphtheriae* y *Clostridium tetani*, respectivamente. La Vacuna contra la Difteria y el Tétanos, Adsorbida debe cumplir con las siguientes especificaciones.

PRODUCCIÓN

Consideraciones generales

El método de producción debe estar validado para demostrar que el análisis del producto cumple con los siguientes requisitos.

Toxicidad específica - Seleccionar un grupo de cinco cobayos sanos, de 250 a 350 g de peso, sin tratamientos previos con alguna sustancia que pueda interferir con el ensayo; Inyectar a cada animal por vía subcutánea cinco veces la dosis humana indicada en el rótulo. Si dentro de los 42 días siguientes a la inyección, ninguno de los animales muere o muestra síntomas de toxemia diftérica o tetánica, la vacuna cumple con el ensayo. Si muere más de 1 animal por causas inespecíficas, repetir el ensayo una vez. Si muere más de 1 animal esta segunda vez, la vacuna no cumple con el ensayo.

Toxoide diftérico y tetánico purificado a granel

Proceder según se indica en *Toxoide difterico purificado a granel* en *Vacuna contra la Difteria, Adsorbida* y *Toxoide tetánico purificado a granel* en *Vacuna contra la Difteria, Adsorbida* y *Vacuna contra el Tétanos, Adsorbida*, respectivamente.

Vacuna final a granel

La preparación final de vacuna a granel se debe obtener mediante adsorción de una cantidad adecuada de las preparaciones de toxoides diftérico y tetánico purificados a granel en un soporte mineral como fosfato de aluminio hidratado o hidróxido de aluminio; la mezcla resultante es aproximadamente isotónica con la sangre. Se pueden agregar conservantes antimicrobianos apropiados. Algunos conservantes, como los fenólicos no se deben emplear porque afectan la actividad antigénica. Para la preparación del lote

final sólo pueden utilizarse graneles de vacuna que cumplen los siguientes requisitos:

Conservantes <80>

Debe contener no menos de 85 por ciento y no más de 115 por ciento de la cantidad declarada.

Ensayo de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, sembrando 10 ml en cada medio.

Lote final

La vacuna final a granel debe ser distribuida asépticamente en envases estériles, para inyectables, con cierre inviolable. Los envases deben ser cerrados de tal manera de evitar la contaminación.

Solo los lotes finales que cumplan los requisitos indicados en *Ensayos* y *Valoración*, pueden ser liberados para su uso. Los ensayos de conservantes antimicrobianos (ver 80. *Conservantes*), así como la determinación de la potencia, pueden omitirse en los lotes finales de vacuna, siempre que se hayan llevado a cabo en la correspondiente preparación final de vacuna a granel con resultados satisfactorios. El ensayo de *Formaldehído libre* puede omitirse en el lote final cuando los ensayos realizados en el toxoide purificado a granel o en la vacuna final a granel demuestren que el contenido no será mayor de 0,2 g por litro en el lote final.

ENSAYOS

Identificación

La identificación de los toxoides diftérico y tetánico requiere la desadsorción previa del soporte mineral utilizado como adyuvante. El siguiente método de desadsorción, aplicable a ciertas vacunas, es dado como ejemplo:

A - El toxoide diftérico es identificado por un método inmunoquímico apropiado (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*). Disolver, en la vacuna sometida a examen una cantidad suficiente de citrato de sodio para obtener una solución de aproximadamente 100 g por litro. Mantener a 37 °C durante 16 horas y centrifugar hasta obtener un sobrenadante líquido claro que debe reaccionar con una antitoxina diftérico, produciendo un precipitado. Reservar parte del sobrenadante para el ensayo B.

B - El toxoide tetánico es identificado por un método inmunoquímico apropiado (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*). El sobrenadante claro obtenido en el ensayo A debe reaccionar con una antitoxina tetánica apropiada, produciendo un precipitado.

Aluminio

Proceder según se indica en *Determinación de aluminio en vacunas adsorbidas* en 745. *Vacunas de uso humano*.

Formaldehído libre

Proceder según se indica en *Formaldehído libre* en 745. *Vacunas de uso humano*.

Conservantes <80>

Debe contener no menos de la mínima cantidad que se haya mostrado ser efectiva y no más de 115 % de la cantidad indicada en el rótulo.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACION

Componente diftérico - Proceder según se indica en *Valoración en Vacuna contra la Difteria, Adsorbida*. El límite de confianza inferior ($P = 0,95$) de la potencia estimada no debe ser menor de 30 U.I. por dosis humana.

Componente tetánico - Proceder según se indica en *Valoración en Vacuna contra el Tétanos, Adsorbida*. Si el ensayo se realiza en cobayos, el límite de confianza inferior ($P = 0,95$) de la potencia estimada no debe ser menor de 40 U.I. por dosis humana única.

ROTULADO

Indicar en el rótulo el número mínimo de U.I. de cada componente por dosis humana, el nombre y la cantidad de adyuvante. Indicar en el rótulo que la vacuna es destinada a la inmunización de niños y no es necesariamente adecuada para dosis de refuerzo ni para la administración en adultos. En el rótulo deben figurar las siguientes leyendas: “*Agitar antes de su uso*”; “*No congelar*”.

VACUNA CONTRA LA DIFTERIA Y EL TETANOS, ADSORBIDA, PARA ADULTOS Y ADOLESCENTES

Vaccinum diphtheriae et tetani adulti et adolescentis adsorbatum

Definición - La Vacuna contra Difteria y Tétanos, Adsorbida es en una preparación de toxoide diftérico y toxoide tetánico formolizados adsorbidos sobre un soporte mineral. Los toxoides formolizados se debe preparar a partir de las toxinas, producidas por cultivo de *Corynebacterium diphtheriae* y *Clostridium tetani*, respectivamente. La Vacuna contra Difteria y Tétanos, Adsorbida debe cumplir con las siguientes especificaciones.

PRODUCCIÓN

Consideraciones generales

El método de producción debe estar validado para demostrar que el análisis del producto cumple con los siguientes requisitos.

Toxicidad específica

Proceder según se indica en *Toxicidad específica* en *Vacuna contra la Difteria y el Tétanos, Adsorbida*.

Toxoide diftérico y tetánico purificado a granel

Proceder según se indica en *Toxoide diftérico y tetánico purificado a granel* en *Vacuna contra la Difteria y el Tetanos, Adsorbida*.

Vacuna final a granel

Debe cumplir con los requisitos según se indica en *Vacuna final a granel* en *Vacuna contra la Difteria y el Tétanos, Adsorbida*.

Lote final

La vacuna final a granel se debe distribuir asépticamente en envases estériles, para inyectables, con cierre inviolable. Los envases deben ser cerrados de tal manera de evitar la contaminación.

Solo los lotes finales que cumplan los requisitos indicados en *Ensayos y Valoración* pueden ser liberados para su uso. Los ensayos de conservante antimicrobiano, así como la determinación de la potencia, pueden omitirse en los lotes finales de vacuna, siempre que se hayan llevado a cabo en la correspondiente preparación final de vacuna a granel con resultados satisfactorios. El ensayo de *Formaldehído libre* puede omitirse en el lote final cuando los ensayos realizados en el toxoide purificado a granel o en la vacuna final a granel demues-

tren que el contenido no será mayor de 0,2 g por litro en el lote final.

ENSAYOS

Identificación

La identificación de los toxoides diftérico y tetánico requiere la desadsorción previa del soporte mineral utilizado como adyuvante. Los siguientes métodos de desadsorción, aplicable a ciertas vacunas, se dan como ejemplo.

A - El toxoide diftérico es identificado por un método inmunoquímico apropiado (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*). Disolver, en la vacuna sometida a examen cantidad suficiente de citrato de sodio para obtener una solución de aproximadamente 100 mg por ml. Mantener a 37 ° C durante 16 horas y centrifugar hasta obtener un sobrenadante líquido claro que debe reaccionar con una antitoxina diftérica, produciendo un precipitado.

En caso de no obtenerse el precipitado se utiliza el siguiente método: centrifugar 15 ml de la vacuna en ensayo; resuspender el residuo obtenido en 5 ml de una mezcla recientemente preparada de 1 volumen de una solución de 56 mg por ml de edetato de sodio y 49 volúmenes de una solución de 90 mg por ml de fosfato disódico. Mantener a 37 ° C durante no menos de 6 horas y centrifugar hasta obtener un sobrenadante líquido claro que debe reaccionar con una antitoxina diftérica, produciendo un precipitado. Reservar parte de los sobrenadantes para el ensayo B.

B - El toxoide tetánico es identificado por un método inmunoquímico apropiado (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*) en el sobrenadante claro obtenido en el ensayo A el que debe reaccionar con una antitoxina tetánica adecuada, produciendo un precipitado.

Aluminio

Proceder según se indica en *Determinación de aluminio en vacunas adsorbidas* en 745. *Vacunas de uso humano*.

Formaldehído libre

Proceder según se indica en *Formaldehído libre* en 745. *Vacunas de uso humano*.

Conservantes <80>

Debe contener no menos de la mínima cantidad que se haya mostrado ser efectiva y no más de 115 % de la cantidad declarada en el rótulo.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACION

Componente diftérico - Proceder según se indica en *Valoración* en *Vacuna contra la Difteria*,

Adsorbida. El límite de confianza inferior ($P = 0,95$) de la potencia estimada no debe ser menor de 2 U.I. por dosis humana.

Componente tetánico - Proceder según se indica en *Valoración en Vacuna contra el Tétanos, Adsorbida.* El límite de confianza inferior ($P = 0,95$) de la potencia estimada no debe ser menor de 20 U.I. por dosis humana única.

ROTULADO

Indicar en el rótulo el número mínimo de U.I. de cada componente por dosis humana, el nombre y la cantidad del adyuvante. En el rótulo deben figurar las siguientes leyendas: “*Agitar antes de su uso*”, “*No congelar*”.

VACUNA CONTRA DIFTERIA, TÉTANOS Y PERTUSSIS, ADSORBIDA

Vaccinum diphtheriae, tetani et pertussis adsorbatum

Definición - La Vacuna Adsorbida contra Difteria, Tétanos y Pertussis es una preparación de toxoide diftérico y toxoide tetánico formolizados adsorbidos sobre un soporte mineral y una suspensión de *Bordetella pertussis* inactivada. Los toxoides formolizados se deben preparar a partir de las toxinas, producidas por cultivo de *Corynebacterium diphtheriae* y *Clostridium tetani*, respectivamente. La Vacuna Adsorbida contra Difteria, Tétanos y Pertussis debe cumplir con los siguientes requisitos.

PRODUCCION

Condiciones generales

El método de producción debe estar validado para demostrar que el producto, al ser analizado, cumple con los siguientes requisitos.

Toxicidad específica - Proceder según se indica en *Toxicidad específica* en *Vacuna contra la Difteria y el Tétanos*.

Toxoides diftérico y tetánico purificado a granel y suspensión de *B. Pertussis* inactivada a granel

Proceder según se indica en *Toxoide diftérico y tetánico purificado a granel* en *Vacuna contra la Difteria y el Tétanos, Adsorbida* y en *Suspensión de B. Pertussis inactivada* en *Vacuna contra la Pertussis, Adsorbida*.

Vacuna final a granel

La preparación final de vacuna a granel se debe obtener mediante adsorción de una cantidad apropiada de las preparaciones de toxoides diftérico y tetánico purificados a granel en un soporte mineral como fosfato de aluminio hidratado o hidróxido de aluminio, mezclada con una cantidad apropiada de suspensión de *B. Pertussis* inactivada; la mezcla resultante debe ser aproximadamente isotónica con la sangre. La concentración de *B. Pertussis* en la vacuna final a granel no debe ser mayor de la opacidad correspondiente a 20 U.I por dosis humana. Si se utilizan dos o más cepas de *B. Pertussis*, la composición de los lotes consecutivos de la vacuna final a granel deberá ser homogéneo respecto a la proporción de cada cepa cuando se mide en unidades de opacidad. Algunos conservantes, como los fenólicos no deben ser empleados porque afectan la actividad antigénica. Para la preparación del lote final sólo pueden utilizarse graneles de vacuna que cumplen los siguientes requisitos.

Conservantes <80>

Debe contener no menos de 85 % y no más de 115 % de la cantidad declarada.

Ensayo de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos, sembrando 10 ml en cada medio.

Lote final

La vacuna final a granel se debe distribuir asépticamente en envases estériles, para inyectables, con cierre inviolable. Los envases deben ser cerrados de modo tal de evitar la contaminación.

Solamente los lotes finales que cumplan los requisitos indicados en *Ensayos* y *Valoración*, pueden ser liberados para su uso. Los ensayos de *Toxicidad específica* para el componente pertussis, de conservantes antimicrobianos (ver 80. *Conservantes*), así como la determinación de la potencia, pueden omitirse en los lotes finales de vacuna, siempre que se hayan llevado a cabo en la correspondiente preparación final de vacuna a granel con resultados satisfactorios.

El ensayo de *Formaldehído libre* puede omitirse en el lote final cuando los ensayos realizados en el toxoide purificado a granel o en la vacuna final a granel demuestran que el contenido no será mayor de 0,2 g por litro en el lote final.

ENSAYOS

Identificación

La identificación de los toxoides diftérico y tetánico y del componente pertussis requiere la desadsorción previa del soporte mineral utilizado como adyuvante. El siguiente método de desadsorción, aplicable a ciertas vacunas, es dado como ejemplo.

A - El toxoide diftérico es identificado por un método inmunoquímico apropiado (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*). Disolver en la vacuna en ensayo cantidad suficiente de citrato de sodio para obtener una solución de aproximadamente 100 g por litro. Mantener a 37 °C durante 16 horas y centrifugar hasta obtener un sobrenadante líquido claro que debe reaccionar con una antitoxina diftérica produciendo un precipitado. Reservar parte del sobrenadante para el ensayo B y el precipitado para el ensayo C.

B - El toxoide tetánico es identificado por un método inmunoquímico apropiado (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*). El sobrenadante claro obtenido en el ensayo A debe reaccionar con una antitoxina tetánica adecuada produciendo un precipitado.

C - El componente pertussis es identificado sobre el precipitado resuspendido de bacterias obtenidos en el ensayo A por el método de aglutinación

con el antisuero específico de *B. pertussis* o por la valoración del componente pertussis.

Toxicidad específica

Componente pertussis - Utilizar no menos de cinco ratones de 14 a 16 g para el grupo de la vacuna en ensayo y otros tantos para el grupo control. Utilizar ratones del mismo sexo o distribuir machos y hembras de manera homogénea entre ambos grupos. Los animales deben tener libre acceso al agua y alimento hasta 2 horas antes de la inyección y durante el ensayo. Inyectar a cada animal del grupo de vacuna, por vía intraperitoneal, 0,5 ml conteniendo una cantidad de vacuna equivalente a no menos de media dosis humana. Inyectar 0,5 ml de disolución de 9 mg de cloruro de sodio estéril por ml, preferiblemente conteniendo la misma cantidad de conservante antimicrobiano presente en la vacuna en ensayo a los ratones del grupo control. Pesar a ambos grupos de ratones inmediatamente antes de la inyección dentro de las 72 horas y a los 7 días después de la misma. La vacuna cumple con el ensayo si al cabo de 72 horas la masa total del grupo de los ratones vacunados no es menor que antes de la inyección; transcurridos los 7 días el incremento promedio de masa por ratón vacunado no es menor de 60 % del de los ratones control; y no mueren más de 5 % de los ratones vacunados durante el ensayo. El ensayo puede ser repetido y los resultados de los ensayos pueden ser combinados.

Aluminio

Proceder según se indica en *Determinación de aluminio en vacunas adsorbidas* en 745. *Vacunas de uso humano*.

Formaldehído libre

Proceder según se indica en *Formaldehído libre* en 745. *Vacunas de uso humano*.

Conservantes <80>

Debe contener no menos de la mínima cantidad que se haya mostrado ser efectiva y no más de 115 % de la cantidad indicada en el rótulo.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACION

Componente diftérico - Proceder según se indica en *Valoración en Vacuna contra la Difteria, adsorbida*. El límite de confianza inferior ($P = 0,95$) de la potencia estimada no debe ser menor de 30 U.I. por dosis humana.

Componente tetánico - Proceder según se indica en *Valoración en Vacuna contra el Tétanos, Adsorbida*. Si el ensayo se realiza en cobayos, el límite de confianza inferior ($P = 0,95$) de la potencia estimada no debe ser menor de 40 U.I. por dosis huma-

na única; si el ensayo se realiza en ratones, el límite de confianza inferior ($P = 0,95$) de la potencia estimada no debe ser menor de 60 U.I. por dosis humana.

Componente pertussis - Proceder según se indica en *Valoración en Vacuna contra la Pertussis, adsorbida*. La potencia estimada no debe ser menor de 4 U.I. por dosis humana individual y el límite de confianza inferior ($P = 0,95$) de la potencia estimada no debe ser menor de 2 U.I. por dosis humana individual.

ROTULADO

Indicar en el rótulo el número mínimo de U.I. de cada componente por dosis humana, el nombre y la cantidad del adyuvante. Indicar en el rótulo que la vacuna es destinada a la inmunización de niños y no es necesariamente adecuada para dosis de refuerzo ni para la administración en adultos. En el rótulo deben figurar las siguientes leyendas: “*Agitar antes de su uso*”; “*No congelar*”.

VACUNA CONTRA EL SARAMPION, LA PAROTIDITIS Y LA RUBEOLA, VIVA

Vaccinum morbillorum, parotitidis et rubellae vivum

Definición - La Vacuna contra el Sarampión, la Parotiditis y la Rubéola viva es en una preparación liofilizada obtenida a partir de cepas atenuadas de virus del sarampión, la parotiditis y la rubéola. La vacuna es reconstituida inmediatamente antes de su utilización, según las indicaciones del prospecto, tiene la apariencia de un líquido claro, que puede ser coloreado por la presencia de un indicador de pH. La Vacuna contra el Sarampión, la Parotiditis y la Rubéola viva debe cumplir con las siguientes especificaciones.

PRODUCCIÓN

Preparar los componentes según se indica en *Producción en Vacuna contra el sarampión, viva, Vacuna contra la parotiditis, viva y Vacuna contra la rubéola, viva.*

El método de producción se debe validar para demostrar que el producto, al ser analizado, cumple con 360. *Ensayo de toxicidad anormal y 745. Vacunas de uso humano.*

Vacuna final a granel

Las cosechas de virus de cada componente se deben mezclar y clarificar para remover las células. Se puede agregar un estabilizante apropiado y diluir las recolecciones mezcladas de un modo apropiado. Las cantidades apropiadas de las cosechas, de cada componente, se deben mezclar para la obtención de la vacuna final.

Para la preparación del lote final sólo pueden utilizarse graneles de vacuna que cumplan con los siguientes requisitos.

Contaminación bacteriana y fúngica

Debe cumplir con los requisitos de 370. *Ensayos de esterilidad*, sembrando 10 ml en cada medio.

Lote final

Para cada componente, se debe establecer una concentración mínima de virus para la liberación del producto para asegurar que basados en datos de estabilidad, la concentración mínima indicada en el rótulo esté presente al final del período de validez.

Sólo se puede liberar para su uso un lote final que cumpla con los requisitos de concentración mínima de virus para cada componente, la *Estabilidad térmica* y con cada uno de los requisitos indicados *Ensayos*. Si en la vacuna final a granel se

ha realizado el ensayo para seroalbúmina bovina y, cuando así corresponda, el ensayo de ovoalbúmina con resultados satisfactorios, se puede omitir su determinación en el lote final.

Estabilidad térmica

Mantener las muestras de la vacuna liofilizada no resuspendida a 37 °C durante 7 días. Determinar la concentración del virus según se indica en *Valoración* en paralelo para la vacuna sometida exposición al calor y para la vacuna sin exposición al calor incubada a 5 ± 3 °C. Para cada componente la concentración de virus de la vacuna sometida al calor no debe ser mayor de $1,0 \log_{10}$ inferior al título de la vacuna sin exposición al calor. En ningún caso, debe contener menos de 5×10^3 CCID₅₀ por dosis.

ENSAYOS

Identificación

Reconstituir la Vacuna contra el Sarampión, la Parotiditis y la Rubéola viva según se indica en el rótulo, mezclar con anticuerpos específicos del virus del sarampión, del virus de la parotiditis y del virus de la rubéola: debe perder la capacidad de infectar cultivos celulares susceptibles a estos virus. Reconstituir la Vacuna contra el Sarampión, la Parotiditis y la Rubéola viva según se indica en el rótulo y mezclar con cantidades suficientes de anticuerpos específicos como para neutralizar dos de los tres componentes: el tercer componente debe tener capacidad de infectar cultivos celulares susceptibles.

Contaminación bacteriana y fúngica

Reconstituir la vacuna según se indica en el rótulo. Debe cumplir con 370. *Ensayos de esterilidad.*

Albúmina sérica bovina

No más de 50 ng por dosis humana unitaria, determinada mediante un método inmunoquímico apropiado (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*).

Ovoalbúmina

Si el componente parotidítico se obtiene en embriones de pollo, la vacuna no debe contener más de 1 µg de ovoalbúmina por dosis humana unitaria, determinada por un método inmunoquímico apropiado (ver 635. *Métodos inmunoquímicos*).

Determinación de agua <120>

Titulación volumétrica directa. No más de 3,0 %.

VALORACION

A - Mezclar la vacuna con una cantidad suficiente de anticuerpos específicos para el virus de la parotiditis. Titular para virus infectivo del sarampión, al menos por triplicado, utilizando como

mínimo cinco cultivos celulares para cada dilución (factor de dilución de $0,5 \log_{10}$) o por otro método de igual precisión. Utilizar una preparación de referencia de virus adecuada para validar cada titulación.

La concentración estimada de virus del sarampión no debe ser menor a la indicada en el rotulo; la concentración mínima de virus del sarampión, indicada en este no debe ser menor de 1×10^3 CCID₅₀ por dosis humana. El ensayo sólo es válido si el intervalo de confianza ($P = 0,95$) del logaritmo de la concentración vírica es menor de $\pm 0,3$.

B - Mezclar la vacuna con una cantidad suficiente de anticuerpos específicos para el virus del sarampión. Titular para virus infectivo de la parotiditis, al menos por triplicado, utilizando como mínimo cinco cultivos celulares para cada dilución (factor de dilución de $0,5 \log_{10}$) o por otro método de igual precisión. Utilizar una preparación de referencia de virus adecuada para validar cada titulación.

La concentración estimada de virus de la parotiditis no debe ser menor a la indicada en el rotulo, la concentración mínima de virus de la parotiditis, indicada en este, no debe ser menor de 5×10^3 CCID₅₀ por dosis humana. El ensayo sólo es válido si el intervalo de confianza ($P = 0,95$) del logaritmo de la concentración vírica es menor de $\pm 0,3$.

C - Mezclar la vacuna con una cantidad suficiente de anticuerpos específicos para el virus de la parotiditis. Titular para el virus infectivo de la rubéola, al menos por triplicado, utilizando como mínimo cinco cultivos celulares para cada dilución (factor de dilución $0,5 \log_{10}$) o por otro método de igual precisión. Utilizar una preparación de referencia de virus adecuada para validar cada valoración.

La concentración estimada de virus de la rubéola no debe ser menor a la indicada en el rótulo; la concentración mínima de virus de la rubéola, indicada en este, no debe ser menor de 1×10^3 CCID₅₀ por dosis humana. El ensayo sólo es válido si el intervalo de confianza ($P = 0,95$) del logaritmo de la concentración vírica es menor a $\pm 0,3$.

ROTULADO

Indicar en el rótulo la cepa de virus utilizada para la preparación de la vacuna, el tipo y origen de las células empleadas en la preparación de la vacuna. Indicar en el rótulo el título mínimo del virus expresado en CCID₅₀, que se debe evitar el contacto con desinfectantes y el período de tiempo

en el que la vacuna se puede utilizar una vez reconstituida.

MEDICAMENTOS OFICINALES

APARTADO DE MEDICAMENTOS OFICINALES

ÍNDICE

Textos de Información General

<1013> - Buenas Prácticas de Dispensación en la Farmacia Oficinal Comunitaria y Hospitalaria.

<1027> - Buenas Prácticas de Preparación de Medicamentos Magistrales.

Monografías

Agua de Cal

Agua Oxigenada 10 Volúmenes

Alcohol Alcanforado

Cinc, Óxido de, Pomada Compuesta

Citrato de Magnesio, Limonada de

Cuprocínica alcanforada, Solución

Estearato de Amonio, Pomada

Glicerolado de Almidón

Iodo Débil, Solución de

Iodo Fuerte, Solución de

Iodoiodurada, Solución

Óleo Calcáreo, Linimento

Vaselina Boricada

Vaselina Fenicada

Vaselina Líquida

Vaselina Sólida

1013. BUENAS PRÁCTICAS DE DISPENSACIÓN EN LA FARMACIA OFICINAL COMUNITARIA Y HOSPITALARIA

Consideraciones Generales

Los medicamentos deben ser dispensados solamente por establecimientos habilitados por la autoridad sanitaria competente y cuyas actividades serán inspeccionadas regularmente por la autoridad jurisdiccional

En el ámbito comunitario y hospitalario, los servicios Farmacéuticos comprenden toda gestión que garantice la adquisición, preparación, conservación y dispensación de los medicamentos, ayudando a la sociedad a emplearlos adecuadamente para el uso previsto y en cumplimiento de la legislación vigente.

Este capítulo introduce términos y definiciones que son normas indispensables en el cumplimiento de las condiciones exigidas por las Buenas Prácticas de Dispensación, lo cual constituye una herramienta que permite establecer criterios que abarcan diversos aspectos para la adquisición, preparación, conservación y dispensación de los medicamentos.

Las Buenas Prácticas de Dispensación no son un elemento estático, todo lo contrario, son metodologías de trabajo susceptibles de una actualización continua.

Glosario

Las definiciones dadas a continuación se aplican a los términos empleados en esta norma. Es posible que tengan significados diferentes en otros contextos.

Servicios Farmacéuticos: resultado tangible o intangible de un proceso en el cual se participa en la investigación, preparación, distribución, dispensación, control y utilización de los medicamentos y otros productos para la salud, ofreciendo información y asesoramiento a quienes los prescriben, indican o usan.

Habilitación de la Farmacia: documento legal emitido por la autoridad sanitaria, que establece la autorización del establecimiento y su director técnico.

Dispensación: es el servicio Farmacéutico que consiste en la entrega del medicamento y la información sobre su buen uso y que incluye la interpretación de una receta en los casos que correspondiere.

Persona autorizada: es del Director Técnico Farmacéutico o el Farmacéutico Auxiliar que él

designa a los efectos de realizar y/o autorizar la dispensación.

Procedimiento operativo para la dispensación: es el procedimiento escrito que contiene las instrucciones para realizar aquellas operaciones que no necesariamente son específicas de la dispensación.

Farmacovigilancia: es la ciencia y actividades relacionadas con la prevención, conocimiento, detección y evaluación de reacciones adversas y otros posibles problemas relacionados con medicamentos.

Problema relacionado con medicamentos: es cualquier evento indeseable que presenta el paciente en el cual está involucrado el tratamiento farmacológico o se sospecha que lo está y que interfiere de manera real o puede interferir en la evolución deseada del paciente.

Intervención farmacéutica: es la estrategia que incluye procedimientos educativos y/o informativos abordados por el Farmacéutico para intentar resolver un problema relacionado con medicamentos, tendiente a mejorar el resultado clínico del tratamiento farmacológico.

Promoción de la Salud: es el proceso que capacita a las personas para controlar y mejorar su salud.

Educación Sanitaria: es un instrumento que posibilita la promoción de la salud. Es el aprendizaje que supone no sólo la transmisión de información, sino también el fomento de la motivación de las habilidades personales y la autoestima, necesarias para adoptar medidas destinadas a mejorar la salud.

Información: es el asesoramiento brindado para prevenir incompatibilidades o interacciones frente a otros medicamentos y/o alimentos, para lograr el cumplimiento de los objetivos terapéuticos buscados, así como también incluye la consulta o derivación del paciente al profesional que corresponda según su incumbencia.

Servicios orientados al medicamento, materias primas, y productos sanitarios, previos a la dispensación en donde el Farmacéutico garantiza la calidad de los productos que dispensa dando cumplimiento a las siguientes actividades:

Evaluación de la procedencia y adquisición: el Farmacéutico es el responsable de garantizar la calidad y legitimidad de los productos que dispense

siendo éstos adquiridos a través de proveedores debidamente habilitados por la autoridad sanitaria.

El Farmacéutico debe además cooperar en la detección y denuncia de medicamentos ilegítimos y de medicamentos con problemas de calidad o efectividad.

Custodia, almacenamiento y conservación: el Farmacéutico asegurará que las condiciones de almacenamiento y conservación sean las adecuadas en cada caso e instrumentará los mecanismos para detectar las fechas de vencimiento previas a la dispensación. Asimismo el Farmacéutico tendrá bajo su custodia todos los productos acorde a las normativas vigentes.

Descarte, devolución, destrucción: el Farmacéutico evitará la adquisición y dispensación de medicamentos y productos para la salud que presenten modificaciones no indicadas expresamente en sus rótulos y/ o prospectos. Se considera que la detección de cambios en el aspecto físico de los medicamentos o sus envases podría ser evidencia de una posible inestabilidad o alteración en su composición, por lo que se debe observar:

- cambios en caracteres físicos como modificaciones de color u olor, coberturas deterioradas, cápsulas rotas, aparición de precipitados, separación de emulsiones, polvos que no se reconstituyen adecuadamente, entre otros;
- modificaciones en el envase primario como pérdida del contenido del envase, deterioro de su aspecto, adulteraciones de fecha de vencimiento, lote, partida o rótulos.
- modificaciones en el envase secundario, como toda evidencia que permita suponer una mala conservación, fallas de impresión, adulteraciones de fecha de vencimiento, lote o partida, ó rótulos.

Comprobadas estas irregularidades, el Farmacéutico deberá abstenerse de dispensar estos medicamentos y notificar a la autoridad sanitaria competente sobre las anomalías observadas o sospechadas.

Deberá cumplir con los retiros del mercado indicados por la autoridad sanitaria pertinentes e instrumentará los mecanismos necesarios para la devolución de los medicamentos, materias primas y productos sanitarios, así como la eliminación de los residuos peligrosos, acorde a la legislación vigente.

Preparación de medicamentos magistrales y oficinales: el Farmacéutico es responsable de la preparación de medicamentos magistrales y oficinales, dando cumplimiento a las Normas de Buenas Prácticas de Preparación.

1027. BUENAS PRÁCTICAS DE PREPARACIÓN DE MEDICAMENTOS MAGISTRALES

ALCANCE Y DEFINICIONES

Buenas Prácticas de Preparación de medicamentos magistrales: es el conjunto de normas y procedimientos que contribuyen a asegurar la calidad de los medicamentos magistrales.

Medicamento magistral: es todo medicamento prescripto en una receta magistral para un paciente individualizado, posteriormente preparado, envasado y rotulado por un Farmacéutico en el laboratorio de su Farmacia y dispensado en la misma.

Receta magistral: la receta magistral debe indicar claramente la composición cuali-cuantitativa de los principios activos, utilizando los nombres establecidos en la Farmacopea Argentina o la Denominación Común Internacional (DCI) de la OMS. Sólo se aceptan sinonimias contempladas en la Farmacopea Argentina. Debe respetar las dosis habituales y máximas, indicadas en la Farmacopea o, en su ausencia en bibliografía internacional de referencia.

Debe indicar la vía e indicaciones de administración, los datos completos del profesional prescriptor, los datos del paciente y la fecha de emisión.

CAPÍTULO 1°

PERSONAL

La preparación de medicamentos magistrales puede ser efectuada por el Farmacéutico Director Técnico o por los Farmacéuticos Auxiliares. La Farmacia debe estar debidamente habilitada a tal efecto por la Autoridad Sanitaria jurisdiccional competente.

El Director Técnico es el responsable de la calidad y seguridad de los preparados magistrales, siendo por ello responsable del origen, la calidad y la pureza de los principios activos, excipientes, envases y otros materiales que utilice, del diseño galénico, de la preparación de los productos y del aseguramiento de su calidad.

El Director Técnico debe organizar las tareas relacionadas con la preparación de medicamentos magistrales, debiendo precisar por escrito las funciones de los Farmacéuticos Auxiliares y del resto del personal, y supervisar su cumplimiento.

El Director Técnico debe asegurar la aptitud de todo el personal involucrado en la preparación de medicamentos magistrales y el cumplimiento por

parte de éste de las Buenas Prácticas de Preparación de Medicamentos Magistrales.

CAPÍTULO 2°

LOS PREPARADOS MAGISTRALES

Para la preparación de cada medicamento magistral es necesario contar con la receta correspondiente, la cual deberá estar completa en todas sus partes y contener toda la información necesaria para llevar a cabo la preparación y rotular adecuadamente la misma, correspondiendo al Director Técnico completar la fórmula con los excipientes adecuados, debiendo respetar las dosis habituales y máximas recomendadas para los principios activos.

La preparación del medicamento magistral debe registrarse en el libro recetario.

Por la propia naturaleza de estos medicamentos y el conocimiento específico que dispone el Farmacéutico que lo prepara, es de su competencia proveer al paciente la información necesaria para su correcta utilización y conservación.

CAPÍTULO 3°

LABORATORIOS

3-1 Consideraciones generales

La preparación y el control de los preparados magistrales deben efectuarse en laboratorios que forman parte de la estructura edilicia de la Farmacia y estar emplazados en salas totalmente independientes del lugar de atención al público, separados del depósito y aislados de otras dependencias de la Farmacia.

Todas las áreas de la Farmacia destinadas a las preparaciones magistrales deben contar con espacios adecuados para la disposición ordenada de los equipos y materiales, y deben poseer condiciones de temperatura y humedad apropiadas.

3-2 Instalaciones

Para la preparación de medicamentos magistrales la Farmacia debe disponer de un laboratorio general, destinado a la preparación de formas farmacéuticas no estériles, al fraccionamiento de materias primas y excipientes y al aseguramiento de la calidad, pudiendo contar con otros laboratorios especiales.

3-3 Características

El laboratorio debe contar con buena iluminación, adecuada renovación de aire y mallas metálicas en todas las aberturas de ventilación e instrumentos para medir la temperatura y humedad del ambiente de trabajo. Sus pisos, paredes y

techos deben ser lisos con bordes sanitarios y las mesas de trabajo deben ser lisas, impermeables y resistentes a agentes químicos.

Los laboratorios especiales deben cumplir con requisitos adicionales que los hagan aptos para la actividad a desarrollar.

3-4 Materiales y Equipos

Deben ser acordes con el tipo de medicamentos a preparar, suficientes en cantidad y calidad y apropiadamente acondicionados e instalados. En los equipos que requieren calibración, ésta debe realizarse con la periodicidad adecuada y su calibración debe verificarse y documentarse regularmente.

3-5 Higiene y Seguridad

La Farmacia debe contar con directrices escritas sobre higiene y seguridad, las cuales deben ser acordes con el tipo de medicamento a preparar y exhibirse en lugar visible del laboratorio. El Director Técnico es responsable de generar, documentar, hacer cumplir y llevar un registro del cumplimiento de dichas directrices.

3-6 Limpieza

La Farmacia debe contar con procedimientos de limpieza del área de preparación de medicamentos magistrales acordes con el tipo de preparaciones que se realicen. El Director Técnico es el responsable de generar y documentar dichos procedimientos y de asegurar y documentar debidamente su cumplimiento.

3-7 Residuos

La Farmacia deberá contar con mecanismos para el manejo interno y la disposición de residuos considerados peligrosos. El Director Técnico es responsable de generar e implementar los procedimientos apropiados y necesarios para tal fin y de asegurar y documentar debidamente su cumplimiento.

CAPÍTULO 4°

DOCUMENTACIÓN

4-1 General

La documentación constituye una parte fundamental del sistema de aseguramiento de la calidad. Son aceptables los registros computarizados y los producidos mediante microfilmación.

Toda la documentación referida a materias primas y excipientes debe utilizar los nombres oficiales de la FA o la Denominación Común Internacional (DCI) para sustancias no codificadas.

4-2 Manuales, procedimientos y registros

La Farmacia debe contar con un manual operativo general y manuales de uso, mantenimiento y calificación de sus equipos.

La Farmacia debe poseer procedimientos operativos estandarizados para el uso de cada uno de sus equipos, para la preparación de medicamentos magistrales de uso corriente y para las actividades de limpieza, disposición de residuos, higiene y seguridad.

La Farmacia debe contar con registros individuales de entrenamiento y calificación del personal.

En la Farmacia se deben almacenar los registros de mantenimiento y calificación de equipos, y los registros que permitan verificar el cumplimiento de las actividades de limpieza, disposición de residuos, higiene y seguridad.

En la Farmacia se debe llevar todo libro oficial que asegure y avale el debido cumplimiento de las regulaciones vigentes.

4-3 Materias primas, envases y materiales de acondicionamiento

Todos los materiales que ingresan a la Farmacia para ser empleados en la preparación, envasado y acondicionamiento de medicamentos deben contar con una ficha individual de registro que incluya la fecha de ingreso.

Toda materia prima y excipiente que ingresa a la Farmacia debe contar con su correspondiente certificado de análisis del proveedor firmado por su Director Técnico; caso contrario, el Director Técnico de la Farmacia deberá realizar los controles pertinentes.

La documentación correspondiente a todos los materiales utilizados en la preparación de los medicamentos magistrales debe ser debidamente archivada.

CAPÍTULO 5°

MATERIAS PRIMAS, ENVASES Y MATERIAL DE ACONDICIONAMIENTO

La calidad de las materias primas, envases y materiales de acondicionamiento inciden en la calidad del producto final, por lo que el Farmacéutico debe tener especial cuidado en todos los aspectos del manejo de los mismos.

5-1 Materias primas

Sólo pueden ser empleadas aquellas materias primas, principios activos y excipientes, codificadas en el Código ANMAT o descritas en textos de reconocida jerarquía.

Todas las materias primas que ingresan a la Farmacia deben ser puestas en cuarentena, debidamente rotuladas y en una ubicación especial, hasta tanto se haya verificado su identidad con la documentación que respalda su calidad. El Director Técnico es responsable de la realización de todo esfuerzo razonable en procura de la identificación

de toda materia prima que ingresa a la Farmacia. El período de cuarentena finaliza con la aceptación o rechazo de la materia prima.

Las materias primas rechazadas deben ser almacenadas separadamente, hasta su disposición como residuo o devolución al proveedor.

Toda materia prima que haya superado la fecha de reválida o reanálisis, (ver 1040. *Estudios de Estabilidad*) debe ser puesta en cuarentena hasta tanto se determine analíticamente su aptitud y una nueva fecha de reanálisis; en caso de no ser apta debe almacenarse separadamente para su disposición como residuo.

La utilización, en casos debidamente justificados, de una especialidad medicinal como materia prima, para la preparación de un medicamento magistral, quedará a criterio del Director Técnico.

5-2 Rotulado

Todo envase de materia prima o excipiente debe contener todos los datos que permitan su correcta identificación, debiendo consignarse de manera obligatoria su nombre, proveedor, número de lote o partida, fecha de reanálisis y número de registro.

5-3 Almacenamiento

Las materias primas deben ser almacenadas bajo condiciones apropiadas, que aseguren su estabilidad durante su período de vida útil. (ver *Consideraciones Generales*)

5-4 Envases

El medicamento magistral debe ser envasado en envase apto (ver *Consideraciones Generales*, 420. *Envases primarios de plástico* y 430. *Envases de vidrio*), de acuerdo a las propiedades físicas y químicas del preparado farmacéutico, de modo de evitar se alteren la calidad, la concentración o la pureza de la preparación. Se debe considerar la posible interacción de los productos activos con el envase.

CAPÍTULO 6°

PREPARACIÓN

6-1 Diseño de la fórmula

La correcta preparación de una fórmula magistral comienza con el diseño de la misma, tras la recepción de la receta magistral.

La fórmula debe evaluarse para determinar la factibilidad de su preparación y debe emplearse un diseño galénico que tenga en cuenta el comportamiento fisicoquímico de sus componentes, sus posibles incompatibilidades y las eventuales interacciones con el envase.

Para el ajuste de la fórmula cuantitativa se debe tener en cuenta la expresión correcta de la dosis

establecida en el presente Código o en la bibliografía internacional de referencia.

6-2 Preparación del medicamento magistral

Debe hacerse en una zona de trabajo limpia y libre de cualquier producto, material o documento ajeno a la preparación, debiendo estar asegurada previamente la provisión de todos los elementos y documentación necesarios como así la limpieza y el adecuado funcionamiento de los equipos a utilizar.

6-3 Vencimiento del medicamento magistral

Los preparados magistrales se realizan para una administración a plazo definido y corto, por lo que deben poseer fechas de vencimiento asignadas acordes al período de tratamiento.

6-4 Rotulado

Los medicamentos magistrales deben estar debidamente rotulados (ver *Consideraciones Generales*) para asegurar su correcta identificación, haciendo constar en el rótulo la composición cuantitativa de sus principios activos, la composición cualitativa de sus excipientes, su forma farmacéutica y su vía de administración, posología y condiciones de conservación, fecha de preparación y vencimiento, y su número de registro en el libro recetario, como así datos del paciente, del médico que lo prescribió, la Farmacia donde se preparó y su Director Técnico.

CAPÍTULO 7°

ASEGURAMIENTO DE CALIDAD

Se debe poner especial énfasis en asegurar la calidad de todos los pasos de la preparación, documentando apropiadamente cada uno.

Para las diferentes formas farmacéuticas, se exigen los siguientes ensayos:

7-1 Cápsulas y comprimidos

Aspecto

Control de peso

Prueba de desintegración

7-2 Polvos

Aspecto

Control de peso

Reconstitución: en el caso que sea aplicable.

7-3 Inyectables en ampollas y viales

Aspecto y examen de partículas por observación visual.

pH del inyectable.

Control de cierre de las ampollas.

Control de contenido.

Control de esterilidad, para inyectables obtenidos por llenado aséptico.

Validación de procesos de esterilización para inyectables obtenidos por esterilización final.

Control de endotoxinas bacterianas. Se debe realizar para aquellos preparados que por la naturaleza de sus componentes, por el volumen de administración, o por las particularidades del tratamiento, así lo justifiquen.

7-4 Cremas, geles, ungüentos y pastas

Aspecto

pH

Control de contenido.

7-5 Supositorios y óvulos

Aspecto y homogeneidad por examen visual

Control de peso

Tiempo de fusión o Prueba de Disgregación

7-6 Soluciones, suspensiones y emulsiones (orales y tópicos)

Aspecto

pH

Hermeticidad del cierre

Control de contenido

7-7 Observaciones

Los preparados no inyectables estériles deben cumplir con el ensayo de esterilidad o la validación del proceso de esterilización según corresponda. Los colirios deben cumplir las condiciones de inyectables con excepción de endotoxinas bacterianas.

CAPÍTULO 8º

FUENTES DE INFORMACIÓN

La Farmacia debe disponer de la última edición de la FA, recomendándose además otros códigos y textos actualizados de reconocida jerarquía, que provean una razonable cobertura de información específica.

Deberá contemplar disponer de los medios apropiados para acceder a bases de datos y centros de información sobre medicamentos que provean información farmacéutica y farmacoterapéutica actualizada y pertinente que contribuyan a garantizar la calidad y seguridad de los medicamentos.

CAPÍTULO 9º

Las Farmacias que preparan medicamentos magistrales, además de cumplir las Buenas Prácticas de Preparación de medicamentos magistrales establecidas en este Código, deberán cumplimentar los requerimientos legales establecidos por la Autoridad Sanitaria jurisdiccional competente para este tipo de actividades.

AGUA DE CAL

MEDICAMENTO OFICINAL

Sinonimia - Solución de hidróxido de calcio.

Definición - Agua de Cal es una solución acuosa de hidróxido de calcio. Debe contener no menos de 0,15 por ciento peso en volumen de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, pudiendo variar su contenido con la temperatura y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

FORMULACIÓN

Óxido de calcio5 g

Aguac.s.

Transferir la porción de óxido de calcio a un recipiente apropiado, agregar, poco a poco, 25 ml de agua, mezclar y agregar aproximadamente 200 ml de agua previamente calentada entre 60 y 70 °C. Agitar varias veces durante 15 minutos y filtrar. Lavar el residuo con agua previamente calentada entre 60 y 70 °C hasta que 2 ml del filtrado, acidulados con dos gotas de ácido nítrico, permanezcan límpidos por el agregado de 5 gotas de nitrato de plata (SR). Transferir el residuo a un recipiente apropiado con la ayuda de 1 litro de agua previamente hervida y enfriada. Tapar, agitar varias veces durante 30 minutos y dejar reposar. Antes de usar, decantar la solución clara o filtrar, teniendo la precaución de transferir nuevamente al recipiente los primeros 100 ml del filtrado.

Caracteres generales - Líquido diáfano, incoloro.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto y en presencia de un exceso de hidróxido de calcio.

[NOTA: cuando Agua de Cal es preparado en Oficinas de Farmacia, para su Aseguramiento de Calidad debe cumplir con los requisitos indicados en 1027. *Buenas Prácticas de Preparación de Medicamentos Magistrales.*]

ENSAYOS

Identificación

Una porción de Agua de Cal:

A - Debe virar al azul el papel tornasol y debe enrojecer a la fenolftaleína (SR).

B - Debe responder a los ensayos para *Calcio* <410>.

C - Debe formar en la superficie una débil película blanquecina por absorción de anhídrido carbónico del aire.

D - Debe producir turbidez por calentamiento que desaparece al enfriar.

Álcalis y carbonatos alcalinos

Saturar con anhídrido carbónico una porción de Agua de Cal y hervir inmediatamente. Debe desaparecer completamente la alcalinidad de la solución.

VALORACIÓN

Transferir exactamente 25 ml de Agua de Cal, agregar unas gotas de fenolftaleína (SR) y titular con ácido sulfúrico 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de ácido sulfúrico 0,1 N equivale a 3,7 mg de $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

ROTULADO

Indicar en el rótulo que la fecha de vencimiento de Agua de Cal es seis meses a partir de su preparación.

AGUA OXIGENADA 10 VOLÚMENES

MEDICAMENTO OFICINAL

H₂O₂ PM: 34,0 7722-84-1

Sinonimia - Solución de Peróxido de Hidrógeno al 3 %.

Definición - Agua Oxigenada es una solución acuosa que contiene no menos de 2,55 por ciento y no más de 3,45 por ciento peso en volumen de H₂O₂, correspondiendo a no menos de 8,5 y no más de 11,5 veces su volumen de oxígeno activo. Debe contener un conservante apropiado y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Líquido límpido, incoloro, inodoro o con un débil olor similar al ozono. Se altera fácilmente en contacto con sustancias oxidables, algunos metales y calor.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto, en un sitio fresco.

[NOTA: cuando Agua Oxigenada es preparada en Oficinas de Farmacia, para su Aseguramiento de Calidad debe cumplir con los requisitos indicados en 1027. *Buenas Prácticas de Preparación de Medicamentos Magistrales.*]

ENSAYOS

Identificación

A - Debe desarrollar reacción ligeramente ácida frente al tornasol. Calentar una porción de Agua Oxigenada: debe descomponerse con efervescencia, desprendiendo oxígeno.

B - A 1 ml de Agua Oxigenada agregar 10 ml de agua con 1 gota de ácido sulfúrico diluido, agregar 2 ml de éter y una gota de dicromato de potasio (SR): se debe desarrollar color azul fugaz en la fase acuosa.

Agitar y dejar reposar: se debe desarrollar color azul intenso en la fase etérea.

Acidez

A 10 ml de Agua Oxigenada, agregar 20 ml de agua, 3 gotas de fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV): no debe consumir más de 1 ml de hidróxido de sodio.

Residuo no volátil

Evaporar hasta sequedad una porción de Agua Oxigenada exactamente medida, en un baño de agua y luego secar el residuo a 105 °C durante 1 hora. El peso del residuo no debe ser mayor de 0,15 %.

Límite de metales pesados <590>

Método I. A 4 ml de Agua Oxigenada, agregar 20 ml de agua, 2 ml de hidróxido de amonio 6 N y calentar suavemente a ebullición hasta que el volumen se reduzca a 5 ml. Diluir con agua a 25 ml: el límite es 5 ppm.

Límite de arsénico <540>

Método II. No más de 2 ppm.

Bario

A 10 ml de Agua Oxigenada, agregar 2 ó 3 gotas de ácido sulfúrico diluido. No debe producirse turbidez ni precipitado dentro de los 10 minutos.

Límite de ácido oxálico

A 5 ml de Agua Oxigenada, agregar 2 gotas de ácido acético, 0,5 ml de acetato de sodio (SR) y 1 ml de cloruro de calcio (SR). No debe producirse turbidez ni precipitado.

Límite de conservantes

Transferir 100 ml de Agua Oxigenada a una ampolla de decantación y realizar una extracción con una porción de 50 ml y dos de 25 ml de una mezcla de cloroformo y éter (3:2). Reunir los extractos, dejar evaporar y secar sobre sílica durante 2 horas: el peso del residuo no debe ser mayor de 0,05 %.

VALORACIÓN

Transferir 2 ml de Agua Oxigenada a un erlenmeyer, agregar 20 ml de agua, 10 ml de ácido sulfúrico diluido y titular con permanganato de potasio 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de permanganato de potasio 0,1 N equivale a 1,70 mg de H₂O₂.

ROTULADO

Indicar en el rótulo que la fecha de vencimiento de Agua Oxigenada es seis meses a partir de su preparación.

ALCOHOL ALCANFORADO

MEDICAMENTO OFICIAL

Sinonimia - Alcoholado de alcanfor.

Definición - Alcohol Alcanforado es una solución alcohólica de alcanfor. Debe contener no menos de 9,5 por ciento y no más de 10,5 por ciento, peso en volumen, de alcanfor y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

FORMULACIÓN

Alcanfor10 g.

Alcohol 90 % c.s.p.100 ml...

Transferir la porción de alcanfor a un recipiente apropiado, disolver en alcohol 90 % y completar a volumen con el mismo solvente.

Caracteres generales - Líquido límpido, incoloro, con olor y sabor característico al alcanfor. Se volatiliza sin dejar residuo apreciable.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

[NOTA: cuando Alcohol Alcanforado es preparado en Oficinas de Farmacia, para su Aseguramiento de Calidad debe cumplir con los requisitos indicados en 1027. *Buenas Prácticas de Preparación de Medicamentos Magistrales.*]

ENSAYOS

Determinación de la densidad relativa <160>

Entre 0,841 y 0,844.

Determinación de alcohol <130>

Debe contener entre 80 y 85 % v/v de C₂H₅OH.

VALORACIÓN

Transferir exactamente 2,0 ml de Alcohol Alcanforado a un recipiente apropiado resistente a la presión, conteniendo 50 ml de solución de 2,4-dinitrofenilhidracina recientemente preparada disolviendo 2 g de 2,4-dinitrofenilhidracina en una mezcla de 10 ml de agua y 10 ml de ácido sulfúrico y diluir con 35 ml de agua. Filtrar. Cerrar el recipiente, sumergirlo en un baño de agua y mantenerlo aproximadamente a 75 °C durante 16 horas. Dejar enfriar a temperatura ambiente y transferir el contenido a un vaso de precipitados con ayuda de 100 ml de ácido sulfúrico 3 N. Dejar reposar durante al menos 12 horas, transferir el precipitado a un crisol filtrante previamente secado y pesado, lavar con ácido sulfúrico 3 N y luego con 75 ml de agua fría en porciones divididas. Eliminar el agua mediante vacío y secar a

80 °C durante 2 horas, dejar enfriar y pesar. El peso del precipitado obtenido, multiplicado por 0,458 corresponde al peso de alcanfor en la porción de Alcohol Alcanforado en ensayo.

CINC, ÓXIDO DE POMADA COMPUESTA MEDICAMENTO OFICIAL

Sinonimia - Pasta Lassar.

Definición - La Pomada de Óxido de Cinc Compuesta debe contener no menos de 24,0 por ciento y no más de 26,0 por ciento de ZnO y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

FORMULACIÓN

Óxido de cinc	250 g
Almidón	250 g
Vaselina sólida.....	500 g

Transferir las porciones de óxido de cinc y almidón a un recipiente apropiado, mezclar con una porción de vaselina y agregar el resto de vaselina hasta obtener una pomada perfectamente homogénea.

[NOTA: cuando se prescriba Pomada de Óxido de Cinc Compuesta Esterilizada, reemplazar el almidón por talco].

Caracteres generales - Masa untuosa de color blanquecino.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados y evitar la exposición prolongada a temperaturas mayores a 30 °C.

[NOTA: cuando Pomada de Óxido de Cinc Compuesta es preparada en Oficinas de Farmacia, para su Aseguramiento de Calidad debe cumplir con los requisitos indicados en 1027. *Buenas Prácticas de Preparación de Medicamentos Magistrales.*]

ENSAYOS

Identificación

El residuo obtenido en *Valoración* debe ser amarillo cuando está caliente y blanco cuando está frío.

Determinación del contenido neto del envase
<220>

Debe cumplir con los requisitos.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos según se indica en *Asignación de límites.*

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 600 mg de Pomada de Óxido de Cinc Compuesta, transferir a un crisol de porcelana y calentar suavemente hasta fundir. Continuar el calentamiento, aumentando la temperatu-

ra gradualmente hasta que la masa se carbonice completamente. Someter a ignición hasta que el residuo obtenido sea amarillo y enfriar. Disolver el residuo en 10 ml de ácido sulfúrico 2 N, calentar si fuera necesario para completar la disolución, transferir la solución a un vaso de precipitados y enjuagar el crisol con porciones pequeñas de agua hasta obtener 50 ml entre la solución y los enjuagues. Agregar 15 ml de solución reguladora de amoníaco-cloruro de amonio (SR) y 1 ml de negro de eriocromo (SR) y titular con edetato disódico 0,05 M (SV) hasta que la solución desarrolle color azul. Cada ml de edetato disódico 0,05 M equivale a 4,07 mg de ZnO.

ROTULADO

Indicar en el rótulo que la fecha de vencimiento de Pomada de Óxido de Cinc Compuesta es seis meses a partir de su preparación.

CITRATO DE MAGNESIO LIMONADA

MEDICAMENTO OFICINAL

Sinonimia - Limonada de Rogé. Limonada purgante.

Definición - Limonada de Citrato de Magnesio es una bebida extemporánea efervescente preparada a partir de ácido cítrico y carbonato de magnesio, y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

FORMULACIÓN

Ácido cítrico	30 g
Carbonato de magnesio	18 g
Jarabe de limón	50 ml
Agua c.s.p.	250 ml

Transferir las porciones de ácido cítrico y carbonato de magnesio a un recipiente adecuado, agregar 170 ml de agua, fría o caliente, y una vez terminada la efervescencia, agregar el jarabe de limón, completar 250ml con agua y filtrar.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

[NOTA: Cuando Limonada de Citrato de Magnesio es preparada en Oficinas de Farmacia, para su Aseguramiento de Calidad debe cumplir únicamente con los requisitos indicados en 1027. *Buenas Prácticas de Preparación de Medicamentos Magistrales.*]

ROTULADO

Indicar en el rótulo que la fecha de vencimiento de Limonada de Citrato de Magnesio es siete días a partir de su preparación.

CUPROCÍNCICA ALCANFORADA, SOLUCIÓN

MEDICAMENTO OFICINAL

Sinonimia - Agua de Dalibour.

Definición - Solución Cuprocínica Alcanforada debe cumplir con las siguientes especificaciones.

FORMULACIÓN

Cobre, sulfato de (pentahidrato).....	10 g
Cinc, sulfato de (monohidrato).....	40 g
Alcanfor	1,5 g
Agua c.s.p.	1.000 ml

Transferir las porciones de sulfato de cobre y sulfato de cinc a un recipiente apropiado, disolver con 900 ml de agua, agregar la porción de alcanfor, previamente disuelto en 5 ml de alcohol y agitar fuertemente varias veces durante 24 horas. Filtrar y lavar el filtro con agua hasta completar 1 litro.

[NOTA: cuando se prescriba Solución Cuprocínica Alcanforada Diluida se debe preparar una solución diez veces más diluida que la *Solución Cuprocínica Alcanforada*.]

Caracteres generales - Líquido límpido, de color azulado, con olor alcanforado. Presenta reacción ácida frente al tornasol.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

[NOTA: cuando la Solución Cuprocínica Alcanforada es preparada en Oficinas de Farmacia, para su Aseguramiento de Calidad debe cumplir con los requisitos indicados en 1027. *Buenas Prácticas de Preparación de Medicamentos Magistrales*.]

ENSAYOS

Identificación

Debe responder a los ensayos para *Sulfato, Cobre* y *Cinc* <410>.

ROTULADO

Indicar en el rótulo que la fecha de vencimiento de la Solución Cuprocínica Alcanforada es seis meses a partir de su preparación.

ESTEARATO DE AMONIO, POMADA

MEDICAMENTO OFICIAL

Sinonimia - Diadermina.

Definición - Pomada de Estearato de amonio es un glicerolado y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

FORMULACIÓN

Ácido esteárico	17 g
Glicerina	70 g
Amoníaco	3,5 g
Agua c.s.p.	100 g

Transferir las porciones de ácido esteárico, glicerina y 9,5 ml de agua a un recipiente adecuado, calentar en un baño de agua hasta fundir completamente el ácido esteárico. Agitar, agregar cuantitativamente la porción de amoníaco, manteniendo el calentamiento y la agitación hasta obtener una masa neutra frente a fenoltaleína. Retirar el recipiente del baño de agua y homogeneizar hasta enfriamiento y obtención de una masa blanca. Agregar, si fuera necesario, cantidad suficiente de agua hasta obtener 100 g y mezclar.

Caracteres generales - Pomada de color blanco, inodora o casi inodora, de aspecto esponjoso. Soluble en agua y alcohol caliente.

CONSERVACIÓN

En envases inactínicos de cierre perfecto, en un sitio fresco.

[NOTA: cuando Pomada de Estearato de Amonio es preparada en Oficinas de Farmacia, para su Aseguramiento de Calidad debe cumplir con los requisitos indicados en 1027. *Buenas Prácticas de Preparación de Medicamentos Magistrales.*]

ENSAYOS

Identificación

A - Calentar suavemente una porción de Pomada de Estearato de Amonio: debe fundir dando un líquido transparente, incoloro o ligeramente amarillento. A mayor temperatura debe desprender vapores inflamables, de olor característico de ácido esteárico. Calcinar una porción de Pomada de Estearato de Amonio: el residuo obtenido no debe ser apreciable.

B - Calentar a ebullición 1 g de Pomada de Estearato de Amonio con 25 ml de agua y 5 ml de ácido clorhídrico, filtrar y lavar con agua caliente hasta que el ensayo para cloruros (ver 410. *Cloruro*) de negati-

vo. El ácido graso separado no debe fundir a una temperatura menor de 54 °C.

C - Concentrar el filtrado obtenido en el ensayo de *Identificación B* hasta consistencia de jarabe y calentar enérgicamente una porción pequeña con bisulfato de potasio: deben desprenderse vapores de acroleína que pueden reconocerse por su olor característico.

D - Calentar aproximadamente 0,5 g de Pomada de Estearato de Amonio con 5 ml de hidróxido de sodio (SR): deben desprenderse vapores amoniacales.

Alcalinidad

Disolver en caliente 2 g de Pomada de Estearato de Amonio en 60 ml de alcohol neutralizado, agregar 10 ml de agua caliente, enfriar y agregar 3 gotas de fenoltaleína (SR). Si se desarrolla color, titular con ácido clorhídrico 0,1 N: no debe consumirse más de 1 ml de ácido clorhídrico.

Sustancias insolubles en alcohol

Calentar a reflujo 1 g de Pomada de Estearato de Amonio con 30 ml de alcohol: debe disolverse completamente y la solución debe ser límpida o ligeramente opalescente.

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos según se indica en *Asignación de límites*.

ROTULADO

Indicar en el rótulo que la fecha de vencimiento de Pomada de Estearato de Amonio es seis meses a partir de su preparación.

GLICEROLADO DE ALMIDÓN

MEDICAMENTO OFICINAL

Definición - Glicerolado de Almidón es un semi-sólido y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

FORMULACIÓN

Almidón10 g

Agua158 ml

Glicerina80 g

Transferir la porción de almidón a una cápsula apropiada, agregar la porción de agua y mezclar evitando la formación de grumos. Agregar la porción de glicerina, previamente calentada aproximadamente a 140 °C y agitar constantemente. Calentar hasta obtener una jalea homogénea y traslúcida que debe pesar aproximadamente 100 g.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

[NOTA: cuando Glicerolado de Almidón es preparado en Oficinas de Farmacia, para su Aseguramiento de Calidad debe cumplir con los requisitos indicados en 1027. *Buenas Prácticas de Preparación de Medicamentos Magistrales.*]

ENSAYOS

Control higiénico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos según se indica en *Asignación de límites.*

iodo Débil, Solución de

MEDICAMENTO OFICIAL

Sinonimia - Solución de iodo para uso quirúrgico. Tintura de iodo. Tintura de iodo débil.

Definición - Solución de Iodo Débil debe contener no menos de 1,8 por ciento y no más de 2,2 por ciento de iodo (I) y no menos de 2,2 por ciento y no más de 2,6 por ciento de ioduro de potasio (KI), en alcohol 50 , y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

FORMULACIÓN

Iodo	20 g
Potasio, ioduro de	24 g
Alcohol 50° c.s.p.	1.000 ml

Transferir las porciones de iodo y ioduro de potasio a un matraz aforado de 1 litro, disolver y completar a volumen con alcohol 50°.

Caracteres generales - Líquido de color pardo rojizo, transparente.

CONSERVACIÓN

En envases de vidrio inactínicos, de cierre perfecto, en un sitio fresco.

[NOTA: cuando la Solución de Iodo Débil es preparada en Oficinas de Farmacia, para su Aseguramiento de Calidad debe cumplir con los requisitos indicados en 1027. *Buenas Prácticas de Preparación de Medicamentos Magistrales.*]

ENSAYOS

Identificación

A - Agregar 1 ó 2 gotas de Solución de Iodo Débil a una mezcla de 1 ml de almidón (SR) y 9 ml de agua: se debe desarrollar color azul intenso.

B - Evaporar una porción de Solución de Iodo Débil en un baño de vapor hasta sequedad: el residuo obtenido debe responder a los ensayos para *Potasio* y para *Ioduro* <410>.

Determinación de alcohol <130>

Debe contener entre 44 y 50 % v/v de C₂H₅OH.

VALORACIÓN

Iodo - Transferir 10 ml de Solución de Iodo Débil a un erlenmeyer, agregar 10 ml de agua y titular con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV) agregando 3 ml de almidón (SR) antes del punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones

necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 12,69 mg de I.

Ioduro de potasio - Transferir 10 ml de Solución de Iodo Débil a un erlenmeyer, agregar 30 ml de agua y 50 ml de ácido clorhídrico, enfriar a temperatura ambiente y titular con iodato de potasio 0,05 M (SV) hasta que la solución color marrón oscuro que se produce cambie a marrón claro. Agregar 1 ml de amaranto (SR) y continuar lentamente la titulación hasta que la solución color rojo cambie a amarillo. La diferencia entre el volumen en ml de iodato de potasio 0,05 M consumido y la mitad del volumen en ml de tiosulfato de sodio 0,1 N empleado en la *Valoración de iodo*, multiplicada por 16,60 representa la cantidad de mg de KI en la porción de Solución de Iodo Débil en ensayo.

ROTULADO

Indicar en el rótulo que la fecha de vencimiento de Solución de Iodo Débil es seis meses a partir de su preparación.

IODO FUERTE, SOLUCIÓN DE

MEDICAMENTO OFICIAL

Sinonimia - Tintura de Iodo Fuerte.

Definición - Solución de Iodo Fuerte debe contener no menos de 6,8 por ciento y no más de 7,5 por ciento de iodo (I) y no menos de 4,7 por ciento y no más de 5,5 por ciento de ioduro de potasio (KI). Solución de Iodo Fuerte debe cumplir con las siguientes especificaciones.

FORMULACIÓN

Iodo	70 g
Potasio, Ioduro de	50 g
Agua	50 ml
Alcohol c.s.p.	1.000 ml

Transferir la porción de ioduro de potasio a un matraz aforado de 1 litro y disolver en agua. Agregar la porción de iodo, agitar hasta disolución y completar a volumen con alcohol.

Caracteres generales - Líquido de color pardo rojizo, transparente.

CONSERVACIÓN

En envases de vidrio inactínico de cierre perfecto, en un sitio fresco.

[NOTA: cuando la Solución de Iodo Fuerte es preparada en Oficinas de Farmacia, para su Aseguramiento de Calidad debe cumplir con los requisitos indicados en 1027. *Buenas Prácticas de Preparación de Medicamentos Magistrales.*]

ENSAYOS

Identificación

A - Agregar 1 gota de Solución de Iodo Fuerte a una mezcla de 1 ml de almidón (SR) y 9 ml de agua: se debe desarrollar color azul intenso.

B - Evaporar una porción de Solución de Iodo Fuerte en un baño de vapor hasta sequedad: el residuo obtenido debe responder a los ensayos para *Potasio* y para *Ioduro* <410>.

Determinación de alcohol <130>

Debe contener entre 82,5 y 88,5 % de C₂H₅OH.

VALORACIÓN

Iodo - Transferir 10 ml de Solución de Iodo Fuerte a un erlenmeyer, agregar 10 ml de agua y titular con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV) agregando 3 ml de almidón (SR) antes del punto final. Realizar una

determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 12,69 mg de I.

Ioduro de potasio - Transferir 10 ml de Solución de Iodo Fuerte a un erlenmeyer, agregar 30 ml de agua y 50 ml de ácido clorhídrico, enfriar a temperatura ambiente y titular con iodato de potasio 0,05 M (SV) hasta que la solución color marrón oscuro que se produce cambie a marrón claro. Agregar 1 ml de amaranto (SR) y continuar lentamente la titulación hasta que la solución color rojo cambie a amarillo. La diferencia entre el volumen en ml de iodato de potasio 0,05 M consumidos y la mitad del volumen en ml de tiosulfato de sodio 0,1 N empleado en la *Valoración de Iodo*, multiplicada por 16,60, representa la cantidad de mg de KI en la porción de Solución de Iodo Fuerte en ensayo.

ROTULADO

Indicar en el rótulo que la fecha de vencimiento de Solución de Iodo Fuerte es seis meses a partir de su preparación.

IODOIODURADA, SOLUCIÓN

MEDICAMENTO OFICIAL

Sinonimia - Solución de Iodo Compuesta. Solución de Lugol.

Definición - Solución Iodoiodurada es una solución acuosa, debe contener no menos de 4,5 por ciento y no más de 5,5 por ciento de iodo (I) y no menos de 9,5 por ciento y no más de 10,5 por ciento de ioduro de potasio (KI), y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

FORMULACIÓN

Iodo..... 5 g
Ioduro de potasio..... 10 g
Agua c.s.p. 100 ml

Transferir las porciones de iodo y de ioduro de potasio a un matraz aforado de 100 ml, disolver en 15 ml de agua y completar a volumen con el mismo solvente.

Caracteres generales - Líquido límpido, color pardo rojizo intenso y olor característico de iodo.

CONSERVACIÓN

En envases de vidrio inactínicos de cierre perfecto, a una temperatura no mayor de 35 °C.

[NOTA: cuando la Solución Iodoiodurada es preparada en Oficinas de Farmacia, para su Aseguramiento de Calidad debe cumplir con los requisitos indicados en 1027. *Buenas Prácticas de Preparación de Medicamentos Magistrales.*]

ENSAYOS

Identificación

A - Agregar 1 gota de Solución Iodoiodurada a una mezcla de 1 ml de almidón (SR) y 9 ml de agua: se debe desarrollar color azul intenso.

B - Evaporar unos pocos ml de Solución Iodoiodurada en un baño de vapor hasta sequedad y someter a ignición suavemente para eliminar el iodo libre: el residuo obtenido debe responder a los ensayos para *Potasio* y para *Ioduro* <410>.

VALORACIÓN

Iodo - Transferir 10 ml de Solución Iodoiodurada a un erlenmeyer, agregar 10 ml de agua y titular con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV) agregando 3 ml de almidón (SR) antes del punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de tiosul-

fato de sodio 0,1 N equivale a 12,69 mg de I.

Ioduro de potasio - Transferir 10,0 ml de Solución Iodoiodurada a un erlenmeyer, agregar 30 ml de agua y 50 ml de ácido clorhídrico, enfriar a temperatura ambiente y titular con iodato de potasio 0,05 M (SV) hasta que la solución color marrón oscuro que se produce cambie a marrón claro. Agregar 1 ml de amaranto (SR) y continuar lentamente la titulación hasta que la solución color rojo cambie a amarillo. La diferencia entre el volumen en ml de iodato de potasio 0,05 M consumido y la mitad del volumen en ml de tiosulfato de sodio 0,1 N empleado en la *Valoración de iodo*, multiplicada por 16,60, representa la cantidad de mg de KI en la porción de Solución Iodoiodurada en ensayo.

ÓLEO CALCÁREO, LINIMENTO

MEDICAMENTO OFICINAL

Sinonimia - Linimento de Calcio.

Definición - Linimento Óleo Calcáreo es una emulsión agua en aceite y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

FORMULACIÓN

Aceite de oliva50 g

Agua de cal c.s.p.100 g

Transferir las porciones de *Aceite de Oliva* y *Agua de Cal* a un recipiente apropiado y agitar enérgicamente hasta obtener una emulsión.

[NOTA: cuando la acidez del aceite de oliva es menor de 1 % p/p puede agregarse cantidad suficiente de ácido oleico para facilitar la emulsión.]

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

[NOTA: cuando el Linimento Óleo Calcáreo es preparado en Oficinas de Farmacia, para su Aseguramiento de Calidad debe cumplir con los requisitos indicados en 1027. *Buenas Prácticas de Preparación de Medicamentos Magistrales.*]

ENSAYOS

Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles <90>

Debe cumplir con los requisitos según se indica en Asignación de límites.

ROTULADO

Indicar en el rótulo que debe agitarse antes de usar.

VASELINA BORICADA

MEDICAMENTO OFICINAL

Sinonimia - Pomada Boricada.

Definición - Vaselina Boricada debe contener no menos de 9,0 por ciento y no más de 11,0 por ciento de ácido bórico (H_3BO_3) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

FORMULACIÓN

Ácido Bórico..... 10 g

Vaselina Sólida 90 g

Triturar la porción de ácido bórico con una porción de vaselina sólida fundida hasta obtener una mezcla homogénea y agregar el resto de la vaselina sólida.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto

[NOTA: cuando Vaselina Boricada es preparada en Oficinas de Farmacia, para su Aseguramiento de Calidad debe cumplir con los requisitos indicados en 1027. *Buenas Prácticas de Preparación de Medicamentos Magistrales.*]

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 2,0 g de Vaselina Boricada, transferir a un erlenmeyer, agregar 30 ml de agua caliente y calentar la mezcla en un baño de agua durante 15 minutos, agitando frecuentemente. Filtrar en caliente a través de un filtro humedecido, transferir a un matraz aforado de 100 ml; lavar el erlenmeyer varias veces con agua caliente y filtrar los líquidos de lavado. Dejar enfriar y completar a volumen con agua. Transferir 50 ml de esta solución, correspondientes a 1,0 g de Vaselina Boricada, a un erlenmeyer. Agregar 20 ml de glicerina neutralizada frente a fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), empleando fenolftaleína (SR) como indicador, hasta coloración rosada. Agregar 20 ml de glicerina neutralizada frente a fenolftaleína (SR) para decolorar el líquido y titular nuevamente con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) hasta coloración rosada. Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 6,2 mg de ácido bórico.

ROTULADO

Indicar en el rótulo que la fecha de vencimiento de Vaselina Boricada es seis meses a partir de su preparación.

VASELINA FENICADA

MEDICAMENTO OFICIAL

Sinonimia - Vaselina Fenolada. Pomada Fenicada.

Definición - Vaselina Fenicada debe contener no menos de 4,5 por ciento y no más de 5,5 por ciento de fenol (C_6H_6O) y debe cumplir con las siguientes especificaciones.

FORMULACIÓN

Fenol5 g

Vaselina Sólida95 g

Disolver la porción de fenol en la porción de vaselina sólida previamente fundida y triturar la mezcla hasta obtener una pomada homogénea.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

[NOTA: cuando Vaselina Fenicada es preparada en Oficinas de Farmacia, para su Aseguramiento de Calidad debe cumplir con los requisitos indicados en 1027. *Buenas Prácticas de Preparación de Medicamentos Magistrales.*]

VALORACIÓN

Pesar exactamente alrededor de 1,0 g de Vaselina Fenicada, transferir a un balón de 150 ml, agregar 75 ml de agua, conectar a un refrigerante y destilar. Recolectar aproximadamente 150 ml del destilado en un matraz adecuado de 500 ml, con tapón esmerilado.

A 1 ml del destilado siguiente, agregar 3 ml de bromo (SR), si se produce turbidez, continuar la destilación hasta reacción negativa [NOTA: la reacción negativa indica que se ha destilado todo el fenol]. Agregar al destilado, 50 ml de bromo 0,1 N (SV) y 5 ml de ácido clorhídrico y tapar. Agitar varias veces durante 30 minutos, dejar reposar durante 15 minutos, agregar rápidamente 5 ml de solución de ioduro de potasio al 20 %, evitando que escapen vapores de bromo y tapar. Agitar y enjuagar el tapón y el cuello del matraz con agua recolectando el lavado dentro del matraz. Agregar 1 ml de cloroformo, agitar la mezcla y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver *Titulación residual* en 780. *Volumetría*). Cada ml de bromo 0,1 N equivale a 1,57 mg de fenol (C_6H_6O).

ROTULADO

Indicar en el rótulo que la fecha de vencimiento de Vaselina Fenicada es seis meses a partir de su preparación.

VASELINA LÍQUIDA

MEDICAMENTO OFICIAL

Sinonimia - Parafina Líquida. Petrolato Líquido.

Definición - Vaselina Líquida es una mezcla de hidrocarburos líquidos saturados, obtenida a partir del petróleo y purificada, y debe cumplir con las siguientes especificaciones

Caracteres generales - Líquido oleoso, transparente e incoloro, libre de fluorescencia; inodoro e insípido. Soluble en aceites volátiles, cloroformo, éter, éter de petróleo, sulfuro de carbono y la mayoría de los aceites fijos; poco soluble en alcohol; insoluble en aceite de ricino y agua.

CONSERVACIÓN

En envases de cierre perfecto.

[NOTA: cuando Vaselina Líquida es fraccionada en Oficinas de Farmacia, para su Aseguramiento de Calidad debe cumplir con los requisitos indicados en 1027. *Buenas Prácticas de Preparación de Medicamentos Magistrales.*]

ENSAYOS

Determinación de la densidad relativa <160>

Entre 0,824 y 0,903.

Determinación de la viscosidad <190>

La viscosidad cinemática no debe ser menor de 34,5 centistokes a 40,0°C.

Neutralidad

Calentar a ebullición 10 ml de Vaselina Líquida con un volumen igual de alcohol: el alcohol debe permanecer neutro frente al papel de tornasol.

Sustancias fácilmente carbonizables

Transferir 5 ml de Vaselina Líquida a un tubo de ensayo previamente enjuagado con mezcla sulfocrómica para limpieza (ver 1090. *Limpieza de materiales de vidrio*), luego enjuagado con agua y secado. Agregar 5 ml de ácido sulfúrico (SR), tapar y calentar en un baño de agua durante 10 minutos, agitando vigorosamente tres veces en sentido vertical con una amplitud de 10 cm cada 30 segundos [NOTA: no mantener el tubo de ensayo fuera del baño durante más de 3 segundos en cada período de agitación]: la Vaselina Líquida se puede volver turbia, pero debe permanecer incolora o debe mostrar una coloración levemente rosada o amarilla; y el color obtenido con el ácido no debe ser más oscuro que el producido por una mezcla de 3 ml de cloruro férrico (SC), 1,5 ml de cloruro de cobalto (SC) y 0,5 ml de sulfato de cobre (SC), cubriendo esta mezcla con 5 ml de Vaselina Líquida.

Límite de compuestos polinucleares

Solución estándar - Disolver una cantidad exactamente pesada de naftaleno en isoocetano y diluir cuantitativamente y en etapas con el mismo solvente para obtener una solución con una concentración de 7,0 µg por ml.

Solución muestra- Transferir 25 ml de Vaselina Líquida y 25 ml de *n*-hexano a una ampolla de decantación de 125 ml y mezclar. [NOTA: emplear *n*-hexano previamente agitado dos veces con un quinto de su volumen de dimetilsulfóxido. No emplear otro lubricante que agua en el robinete, o emplear una ampolla de decantación equipada con un robinete plástico apropiado]. Agregar 5 ml de dimetilsulfóxido y agitar vigorosamente durante 1 minuto. Dejar reposar hasta que la fase inferior sea transparente, transferir la fase inferior a otra ampolla de decantación de 125 ml, agregar 2 ml de *n*-hexano, agitar vigorosamente y separar la fase inferior.

Procedimiento - Determinar la absorbancia de la *Solución muestra* en una celda de 1 cm entre 260 nm y 420 nm, empleando como blanco una mezcla de *n*-hexano y dimetilsulfóxido (25:5), previamente agitada vigorosamente durante 1 minuto. La absorbancia, en el intervalo especificado, no debe ser mayor que un tercio de la absorbancia de la *Solución estándar* a 275 nm, empleando isoocetano como blanco.

Parafina sólida

Transferir una porción de Vaselina Líquida, previamente secada en un vaso de precipitados a 105 °C durante 2 horas y enfriada a temperatura ambiente en un desecador sobre gel de sílice, a un recipiente incoloro y cilíndrico de aproximadamente 120 ml de capacidad. Tapar y sumergir en una mezcla de hielo y agua durante 4 horas: la muestra debe permanecer suficientemente transparente para que sea claramente visible una línea negra de 0,5 mm de ancho sobre un fondo blanco, sostenido verticalmente detrás del recipiente.

ROTULADO

Indicar en el rótulo el nombre, la cantidad de cualquier estabilizante agregado y que la fecha de vencimiento de Vaselina Líquida es un año a partir de su fraccionamiento.

VASELINA SÓLIDA

MEDICAMENTO OFICIAL

Sinonimia - Parafina blanda. Petrolato. Vaselina blanca.

Definición - Vaselina Sólida es una mezcla purificada de hidrocarburos saturados de consistencia semisólida, obtenidos a partir del petróleo y puede contener un estabilizante apropiado. Vaselina Sólida debe cumplir con las siguientes especificaciones.

Caracteres generales - Masa amorfa, blanca o blanca ligeramente amarillenta o ligeramente verdosa. Homogénea, de aspecto graso y untuosa al tacto; a veces muy poco fluorescente; semitransparente en láminas delgadas, aún después de ser enfriada a 0 °C. Inodora, insípida e inalterable al aire. Soluble en cloroformo, éter, éter de petróleo, sulfuro de carbono y en la mayoría de los aceites fijos y volátiles; prácticamente insoluble en alcohol; insoluble en agua y glicerina.

CONSERVACIÓN

En envases bien cerrados.

[NOTA: cuando Vaselina Sólida es fraccionada en Oficinas de Farmacia, para su Aseguramiento de Calidad debe cumplir con los requisitos indicados en 1027. *Buenas Prácticas de Preparación de Medicamentos Magistrales.*]

ENSAYOS

Determinación de la densidad relativa <160>

Entre 0,815 y 0,880 determinada a 60 °C.

Determinación del punto de fusión <260>

Método III. Entre 38 y 60 °C.

Color

Transferir aproximadamente 10 g de Vaselina Sólida a un recipiente apropiado, calentar en un baño de vapor hasta fundir y transferir 5 ml del líquido obtenido a un tubo de ensayo: no debe ser más oscuro que una solución preparada mezclando 3,8 ml de cloruro férrico (SC) y 1,2 ml de cloruro cobalto-so (SC). [NOTA: comparar ambos tubos con luz reflejada sobre fondo blanco, sosteniendo el tubo directamente sobre el fondo en un ángulo tal que no haya fluorescencia.]

Alcalinidad

Transferir 35 g de Vaselina Sólida a un vaso de precipitados, agregar 100 ml de agua hirviendo, tapar y colocar sobre una placa calefactora con agitador, manteniendo el agua en ebullición. Luego de 5 minutos, dejar separar las fases y transferir la porción acuosa obtenida a una cápsula, lavar la fase sôli-

da con dos porciones de 50 ml de agua hirviendo y transferir los lavados a la cápsula. Agregar 1 gota de fenoltaleína (SR) a los lavados combinados y calentar a ebullición: la solución obtenida no debe desarrollar color rosado.

Acidez

Si el agregado de fenoltaleína (SR) en el ensayo de *Alcalinidad* no produce color rosado, agregar 0,1 ml de naranja de metilo (SR): no se debe desarrollar color rojo ni rosado.

Determinación del residuo de ignición <270>

Calentar 2 g de Vaselina Sólida en una cápsula de porcelana sobre la llama de un mechero: se debe volatilizar sin olor acre y el residuo de ignición no debe ser mayor de 0,1 %.

Aceites fijos, grasas y resinas

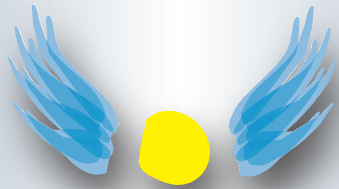
Calentar 10 g de Vaselina Sólida con 50 ml de hidróxido de sodio 5 N a 100 °C durante 30 minutos. Separar la fase acuosa y acidificar con ácido sulfúrico 5 N: no se deben separar sustancias aceitosas ni sólidas.

Ácidos orgánicos

Transferir 20,0 g de Vaselina Sólida a un recipiente apropiado, agregar 100 ml de una mezcla de agua y alcohol neutralizado (2:1), agitar vigorosamente y calentar hasta ebullición. Agregar 1 ml de fenoltaleína (SR) y titular rápidamente con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), agitando hasta punto final rosa neto, observando el cambio de color en la fase alcohol-agua: no se deben consumir más de 0,4ml de hidróxido de sodio 0,1 N.

ROTULADO

Indicar en el rótulo el nombre, la cantidad de cualquier estabilizante agregado y que la fecha de vencimiento de Vaselina Sólida es un año a partir de su fraccionamiento.



Farmacopea Argentina

VOLUMEN IV



**FARMACOPEA
ARGENTINA**

SÉPTIMA EDICIÓN



Farmacopea Argentina

VOLUMEN
IV

FARMACOPEA ARGENTINA

SÉPTIMA EDICIÓN



Ministerio de Salud de la Nación

Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos

ANMAT

Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

INAME

Instituto Nacional de Medicamentos

FARMACOPEA ARGENTINA

SÉPTIMA EDICIÓN

Presidente de la Nación

Dra. Cristina Fernández de Kirchner

Jefe de Gabinete de Ministros

Dr. Juan Manuel Abal Medina

Ministro de Salud de la Nación

Dr. Juan Luís Manzur

Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos

Dr. Gabriel Eduardo Yedlin

Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

Dr. Carlos A. Chiale

Instituto Nacional de Medicamentos

Farm. Rodolfo H. Mocchetto

**FARMACOPEA
ARGENTINA**

SÉPTIMA EDICIÓN

VOLUMEN
IV

COMISIÓN PERMANENTE
FARMACOPEA ARGENTINA

Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina

PRESIDENTE: Dr. Carlos A. Chiale

DIRECTOR EJECUTIVO: Bioq. y Farm. Héctor Giuliani

SECRETARÍA TÉCNICA:

Farm. Melina I. Assalone

Farm. Melina A. Dal Mas

Farm. María Celeste De Angelis

VOCALES:

Dr. Sem M. Albónico

Dr. Daniel Allemandi

Dr. Arnaldo Luis Bandoni

Dr. Pablo Bazerque

Dra. Clyde Carducci

Dr. Mario A. Copello (†)

Dr. Miguel D' Aquino

Dr. Juan M. Dellacha

Dra. Graciela Ferraro

Dr. Teodoro S. Kaufman

Dra. Marcela Longhi

Dr. Eloy Mandrile (†)

Dr. Rubén Manzo

Dra. Eugenia Olivera

Dra. Cristina Ortiz

Dra. María Teresa Pizzorno

Dr. Edgardo Poskus

Dra. Maria Praturlon

Dr. Modesto Rubio

Dr. Norberto A. Terragno

Dra. María Guillermina Volonté

COMPOSICIÓN DE LAS SUBCOMISIONES TÉCNICAS DE LA FARMACOPEA ARGENTINA

Aguas y Soluciones Parenterales de Gran Volumen

Achilli, Estela; Bichman, Mario; Colombari, Daniel; Cravzov Alicia; Duda, Guillermo; Fiore, Esteban; Menéndez Viviana; Neder, Jorge; Nista, Liliana; Petracca, Antonia; Ploder, Peter; Silveti, Omar Alfredo; Szyszkowsky, Juiz Rubén; Vedoya, Gabriela Silvia.

Biodisponibilidad, Bioequivalencia y Equivalencia Farmacéutica

Bignone, Inés; Bolaños, Ricardo; Bramuglia, Guillermo; Abalos, Ivana; Debattista, Gabriela; De Leone, Héctor (†); Giarcovich, Silvia; Granero, Gladys; Niselman, Ada Viviana; Pano, Viviana; Pesce, Graciela; Pesce, Guido; Peretti Mariana; Rey, Andrea; Romañuk Carolina; Seoane, Martín; Sperandeo, Norma; Steeman, Gabriela; Torres, Adriana; Viñas, María Alicia.

Colorantes, Excipientes y Aditivos

Brunet, Noemí; Bustos, Mónica; Ciura, Juan M. Emilio; Corseti, Héctor; Dabbene, Viviana; Dobrecky, José; Ferrari, Jorge; Jacobi, Carlos; Rivas, Viviana; Rubio García, Rodolfo; Taschetti, Mabel; Trokán, Francisco; Vallese, María Cristina.

Controles Toxicológicos

Araldi, Héctor (†); Bindstein, Edith; Bulgach, Delia; Cereceto Marina, Fulginiti, Ana Susana; Gruñeiro, Elena; López, Clara; Pazos, Liliana; Pico, José Carlos; Quiroga, Pablo; Rodriguez Carolina, Rodriguez Yanina; Roses, Otmaro; Salseduc, Marta; Santiesteban, Raquel.

Estabilidad y Envases

Ariosti, Alejandro; Blanco, Mirta; Briñon, Margarita; Gorisknik, Adriana; Gruc, Olga; Alejandra; Mandrile, Alejandra; Nudelman, Norma; Pico, Guillermo; Pilatti, Carina; Riera, Mónica; Spinetto, Marta; Sandrone, Ariel; Sánchez, Eduardo; Tamasi, Diego.

Farmacia Hospitalaria

Bernal Castro, Federico; Bernavei, Alicia; Buontempo, Fabian; Elías, Mónica; Fernandez, María Cristina; Drunday, Fabian; Fernández, Fillinger, Ester, María Laura; García, Angélica;

Hermida, Miguel; Iglesias, Fabiana; Lagomarsino, Eduardo; Mato, Gabriel; Melero, Marcia; Menéndez, Ana María; Montemerlo, Hugo; Pita Martin de Portela, María Luz; Raviolo, Rodolfo; Rodríguez, Luis A.; Slobodianik de Gurevich, Haydeé; Soifer, Graciela.

Farmacia Oficial

Alvárez, Jorgelina; Andiñach, Guido; Callegari, Fernando; Ferrero, Horacio; Fitanovich, Nora; Fridman, Gerardo; Garcia, Roberto; Gatica, Karina; Gomez, Juan; Gonzalez, Ana María; Julián, Silvia; Kleinlein, Patricia; López de Souza, María del Carmen; Lopez, Guillermo; Maino, Héctor; Mollardo, María Teresa; Mendez, Raquel; Moreno, Patricia; Nadal, Ana María; Paura, Andrea; Perez González, Rocio; Policelli, Gabriela; Quijano, Rubén Darío; Quiroga, Eduardo; Rencoret, María Mercedes; Ruggieri, José; Salas, Vivian; Tokumoto, Fernanda; Torres, Hugo; Uema, Sonia; Valverde, Javier.

Gases Medicinales

Arcos, Marcelo; Bernaus, Carlos; Cordera, Mónica; Elgadbán, Javier; Fischer, Alfredo; Marceca, Ernesto; Mildenberger, Maria Amalia; Sturtz Nelson; Testa, Graciela; Tourville, Antonio; Zavala, Estela.

Ingredientes Farmacéuticos Activos y Productos Terminados

Abelaira, Sara; Acevedo, Maria Eugenia; Alarcon, Gabriela; Alassia de Torres, Liliana; Avancini Noceti, Constanza; Barredo, Silvia; Barros, Carmen; Bava, Adriana; Berndt, Sandra; Bianchi, Dario; Bianchini, Romina; Blanc, José; Boggian, Dora; Brandolini, Andres; Bruno, Claudia; Cancio, Julieta; Capellino, Víctor; Castellano, Patricia; Centrone, Claudio; Constanza; Ceresole, Rita; Chiarelli, Silvia; Circón de Vidal, Noemí; Calandri, Daniela; Carro, Vanesa; Castaña, Eduardo; Cereijo, María Inés (†); Chiamonte, Eduardo; Chiarelli, Silvia; Ciccio, Enrique; Diez, María Ester; Dominguez, Silvia; Ercolano, Irma; Fariña, Mirta; Faroppa, María; Fasanella, Marta; Fernández Otero, Germán; Ferrari, Maria; Gabor, Juliana; Garcia, Marcela; Garnero, Claudia; Giornelli, Gabriela; Gonzalez Cecilia; González, Soledad; Gonzalez

Vidal, Noelia; Greco, Olga; Herr, Victoria; Hoyos de Rossi, María; Irurtia, Lucila; Jimenez Kairuz, Alvaro; Lamas, María Celina; Larrinaga, Alicia; Larghi Enrique; Luque, Graciela; Laba, Raul; Lavaselli, Susana; Lloret, M. Antonia; Lopez, Marcelo; Lucangioli, Silvia; Luna, Julio; Lynch, Josefina; Maggio, Rubén; Manghi, Marcela; Marinero, Bautista; Martinez, Juan L.; Meneghini, Alejandro; Milazzo, Cecilia; Montes de Oca, Federico; Nacucchio, Marcelo; Ortega, Claudia; Palacios, Marcelo Luis; Palacios de Ortiz, Sara; Perez, Vanina; Pinet, Ana María; Piñeyro, Luisa; Ponce, Claudia; Porta, Raúl; Pozzo, María del Carmen; Prado, Hector; Quatrocchi, Oscar; Quijano, Ruben; Quiroga, Gladys; Raviolo, Mónica; Rivas, Raúl; Robles, Juan; Ricchiuti, Andrea; Roberto, Mónica; Rosasco, María Ana; Saavedra, Abel; Saint Martin, Eduardo; Sakson, Mario; Salomon, Claudio; Sanpedro, Pura; Safierowicz, Rosa; Scala, Mariela; Sedeño, Cristina; Segall, Adriana; Serrao, Rosa; Simionato, Laura; Soto, Pablo; Sproviero, Jorge; Suarez, Marcelo; Szeliga, María; Tombari, Dora; Valente, Gladys; Vazquez, Ana; Vega, Julio César; Varela López, Ramón; Vessuri, María; Vidal, Noelia; Yapur, Gustavo; Zan, Mercedes; Zinni, Elvira; Zoppi, Ariana; Zubata, Patricia.

Medicamentos Herbarios

Agnese, Alicia; Amat, Aníbal; Bucciarelli, Alejandro; Cabrera, José Luis; Chico, Sandra; Debenedetti, Silvia; Del Vitto, Luis Angel; Flores, María Luján; Gattuso, Martha; Gattuso, Susana; Gurni, Alberto; Lopez, Paula; Nadinic, Elena; Padula, Laura Z.; Petenatti, Elisa; Rizzo, Inés; Rondina, Rubén; Schvarzberg, Nora; Skliar, Mario; Spegazzini, Etile; Wagner, Marcelo; Wilson, Erica; Zeichen, Rita.

Microbiología

Albesa de Eraso, Inés; Arakaki, Regina; Balanian, Silvia Gladys; Belixán, Norma; Calvete, Javier; Cerra, Hector; Frade, Horacio; Franco, Mirta; Garcia, Carolina; Giraudo, Federico; Gutkin, Gabriel; Lagomarsino, Monica; Magariños María del Carmen, Pietrasanta, Beatriz; Raffo Palma, Martha; Salazar, Germán; Sordelli, Daniel; Stagnaro, Stella Maris; Telli, Herminia; Teves, Sergio; Torno, Graciela; Vivas, Ariel.

Productos Biológicos y Biotecnológicos

Albertengo, María Elisa (†); Aprea, Patricia; Barravecchia de Dehó, Martha; Brero, María Luisa; Caminos, Andrea; Copello, Cecilia; Dabsys,

Susana; Dokmetjian, José; Drucaroff, María Alejandra; Cascone; Corley, Esteban; Criscuolo, Marcelo; Esnaola, María Margarita; Fraga, Griselda; Francinelli, Luisa; García, Salvador; García Franco, Susana; Giampaolo, Beatriz; Gorzalczany, Susana; Goyogana, Francisco; Iglesias, Sergio; Mammarella, Carlos; Mondelo, Nélide; Nisenbaum, Isaac; Oliva, Liliana; Ostrowski, Héctor; Pardo, Verónica; Perez, Analia (†); Pombo, María Luz; Rodríguez, María Eugenia; Rossi, Marina; Seigelchifer, Mauricio; Sobrero, Cecilia; Yantorno, Osvaldo. Zarzur, Jorge.

Productos Médicos

Benitez, Sergio; Carbone, Nora; Costanzo, Ricardo; De Rose, María; Gago, Daniel; Gonzalez, María Celeste; Graña, Nora; Graziano, María Del Carmen; Herrera, Fanny; Iervasi, Liliana; Metz, Rita; Mosconi, Andrea; Peralta, Laura; Saba, Fernando; Sager de Agostini, Helga; Sialino, Rodolfo; Staravijosky, Alejandra; Tarletta, Patricia; Olivera de O'Connell, Lucía.

Radiofármacos

Aletti, Sabrina; Baigorria, Sergio; Bergoc, Rosa; Boccio, José; Cañelas, Carlos; Caro, Ricardo; Duran, Adrián; Fraga de Suarez, Amanda; Furnari, Juan Carlos; Nicolini, Jorge; Ruty Solá, Gisela; Samson, José Cembal; Zubillaga, Marcela.

Secretaría Técnica

Assalone, Melina Isabel; Dal Mas, Melina Andrea; De Angelis, María Celeste.

Revisores Técnicos

Compagnucci, María Eugenia; Gear, Jorgelina; Martinez, Andrea Verónica; Martinez, Valeria Soledad.

Agradecimientos

Silvia Boni, Patricia Zubata, Silvia Lavaselli, Soledad Risso Patrón y Giovanna Sibay Nughes por su colaboración en el capítulo 1050. *Formas Farmacéuticas*.

Ana María Chan y María José Arrechea por su colaboración en el capítulo 345. *Ensayo de Salmonella/fracción microsomal (Test de Ames) para detección de mutagenicidad*.

A los Laboratorios que colaboraron en la presente Edición.

FARMACOPEA ARGENTINA SÉPTIMA EDICIÓN

CUARTO VOLUMEN

ÍNDICE GENERAL

Consideraciones Generales

Métodos Generales de Análisis

- <10> - Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos
- <20> - Análisis térmico
- <70> - Conductividad
- <75> - Conductividad en agua calidad farmacéutica
- <90> - Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles
- <225> - Determinación del índice de peróxidos
- <335> - Ensayo de micobacterias
- <336> - Ensayo de micoplasmas
- <339> - Ensayo de neurovirulencia para vacunas a virus vivo
- <345> - Ensayo de *Salmonella*/fracción microsomal (Test de Ames) para detección de mutagenicidad
- <360> - Ensayo de toxicidad anormal
- <370> - Ensayos de esterilidad
- <383> - Ensayos de suturas
- <385> - Ensayos en hemoderivados
- <415> - Ensayo para agentes extraños en vacunas virales
- <420> - Envases primarios de plástico
- <435> - Envases para productos médicos estériles
- <475> - Esterilización

- <590> - Límite de metales pesados
- <625> - Métodos de análisis para Gases Medicinales
- <635> - Métodos inmunoquímicos
- <740> - Uniformidad de unidades de dosificación
- <745> - Vacunas de uso humano

Textos de Información General

- <1005> - Agua Calidad Farmacéutica
- <1013> - Buenas prácticas de dispensación en la farmacia oficial comunitaria y hospitalaria
- <1025> - Buenas prácticas para la manipulación de medicamentos citostáticos endovenosos en centros asistenciales
- <1027> - Buenas prácticas de preparación de medicamentos magistrales
- <1030> - Criaderos de pollos libres de patógenos especificados para la producción y control de calidad de las vacunas
- <1033> - Cuidados paliativos
- <1035> - Equivalencia entre medicamentos
- <1050> - Formas farmacéuticas
- <1095> - Polimorfismo
- <1125> - Sustratos celulares para la producción de vacunas de uso humano

NUEVAS CONSIDERACIONES GENERALES

NUEVAS CONSIDERACIONES GENERALES

La Farmacopea es el texto oficial que codifica los principios activos, excipientes y productos farmacéuticos y contiene las especificaciones que éstos deben cumplir para demostrar su calidad y resguardar la salud de la población.

Generalidades

Estas consideraciones generales se aplicarán a las monografías, capítulos generales u otros textos incluidos en esta Farmacopea.

La expresión “Oficial” significa “de la Farmacopea Argentina” y se refiere a cualquier título, sustancia, preparación o ensayo incluido en las monografías y capítulos.

Las iniciales *FA*, acompañando al nombre oficial en el rótulo de un producto, indica que el mismo cumple con las especificaciones de la Farmacopea Argentina, aunque esto no constituye una certificación por parte de la misma.

El uso del título de una monografía supone que la sustancia, preparación o producto así designado se ajusta a las especificaciones de la monografía correspondiente. Tales referencias en los textos de la Farmacopea se indican mediante el título de la monografía en letra cursiva.

Tanto las monografías como los capítulos generales pueden contener excepciones a estas Consideraciones Generales, las mismas serán señaladas explícitamente, al igual que el procedimiento a seguir en cada caso. Para destacar la existencia de excepciones, se agregará la expresión: “*A menos que se especifique de otro modo*”. Asimismo, en caso de ausencia de una excepción explícita, las expresiones deberán interpretarse como se indica en este documento.

Los ensayos y valoraciones descriptos son los métodos oficiales sobre los cuales se fundamentan las especificaciones de la Farmacopea.

Para evitar repetir instrucciones comunes a un ensayo determinado, en las monografías, se establecen los requisitos en forma abreviada, indicando el nombre del capítulo correspondiente con un número de orden asignado entre los símbolos <y>, como por ej. <100>. *Cromatografía*, que luego es apropiadamente desarrollado en la sección *Métodos Generales de Análisis*.

Todas las declaraciones contenidas en las monografías, con las excepciones dadas más adelante, constituyen normas para las sustancias oficiales. Una sustancia es de calidad Farmacopea

Argentina cuando cumple con todos los requisitos establecidos en la monografía respectiva.

Los ensayos elegidos se han ideado para detectar o determinar las impurezas más significativas y para fijar el contenido límite de aquellas.

Definiciones

Medicamento: toda preparación o producto farmacéutico empleado para la prevención, diagnóstico y/o tratamiento de una enfermedad o estado patológico, o para modificar sistemas fisiológicos en beneficio de la persona a quien se le administra.

Principio activo o droga farmacéutica: toda sustancia química o mezcla de sustancias relacionadas, de origen natural o sintético, que poseyendo un efecto farmacológico específico, se emplea en medicina humana.

Especialidad medicinal o farmacéutica: todo medicamento, designado por un nombre convencional, sea o no una marca de fábrica o comercial, o por el nombre genérico que corresponda a su composición y contenido, preparado y envasado uniformemente para su distribución y expendio, de composición cuantitativa definida declarada y verificable, de forma farmacéutica estable y acción terapéutica comprobable.

Nombre genérico: denominación de un principio activo o droga farmacéutica o, cuando corresponda, de una asociación o combinación de principios activos a dosis fijas, adoptada por la Autoridad Sanitaria Nacional o, en su defecto, la denominación común internacional de un principio activo recomendada por la Organización Mundial de la Salud.

Excipiente: es toda sustancia de origen natural o sintética presente en una preparación farmacéutica incorporada sin propósito terapéutico.

Producto farmacéutico: es un preparado que contiene uno o varios principios activos y excipientes, formulados bajo una determinada forma farmacéutica. Suele emplearse “preparación farmacéutica” como sinónimo de “producto farmacéutico”, para referirse tanto al producto a granel como al producto terminado.

Forma Farmacéutica: Es el producto proveniente de la transformación de un principio activo o de una asociación de los mismos mediante procedimientos fármacotécnicos, a fin de conferirles características físicas y morfológicas particulares para su adecuada dosificación y

conservación, y que faciliten su administración y acción farmacológica.

Interpretación de los requisitos

Las normas farmacopeicas definen las características de un producto y establecen los ensayos que permiten demostrar que el mismo satisface los requisitos elementales de calidad, exigidos por la Autoridad Sanitaria.

Estas normas se aplican en cualquier momento de la vida útil del producto, desde la elaboración hasta su fecha de vencimiento.

No debe entenderse que el cumplimiento de las especificaciones establecidas en la monografía a muestras de un lote de producción asegure el cumplimiento de las normas farmacopeicas de todos los componentes del lote.

Los datos obtenidos a partir de estudios de validación del proceso de fabricación y de controles efectuados durante el proceso pueden dar mayores garantías del cumplimiento de los requisitos de una monografía en particular, que la información obtenida a partir del examen de un número determinado de unidades de ese lote.

Las tolerancias y límites expresados en las definiciones de las monografías son para compensar las variaciones inevitables durante la preparación del producto y el deterioro normal que se produce durante la vida útil del mismo.

Cuando se expresan límites en forma numérica, los límites superior e inferior de un intervalo incluyen esos dos valores y todos los valores intermedios.

Es recomendable para la liberación de lotes, establecer especificaciones más estrictas que las contempladas bajo el título *Definición*, a fin de que el contenido del producto se encuentre siempre dentro de los límites establecidos pese a la caída de título normal que puede ocurrir durante la vida útil del producto. Dichas especificaciones para la liberación deberían surgir a partir de los datos obtenidos durante el estudio de estabilidad del producto (ver 1040. *Estudios de estabilidad*).

Los límites expresados en las definiciones de las monografías y en las especificaciones de los ensayos, independientemente de que éstos estén expresados en porcentajes o valores absolutos, son valores significativos hasta el último dígito.

En los procedimientos volumétricos, se establece el peso de la sustancia analizada que equivale a cada mililitro del valorante estandarizado. En estos casos, se entiende que el número de cifras significativas en la concentración del valorante corresponde al número de cifras significativas en el peso de la sustancia analizada. Se deberán hacer las correcciones con respecto al

blanco para todas las valoraciones volumétricas según corresponda (ver 780. *Volumetría*).

Cuando el resultado deba calcularse con referencia a la *sustancia seca*, se hará uso de las condiciones de secado que se indiquen en el ensayo *Pérdida por secado* en la monografía. Cuando el resultado se calcule con referencia a la *sustancia anhidra*, el contenido de agua será determinado por el método descrito en la monografía bajo el subtítulo *Agua*.

Actualizaciones

Se considera una *actualización total* cuando todo el texto reemplaza al de la edición anterior; por ej., <590>. *Límite de metales pesados*, identificándose con un asterisco en el índice alfabético (*) y, en el título del texto actualizado, se encontrará la leyenda "*Actualización total*". Se considera una *actualización parcial* cuando sólo una parte del texto ha sido modificada, identificándose con un asterisco en el índice alfabético (*) y, en el título del texto actualizado, se encontrará la leyenda "*Actualización parcial*". En este último caso se encontrará subrayado el fragmento del texto que ha sido actualizado.

Expresión de concentraciones

Los porcentajes de concentración se expresan de la siguiente manera:

Porcentaje peso en peso (% p/p): expresa el número de gramos de un soluto en 100 g de solución o mezcla.

Porcentaje peso en volumen (% p/v): expresa el número de gramos de un soluto en 100 ml de solución, y se utiliza prescindiendo de que el diluyente en cuestión sea agua u otro líquido.

Porcentaje volumen en volumen (% v/v): expresa el número de mililitros de un soluto en 100 ml de solución.

La expresión *porcentaje* empleada sin otro calificativo significa: porcentaje peso en peso para mezclas de sólidos y semisólidos, porcentaje peso en volumen para soluciones o suspensiones de sólidos en líquidos, porcentaje volumen en volumen para soluciones de líquidos en líquidos y porcentaje peso en volumen para soluciones de gases en líquidos.

Sustancias de Referencia

Sustancia de Referencia Farmacopea Argentina [SR-FA] - Material de uniformidad comprobada, cuya monografía ha sido incluida en la *Farmacopea Argentina*, desarrollado a través de ensayos colaborativos avalados por esta Farmacopea y A.N.M.A.T – I.N.A.M.E, cuyo empleo se reserva a ensayos químicos y físicos específicos en los que se

comparan sus propiedades con las de un producto problema y que posee un grado de pureza adecuado para el uso al que se destina.

Cuando una *Sustancia de Referencia Farmacopea Argentina* no esté disponible, deberá emplearse aquella equivalente reconocida por esta Farmacopea.

Sustancias auxiliares

Se denomina *Sustancia auxiliar* a cualquier sustancia incorporada a las preparaciones oficiales, tales como colorantes, conservantes saborizantes. La misma deberá ser inocua o agregada en una proporción que garantice la inocuidad, no tener influencia adversa sobre la seguridad y eficacia terapéutica de los principios activos y no interferir en los ensayos y valoraciones.

Sustancia oficial es aquella que no contiene sustancias auxiliares agregadas salvo que se permita específicamente en la monografía correspondiente. En este caso, el rótulo deberá indicar los nombres y las cantidades de las sustancias auxiliares agregadas.

Colorantes: son sustancias auxiliares incorporadas a las preparaciones oficiales exclusivamente para dar color. Deberán satisfacer las especificaciones establecidas (ver 50. *Colorantes de uso farmacéutico*).

Conservantes: son sustancias auxiliares que se agregan a las preparaciones oficiales para protegerlas de la contaminación microbiana. La expresión “*conservante antimicrobiano apropiado*” implica que puede agregarse al preparado una sustancia auxiliar, siempre que cumplan con las especificaciones establecidas (ver 80. *Conservantes*).

Reactivos

La realización correcta de ensayos y valoraciones de esta Farmacopea, así como la obtención de resultados reproducibles y confiables, depende de la calidad de los reactivos empleados.

Todos los reactivos requeridos para los ensayos y valoraciones se definen en *Reactivos y Soluciones*.

Abreviaturas

La sigla *SR-FA* corresponde a *Sustancia de referencia de la FA*.

Las siglas (*SC*) y (*SR*) corresponden a *Solución Colorimétrica* y *Solución de Reactivo*, respectivamente indicadas en *Reactivos y Soluciones*.

La sigla (*SV*) corresponde a *Solución Volumétrica* e indica que tal solución está estandarizada de acuerdo con las instrucciones

dadas en la monografía respectiva o bajo el título *Soluciones volumétricas en Reactivos y Soluciones*.

La sigla (*SL*) corresponde a *Solución Límite* e indica que dicha solución es empleada para ensayos límite.

Agua

La expresión agua, empleada sin otra calificación significa *Agua purificada* y agua libre de dióxido de carbono, es *Agua purificada* que ha sido calentada a ebullición durante al menos 5 minutos y enfriada en forma tal de evitar la absorción de dióxido de carbono atmosférico.

Agua purificada estéril - Es el *Agua purificada* esterilizada. Se emplea en la preparación de formas farmacéuticas líquidas no parenterales en las que se requiera una forma estéril de *Agua purificada*.

Agua para inyectables - La fuente de agua es agua potable, previamente purificada y sometida a destilación u ósmosis reversa de doble paso. Debe cumplir con todos los requisitos de *Agua purificada* y además con los requisitos del ensayo de endotoxinas bacterianas (ver 330. *Ensayo de endotoxinas bacterianas*).

Agua estéril para inyectables - Es *Agua para inyectables* esterilizada. Se emplea principalmente como solvente de productos parenterales.

Agua bacteriostática para inyectables - Es *Agua estéril para inyectables* a la cual se le ha agregado uno o varios conservantes apropiados. Se utiliza como solvente de preparados parenterales. Puede envasarse en envases monodosis o multidosis de un tamaño no mayor a 30 ml.

Agua estéril para irrigación - Es *Agua para inyectables* esterilizada en envases monodosis de más de 1 litro destinados a una rápida descarga del contenido. No necesita cumplir con el ensayo 650. *Partículas en inyectables*.

Agua estéril para inhalación - Es *Agua para inyectables* envasada en envases monodosis no mayores a 20 ml y esterilizada. Se emplea en nebulizadores y en la preparación de soluciones para nebulizar.

Solución fisiológica

Cuando en las monografías o capítulos generales se indique *Solución fisiológica* emplear una solución de cloruro de sodio al 0,9 % en agua purificada.

Solución fisiológica estéril - Es una solución de cloruro de sodio al 0,9 % en agua para inyectables que cumple con los requisitos de 370. *Ensayo de Esterilidad*.

Solución fisiológica para nebulizar - Es una solución de cloruro de sodio al 0,90 % en agua purificada preparada sin el agregado de

conservantes, conservada en envases monodosis de hasta 20 ml, con ausencia de gérmenes revivificables en un mililitro y en cuyo rótulo se indica: “*Solución fisiológica para nebulizar. No inyectable*”.

MONOGRAFÍAS

Fórmula Química

Cuando se conoce la composición química de una sustancia oficial, se especifica a título informativo la fórmula molecular y desarrollada, el peso molecular y el número CAS (Chemical Abstracts Service). Esta información se refiere a la sustancia químicamente pura y no se considera un indicador de la pureza del material oficial.

Cuando se especifica la configuración estereoquímica absoluta, se emplean los sistemas de designación propuestos por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) *R/S* y *E/Z*.

El nombre químico será otorgado según las reglas propuestas por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC).

Caracteres Generales

Las afirmaciones comprendidas bajo el subtítulo *Caracteres generales* referidas a términos como

inodoro, prácticamente inodoro, con un débil olor característico o expresiones semejantes, se aplican al examen después de la exposición al aire durante 15 minutos de un envase recientemente abierto del producto (envases que contengan no más de 25 g) o de una porción de aproximadamente 25 g del producto (en caso de envases más grandes) que haya sido trasladada de su envase a un cristizador, con una capacidad de aproximadamente 100 ml. Solo se hará mención a este tipo de características cuando la misma sea un elemento relevante en la descripción del principio activo.

Solubilidad

El término parcialmente soluble se emplea en el caso de una mezcla en la que sólo una parte de sus componentes se disuelve. El término miscible se emplea para describir un líquido que es miscible en todas las proporciones con el solvente indicado.

Las indicaciones de solubilidad que figuran bajo el epígrafe *Caracteres generales* se expresan en términos cuyo significado, referido a una temperatura entre 15 y 30 °C, es el siguiente:

<i>Término descriptivo</i>	<i>Volúmenes aproximados de solvente en mililitros por gramo de sustancia</i>
Muy soluble	Inferior a 1
Fácilmente soluble	De 1 a 10
Soluble	De 10 a 30
Moderadamente soluble	De 30 a 100
Poco soluble	De 100 a 1.000
Muy poco soluble	De 1.000 a 10.000
Prácticamente insoluble	Más de 10.000

Identificación

Los ensayos de la Farmacopea que figuran después del subtítulo *Identificación* no están destinados a proporcionar una confirmación completa de la estructura química o composición del producto; su objeto es confirmar que el producto se ajusta a la descripción dada en el rótulo del envase. Cuando un producto no satisface los requisitos de un ensayo de identificación descripto, indica que el mismo no cumple con las especificaciones. Otros ensayos o especificaciones en la monografía a menudo contribuyen a establecer o confirmar la identidad del producto ensayado.

A menos que se indique lo contrario en la monografía individual, todos los ensayos identificatorios son de carácter obligatorio y por ende, necesarios para demostrar que el producto cumple con la descripción dada en el rótulo.

Ensayos y valoraciones

Los ensayos y las valoraciones descritas en esta Farmacopea constituyen los métodos oficiales de análisis. Se podrá emplear ensayos alternativos, previamente validados (ver 1130. Validación de métodos analíticos), si éstos demuestran otorgar ventajas desde el punto de vista de la exactitud, precisión, sensibilidad, selectividad o simplificar el procedimiento sin modificar los atributos anteriores. Sin embargo, en caso de indecisión o litigio, los ensayos descriptos en esta Farmacopea serán los definitivos.

La concentración de impurezas establecida en ciertos ensayos se expresa entre paréntesis como porcentaje o partes por millón (ppm). En el caso que corresponda, el cumplimiento de este ensayo

será necesario para establecer la conformidad de un producto. Cuando corresponda, deberán realizarse análisis complementarios según se indica más abajo en *Atributos adicionales*.

Los materiales volumétricos, pesas y balanzas deberán ajustarse a las especificaciones establecidas en los capítulos <620>. *Materiales volumétricos y <690>. Pesas y balanzas*.

Cuando en un ensayo o valoración se indique que se debe examinar una cierta cantidad de sustancia o un número exacto de unidades de dosificación, la cantidad especificada representa un número mínimo que se elige únicamente para facilitar la manipulación analítica. Esto de ninguna manera limita la cantidad total de material a emplear.

Procedimientos

En todos los ensayos descritos en esta Farmacopea, se deberá cumplir estrictamente con las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL).

La utilización de las siguientes expresiones se refieren a:

Blanco: cuando se indique que se deben hacer las correcciones necesarias por medio de una determinación con un control, tal determinación se hará empleando las mismas cantidades de los reactivos tratados de igual manera que la solución o mezcla que contiene la sustancia bajo valoración o ensayo, pero omitiendo dicha sustancia.

Baño de agua: cuando se indique el empleo de *baño de agua*, se empleará un baño de agua a ebullición salvo que se indique una temperatura distinta.

Baño de vapor: cuando se indique el empleo de *baño de vapor*, podrá emplearse la exposición al vapor vivo fluente u otra forma de calor regulado, a una temperatura equivalente a la del vapor fluente.

Cepas microbianas: cuando se cita una *cepa microbiana* y se la identifica por el número de catálogo ATCC (American Type Culture Collection) o de otra colección similar, la cepa específica se empleará directamente o, si se subcultiva, se emplearán no más de cinco pasajes a partir de la cepa original.

Comparación de color: cuando se indique una *comparación visual de color o de turbidez*, deberán emplearse tubos de comparación de fondo plano (tubos de Nessler) cuyas medidas internas se correspondan lo más estrechamente posible. Para la comparación del color, los tubos en posición vertical deberán ser observados longitudinalmente a lo largo del tubo con una fuente de luz difusa sobre un fondo blanco, mientras que para la comparación de turbidez deberán ser observados transversalmente, colocados sobre un fondo oscuro,

con ayuda de una fuente luminosa que los ilumine lateralmente.

Cuantitativamente y en etapas: cuando se indique que una solución debe ser diluida cuantitativamente y en etapas, una porción medida con exactitud será disuelta en agua u otro solvente en la proporción indicada en uno o más pasos. La elección del material volumétrico a emplearse deberá tener en cuenta los errores relativamente grandes que generalmente se asocian a materiales volumétricos de volumen pequeño (ver 620. *Materiales volumétricos*).

Densidad relativa: cuando no se indique lo contrario, la densidad relativa se calculará como la relación entre el peso de un volumen determinado de una sustancia en el aire a 25 °C y el peso de un volumen igual de agua a esa misma temperatura.

Desecador: la expresión *en un desecador* especifica el empleo de un recipiente perfectamente cerrado, de tamaño y forma apropiados, que mantenga una atmósfera de bajo contenido de humedad mediante gel de sílice u otro desecante apropiado.

Filtrar: cuando se indique filtrar, sin otra calificación, se entenderá que el líquido debe ser filtrado a través de papel de filtro apropiado o con un medio equivalente de modo que el filtrado sea claro.

Ignición hasta peso constante: significa que deberá continuarse la ignición a 800 ± 25 °C a menos que se indique de otro modo, hasta que dos pesadas consecutivas no difieran en más de 0,50 mg por gramo de sustancia ensayada, haciendo la segunda pesada después de un período de 15 minutos de ignición adicional.

Indicador: cuando una solución de reactivo se utilice como indicador, se agregarán aproximadamente 0,2 ml o 3 gotas de la solución, generalmente cerca del punto final, a menos que se indique de otro modo.

Medidas de presión: el término *mm Hg* empleado en referencia a mediciones de presión se refiere al uso de un manómetro apropiado o un barómetro calibrado en términos de la presión ejercida por una columna de mercurio de la altura indicada.

Pesar y medir exactamente: las expresiones *pesar exactamente alrededor de* o *medir exactamente alrededor de* indican que se debe tomar una cantidad dentro de 100 ± 10 % del peso o volumen especificado. Sin embargo, el peso o volumen que se tome deberá ser determinado con exactitud y el resultado calculado sobre la base de la cantidad que se haya tomado. Se pueden tomar cantidades proporcionalmente mayores o menores que los pesos y volúmenes especificados, tanto para

la *Sustancia de Referencia* como para la sustancia en ensayo, siempre que la medida se tome con exactitud y que se ajusten a los pasos siguientes, para proporcionar concentraciones equivalentes a las descriptas. Expresiones tales como *25,0 ml* y *25,0 mg* se emplean en relación a medidas de volumen o de peso e indican que la cantidad debe ser *medida o pesada exactamente* dentro de los límites establecidos en los capítulos <620>. *Materiales volumétricos* o <690>. *Pesas y balanzas*.

Pipetas: cuando se indique el uso de una pipeta para medir un volumen, aquélla deberá cumplir con los requisitos establecidos en el capítulo <620>. *Materiales volumétricos* y deberá emplearse de manera que el error no exceda el límite establecido para una pipeta del tamaño especificado. Cuando se especifica el empleo de una pipeta, ésta puede sustituirse por una bureta apropiada que cumpla con los requisitos especificados en <620>. *Materiales volumétricos*.

Secado hasta peso constante: significa que deberá continuarse el secado a menos que se indique de otro modo, hasta que dos pesadas consecutivas no difieran en más de 0,50 mg por gramo de sustancia ensayada, haciendo la segunda pesada después de una hora adicional de secado; según la metodología establecida en la monografía correspondiente.

Soluciones: la expresión *1 en 10* significa que 1 parte en volumen de un líquido debe diluirse con, o 1 parte *en peso* de un sólido debe disolverse en suficiente solvente para que el volumen de la solución final sea de 10 partes en *volumen*.

La expresión *10:6:1* significa que los números respectivos de partes, en volumen, de los líquidos señalados deberán mezclarse, a menos que se indique de otro modo.

La expresión partes por millón (ppm) sin otra precisión, se refiere a peso con respecto a un millón de partes en peso.

Solventes: cuando no se menciona explícitamente el solvente, se entiende que la muestra es disuelta en agua.

Temperaturas: todas las temperaturas en esta Farmacopea se expresan en grados centígrados (Celsius) y todas las mediciones se hacen a 25 °C, a menos que se especifique de otro modo.

Tiempo límite: al efectuar ensayos y valoraciones se aguardará 5 minutos para que se produzca la reacción, a menos que se especifique de otro modo.

Vacío: el término *al vacío* especifica la exposición a una presión menor de 20 mm Hg, a menos que se indique de otro modo. Cuando se especifique en la monografía correspondiente la

dsecación al vacío sobre un desecante, se deberá emplear un desecador al vacío, una pistola para desecar al vacío u otro instrumento apropiado para este fin.

ATRIBUTOS ADICIONALES

Además de cumplir los requisitos de los ensayos de Sustancias relacionadas, Pureza cromatográfica y Límite de impurezas, descriptos en las monografías correspondientes, el análisis de las materias primas deberá complementarse mediante la búsqueda de impurezas de síntesis y sustancias relacionadas según su origen.

MÉTODOS GENERALES DE ANÁLISIS

Cada capítulo general es designado por un número de orden seguido del nombre del mismo. Estos capítulos que incluyen los requerimientos generales para ensayos y valoraciones son numerados de 1 a 990 y los capítulos que forman los textos de información general son numerados a partir de 1000.

UNIDADES DE POTENCIA BIOLÓGICA

Para las sustancias que no puedan ser caracterizadas completamente por medios químicos o físicos, podrá ser necesario expresar la actividad en unidades de potencia biológica.

Las unidades de potencia biológica definidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) a través de Estándares Biológicos Internacionales y Preparaciones Biológicas de Referencia Internacionales son denominadas Unidades Internacionales (UI). Las unidades definidas en la *FA* son Unidades Internacionales y las monografías correspondientes se refieren a éstas.

Para los antibióticos cuya potencia se expresa en unidades, éstas son definidas por las correspondientes *Sustancias de referencia SR-FA*. Cada unidad es en general establecida, basada en la definición de la Unidad Internacional de la OMS. Sin embargo, para la mayoría de los antibióticos no son necesarias las unidades biológicas de potencia y su actividad se expresa en unidades métricas (microgramos o miligramos) en función de sustancias químicamente definidas descriptas en las monografías correspondientes.

ELABORACIÓN DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS

La elaboración de productos farmacéuticos deberá realizarse cumpliendo con la normativa

vigente de Buenas prácticas de fabricación, establecidas por la Autoridad Sanitaria y el producto resultante deberá cumplir con los requisitos técnicos establecidos en esta Farmacopea.

CONSERVACIÓN

Envases

Los requisitos farmacopeicos para el empleo de envases se especifican en las monografías correspondientes.

El empleo de las siguientes expresiones descriptas en esta Farmacopea se refieren a:

Envase con cierre inviolable: es aquél provisto de un dispositivo especial que revela inequívocamente si ha sido abierto.

Envase inactínico: es aquél que protege el contenido de los efectos de la luz, gracias a las propiedades específicas de los materiales con que está compuesto.

Envase bien cerrado: es el que evita el ingreso de sólidos extraños y la pérdida del contenido bajo las condiciones usuales de manejo, almacenamiento, distribución y transporte.

Envase de cierre perfecto: es aquél que protege el contenido de la contaminación con sustancias extrañas y evita la entrada de humedad, impidiendo la efervescencia, delicuescencia o evaporación bajo las condiciones usuales de manejo, almacenamiento, transporte, manteniendo su condición de cierre perfecto después de su manipulación.

Envase hermético: es aquel que no permite la entrada de sólidos, líquidos o gases en las condiciones usuales de manejo, almacenamiento, distribución y transporte.

Envase seguro para niños: es aquel que posee un mecanismo tal que dificulta su apertura directa. Dichos envases sólo pueden ser abiertos luego de recibir las instrucciones pertinentes.

Envase monodosis: es aquel que está diseñado para contener una cantidad de sustancia destinada a administrarse en una única dosis, inmediatamente después de abierto.

Envase multidosis: es aquel que permite la extracción de porciones sucesivas del contenido sin cambios en la potencia, calidad o pureza de la porción remanente.

Condiciones de almacenamiento

El almacenamiento de productos debe ser realizado en condiciones adecuadas de temperatura, humedad e iluminación de acuerdo con las instrucciones del fabricante, de manera de no afectar adversamente de forma directa o indirecta,

la calidad de los mismos. Este concepto debe extenderse a la distribución y transporte.

Las sustancias y las preparaciones descriptas deberán almacenarse a temperatura ambiente, a menos que se especifique de otro modo.

El empleo de las siguientes expresiones descriptas en esta Farmacopea se refieren a:

Almacenar en un freezer: corresponde al almacenamiento del producto a una temperatura establecida entre - 25 y - 10 °C.

Almacenar en un sitio frío: corresponde al almacenamiento del producto a una temperatura que no exceda los 8 °C. Una *heladera/refrigerador* es un sitio frío con una temperatura que se mantiene termostáticamente entre 2 y 8 °C.

Almacenar en un sitio fresco: corresponde al almacenamiento del producto a temperatura entre 8 y 15 °C. Las cámaras frías permiten obtener estas condiciones.

Almacenar a temperatura ambiente: corresponde al almacenamiento a temperatura entre 15 y 30 °C. Este concepto está relacionado al almacenamiento en depósitos de laboratorios de especialidades medicinales y distribuidoras.

Almacenar a temperatura ambiente controlada: corresponde al almacenamiento de un producto a temperatura termostáticamente controlada entre 20 y 25 °C.

En algunas monografías pueden indicarse las siguientes expresiones:

“Evitar almacenar en ambientes cálidos” definiendo *cálido* a temperatura entre 30 y 40 °C.

“Evitar el calor excesivo”, definiendo *calor excesivo* a temperatura superior a 40 °C.

“Evitar el congelamiento” en los casos en que el mismo ocasionara la pérdida de potencia o cambio en las características fisicoquímicas de un producto.

Indicaciones generales:

- No deben retirarse los medicamentos de sus envases primario y secundario.
- No deben exponerse los productos al sol ni a las temperaturas extremas.
- Se debe evitar almacenar los medicamentos en ambientes húmedos.
- No deben almacenarse medicamentos en heladera excepto que dicha condición se encuentre indicada en el rótulo, prospecto y/o envase.

ROTULADO

El rótulo de cada producto deberá establecer el contenido del o de los principios activos expresados en las monografías.

Cantidad de principio activo por unidad de dosificación: la potencia de un producto se expresa en el rótulo del envase como microgramos, miligramos, gramos, porcentaje del ingrediente, o unidad internacional terapéuticamente activa presente en la preparación.

Las formas farmacéuticas como cápsulas, comprimidos u otras formas de dosificación deberán rotularse de modo que expresen la cantidad de cada principio activo contenido en cada unidad de dosificación.

En el caso de líquidos de administración oral o sólidos para reconstituir, deberán rotularse en términos, como por ej., *cada 5 mililitros* del líquido o del preparado resultante.

Rotulado de electrolitos: la concentración y dosificación de electrolitos para terapias de reposición deberá especificarse en miliequivalentes-gramo (mEq).

Rotulado del contenido alcohólico: el contenido de alcohol en una preparación líquida deberá especificarse como % v/v de etanol.

Fecha de vencimiento: la fecha de vencimiento identifica el fin del período de vida útil del

producto, durante el cual el mismo deberá cumplir con los requisitos establecidos en la presente Farmacopea, siempre que se conserve en las condiciones de almacenamiento establecidas.

Todos los productos deberán exhibir la fecha de vencimiento en el rótulo y en su envase primario, la cual es asignada a través de estudios de estabilidad realizados para esa formulación en un envase predefinido y autorizado por la Autoridad Sanitaria. Cuando la fecha de vencimiento se indique como Mes/Año, la misma incluye hasta el último día del mes indicado.

UNIDADES DEL SISTEMA INTERNACIONAL (SI) Y EQUIVALENCIA CON OTRAS UNIDADES DE MEDIDA

Los nombres y símbolos empleados en la *Farmacopea Argentina* para las unidades de medición son los del Sistema Internacional de Unidades (SI), establecido por la Conferencia General de Pesas y Medidas. Comprende tres clases de unidades: unidades básicas, unidades derivadas y unidades complementarias.

Cantidad		Unidad	
Nombre	Símbolo	Nombre	Símbolo
Longitud	<i>l</i>	metro	M
Masa	<i>m</i>	kilogramo	Kg
Tiempo	<i>t</i>	segundo	S
Corriente eléctrica	<i>I</i>	amperio	A
Temperatura termodinámica	<i>T</i>	kelvin	K
Cantidad de sustancia	<i>n</i>	mol	Mol
Intensidad luminosa	<i>I_v</i>	candela	Cd

Unidades utilizadas con el SI

Cantidad	Unidad		Valor en unidades SI
	Nombre	Símbolo	
Tiempo	Minuto	<i>min</i>	1 min = 60 s
	Hora	<i>h</i>	1 h = 60 min = 3.600 s
	Día	<i>d</i>	1 d = 24 h = 86.400 s
Ángulo plano	Grado	°	1° = (π/180) rad
Volumen	Litro	<i>l</i>	1 l = 1 dm ³ = 10 ⁻³ m ³
Masa	Tonelada	<i>t</i>	1 t = 10 ³ kg
Frecuencia de giro	revolución por minuto	<i>rpm</i>	1 rpm = (1/60) s ⁻¹

Múltiplos y submúltiplos decimales de las unidades

Factor	Prefijo	Símbolo	Factor	Prefijo	Símbolo
10 ¹⁸	exa	<i>E</i>	10 ⁻¹	deci	<i>d</i>
10 ¹⁵	peta	<i>P</i>	10 ⁻²	centi	<i>c</i>

10^{12}	tera	T	10^{-3}	mili	m
10^9	giga	G	10^{-6}	micro	μ
10^6	mega	M	10^{-9}	nano	n
10^3	kilo	k	10^{-12}	pico	p
10^2	hecto	h	10^{-15}	femto	f
10^1	deca	da	10^{-18}	atto	a

Unidades SI utilizadas en la *Farmacopea Argentina* y su equivalencia con otras unidades

Cantidad		Unidad				Conversión de otras unidades en unidades SI
Nombre	Símbolo	Nombre	Símbolo	Expresión en unidades SI básicas	Expresión en otras unidades SI	
Número de onda	ν	uno por metro	1/m	m^{-1}		
Longitud de onda	λ	micrómetro	μm	10^{-6}m		
		nanómetro	Nm	10^{-9}m		
Frecuencia	ν	hertz	Hz	s^{-1}		
Área	A, S	metro cuadrado	m^2	m^2		
Volumen	V	metro cúbico	m^3	m^3		$1 \text{ ml} = 1 \text{ cm}^3 = 10^{-6}\text{m}^3$
Densidad (concentración de masa)	ρ	kilogramo por metro cúbico	kg/m^3	kg m^{-3}		$1\text{g}/\text{ml}=1\text{g}/\text{cm}^3=10^3\text{kg}/\text{m}^3$
Velocidad	v	metro por segundo	m/s	m s^{-1}		
Fuerza	F	newton	N	m kg s^{-2}		$1 \text{ dina} = 1 \text{ g cm s}^{-2} = 10^{-5}\text{N}$ $1 \text{ kp} = 9,80665 \text{ N}$
Presión	P	pascal	Pa	$\text{m}^{-1} \text{ kg s}^{-2}$	N m^{-2}	$1 \text{ dina}/\text{cm}^2 = 10^{-1}\text{Pa} = 10^{-1} \text{ N m}^{-2}$
						$1 \text{ atm} = 101,325 \text{ Pa} = 101,325 \text{ kPa}$
						$1 \text{ bar} = 105 \text{ kPa} = 0,1 \text{ Mpa}$
						$1 \text{ mmHg} = 133,322387 \text{ Pa}$
						$1 \text{ Torr} = 133,322368 \text{ Pa}$
$1 \text{ psi} = 6,894757 \text{ kPa}$						
Viscosidad absoluta	η	pascal segundo	Pa s	$\text{m}^{-1} \text{ kg s}^{-1}$	N s m^{-2}	$1 \text{ P} = 10^{-1} \text{ Pa s} = 10^{-1} \text{ N s m}^{-2}$ $1 \text{ cP} = 1 \text{ mPa s}$
Viscosidad cinemática	ν	metro cuadrado por segundo	m^2/s	$\text{m}^2 \text{ s}^{-1}$	$\text{Pa s m}^3 \text{ kg}^{-1}$ N m s kg^{-1}	$1 \text{ St} = 1 \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1} = 10^{-4} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$
Energía	W	joule	J	$\text{m}^2 \text{ km s}^{-2}$	N m	$1 \text{ erg} = 1 \text{ cm}^3 \text{ g s}^{-2} = 1 \text{ dina cm} = 10^{-1} \text{ J}$ $1 \text{ cal} = 4,1868 \text{ J}$
Potencia (flujo de radiación)	P	watio	W	$\text{m}^2 \text{ km s}^{-3}$	N m s^{-1} J s^{-1}	$1 \text{ erg}/\text{s} = 1 \text{ dina cm s}^{-1} = 10^{-7} \text{ W} =$ $10^{-7} \text{ N m s}^{-1} = 10^{-7} \text{ J s}^{-1}$
Dosis absorbida (energía radiante)	D	gray	Gy	$\text{m}^2 \text{ s}^{-2}$	J kg^{-1}	$1 \text{ rad} = 10^{-2} \text{ Gy}$
Potencial eléctrico (fuerza electromotriz)	U	volt	V	$\text{m}^2 \text{ kg s}^{-3} \text{ A}^{-1}$	W A^{-1}	
Resistencia eléctrica	R	ohm	Ω	$\text{m}^2 \text{ kg s}^{-3} \text{ A}^{-2}$	V A^{-1}	
Cantidad de electricidad	Q	coulomb	C	A s		
Actividad de un radionucléido	A	becquerel	Bq	s^{-1}		$1 \text{ Ci} = 37 \times 10^9 \text{ Bq} = 37 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$
Concentración molar	M	molaridad	mol/dm^3	10^3 mol m^{-3}		$1 \text{ mol}/\text{l} = 1 \text{ M} = 1 \text{ mol}/\text{dm}^3 = 10^3 \text{ mol m}^{-3}$

MÉTODOS GENERALES DE ANÁLISIS

10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE RESULTADOS DE ENSAYOS BIOLÓGICOS

CONTENIDOS

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Diseño general y precisión

2 ALEATORIZACIÓN E INDEPENDENCIA DE LOS TRATAMIENTOS INDIVIDUALES

3 ENSAYOS QUE DEPENDEN DE RESPUESTAS CUANTITATIVAS

3.1 Modelos estadísticos

- 3.1.1 Principios generales
- 3.1.2 Ensayos de rutina
- 3.1.3 Cálculos y restricciones

3.2 Modelo de líneas paralelas

- 3.2.1 Introducción
- 3.2.2 Diseño del ensayo
 - 3.2.2.1 Diseño completamente aleatorizado
 - 3.2.2.2 Diseño en bloques aleatorizados
 - 3.2.2.3 Diseño cuadrado latino
 - 3.2.2.4 Diseño cruzado
- 3.2.3 Análisis de varianza
- 3.2.4 Criterios de validez
- 3.2.5 Estimación de la potencia y límites de confianza
- 3.2.6 Valores perdidos

3.3 Modelo de relación de pendientes

- 3.3.1 Introducción
- 3.3.2 Diseño del ensayo
- 3.3.3 Análisis de varianza
 - 3.3.3.1 Diseño ($hd + 1$)
 - 3.3.3.2 Diseño (hd)
- 3.3.4 Criterios de validez
- 3.3.5 Estimación de la potencia y límites de confianza
 - 3.3.5.1 Diseño ($hd + 1$)
 - 3.3.5.2 Diseño (hd)

4 ENSAYOS QUE DEPENDEN DE RESPUESTAS CUANTALES

4.1 Introducción

4.2 Método de probitos

- 4.2.1 Tabulación de resultados
- 4.2.2 Criterios de validez

4.2.3 Estimación de la potencia y límites de confianza

4.2.4 Ensayos no válidos

4.3 Método de logitos

4.4 Otras formas de la curva

4.5 Dosis mediana efectiva

5 EJEMPLOS

5.1 Modelo de líneas paralelas

5.1.1 Ensayo múltiple de tres dosis con diseño completamente aleatorizado

5.1.2 Ensayo múltiple de cinco dosis con diseño completamente aleatorizado

5.1.3 Ensayo de dos dosis con diseño de cuadrado latino y sin replicación

5.2 Modelo de relación de pendientes

5.2.1 Ensayo completamente aleatorizado con diseño (1,3,3)

5.2.2 Ensayo completamente aleatorizado con diseño (0,4,4,4)

6 COMBINACIÓN DE RESULTADOS DE ENSAYOS

6.1 Introducción

6.2 Combinación ponderada de resultados de ensayos

6.2.1 Cálculo de los coeficientes de ponderación

6.2.2 Homogeneidad de las estimaciones de potencia

6.2.3 Cálculo de la media ponderada y límites de confianza

6.2.4 Media ponderada y límites de confianza basados en la variación intra e inter ensayo

6.3 Combinación no ponderada de resultados de ensayos

6.4 Ejemplo de potencia media ponderada y límites de confianza de ensayos de líneas paralelas

6.5 Ejemplo de potencia media ponderada y límites de confianza de ensayos de relación de pendientes con igual potencia supuesta

7 TABLA

7.1 Distribución F

7.2 Distribución t

7.3 Distribución χ^2

7.4 Distribución Φ

8 GLOSARIO DE SIMBOLOS

1 INTRODUCCIÓN

Este capítulo proporciona una guía para el diseño de los ensayos biológicos especificados en la Farmacopea Argentina (FA) y para el análisis de sus resultados. Puede ser empleado por personas cuya especialidad no es la estadística pero tienen la responsabilidad del análisis e interpretación de resultados de estos ensayos a menudo sin la ayuda y consejo de un estadístico. Los métodos de cálculo descriptos en el presente capítulo no son obligatorios para analizar los ensayos biológicos que constituyen en sí mismos una parte obligatoria de la FA. Pueden usarse métodos alternativos siempre que no sean menos confiables que los descriptos en este documento. Existe una gran variedad de programas de computación disponibles y pueden ser útiles dependiendo de la disponibilidad y de la habilidad del analista.

Se debería asegurar el asesoramiento de un experto en estadística cuando: la investigación o desarrollo de nuevos productos requiera un adecuado diseño y un análisis estadístico específico; cuando se requiera analizar amplias curvas dosis-respuesta no lineales, por ejemplo en inmunoensayos; o cuando no se puedan cumplimentar las restricciones impuestas al diseño en este capítulo, por ejemplo igual número de dosis igualmente espaciadas.

1.1 Diseño general y precisión

Se describen métodos biológicos para la valoración de ciertas sustancias y preparaciones cuya potencia no puede determinarse adecuadamente mediante análisis químicos o físicos. El principio aplicado, siempre que sea posible a lo largo de estos ensayos, es el de comparación con una preparación estándar de forma que se determina qué cantidad de la sustancia, que se va a examinar, produce el mismo efecto biológico que una cantidad dada, la *Unidad*, de la preparación estándar. Es una condición esencial de dichos métodos biológicos, que los ensayos sobre la preparación estándar y sobre la sustancia a examinar se realicen al mismo tiempo y bajo condiciones tan idénticas como sea posible. Para algunos ensayos (por ejemplo determinación de título de un virus) la potencia de la muestra no se expresa relativa a un estándar.

Cualquier estimación de potencia obtenida a partir de un ensayo biológico está sometida a un error aleatorio debido a la variabilidad inherente de las respuestas biológicas y los cálculos de errores deben realizarse, si es posible, a partir de los resultados de cada ensayo incluso cuando se usa el método oficial. Por lo tanto, a continuación se describen métodos para el diseño de ensayos y el cálculo de sus errores. En cualquier caso antes de adoptar un método estadístico deben realizarse ensayos preliminares, en cantidad suficiente, para descubrir la aplicabilidad de este método. El intervalo de confianza para potencias dadas es una indicación de la precisión con la cual la potencia ha sido estimada en el ensayo. Se calcula teniendo en cuenta el diseño experimental y el tamaño de la muestra. En ensayos biológicos normalmente se escogen límites de confianza del 95 por ciento. Se usan métodos matemáticos para calcular estos límites de forma que se justifique la expectativa de que hay una probabilidad (confianza) del 95 por ciento de que estos límites incluyan la verdadera potencia.

Los límites de confianza de la potencia constituyen un indicador de la precisión con la que se ha calculado la potencia en el ensayo, que esta precisión sea aceptable para la FA depende de los requisitos establecidos en la monografía de la preparación.

Los términos “*media*” y “*desviación estándar*” se usan en este documento según se definen en los libros de texto de estadística actuales.

Los términos “*potencia declarada*”, “*potencia asignada*”, “*potencia asumida*”, “*relación de potencias*” y “*potencia estimada*” se usan en esta sección para indicar los siguientes conceptos:

- *potencia declarada*: en el caso de un producto formulado es un valor nominal asignado a partir del conocimiento de la potencia de la materia prima; en el caso de una materia prima es la potencia estimada por el fabricante.

- *potencia asignada*: es la potencia de una preparación estándar.

- *potencia asumida*: es la potencia de la preparación que se va a examinar y que forma la base del cálculo de las dosis que podrían ser equipotentes con las dosis que se van a usar de la preparación estándar.

- *relación de potencias de una preparación desconocida*: es la relación de dosis equipotentes de la preparación estándar y de la preparación desconocida bajo las condiciones del ensayo.

- *potencia estimada*: es la potencia calculada a partir de los datos del ensayo.

La *Sección 8. Glosario de símbolos* es una tabla de los usos más importantes de símbolos a lo largo de este capítulo. Cuando el texto hace referencia a símbolos no mostrados en esta sección o usa un símbolo para designar un concepto diferente, éste se define en esa parte del texto.

2 ALEATORIZACIÓN E INDEPENDENCIA DE LOS TRATAMIENTOS INDIVIDUALES

La asignación de los distintos tratamientos a diferentes unidades experimentales (animales, tubos, etc.) debe realizarse mediante algunos procesos estrictamente aleatorios. Cualquier otra elección de condiciones experimentales que no haya sido permitida deliberadamente en el diseño experimental también debe hacerse al azar. Son ejemplos la elección de las posiciones de las jaulas en un laboratorio y el orden en el que se administran los tratamientos. En particular, un grupo de animales que recibe la misma dosis de cualquier preparación no debe tratarse conjuntamente (al mismo tiempo o en la misma posición) a menos que haya una fuerte evidencia de que la fuente relevante de variación (por ejemplo, entre tiempos o entre posiciones) es despreciable. Pueden realizarse asignaciones aleatorias a partir de tablas estándar de números aleatorios de muestreo que normalmente van acompañados de instrucciones de uso. Cualquiera que sea el método empleado, el analista debe tener cuidado de usar series diferentes de números aleatorios para los diferentes ensayos.

Las preparaciones asignadas a cada unidad experimental deberían ser tan independientes como sea posible. Dentro de cada grupo experimental, las diluciones realizadas para las dosis asignadas a cada tratamiento no deben ser simplemente divisiones de la misma dosis sino que deben prepararse individualmente. Sin esta precaución indispensable, la variabilidad inherente a la preparación no estará completamente representada en la varianza del error experimental. El resultado será una subestimación del error residual que conduce a:

1) un aumento no justificado en la rigurosidad de las pruebas para el análisis de varianza (ver en la *Sección 3: Análisis de varianza y Criterios de validez*).

2) una subestimación de los límites de confianza verdaderos del ensayo, los cuales, como se muestra en la *Sección 3: Estimación de la potencia y límites de confianza*, se calculan a partir de la estimación de s^2 del cuadrado medio del error residual.

3 ENSAYOS QUE DEPENDEN DE RESPUESTAS CUANTITATIVAS

3.1 Modelos Estadísticos

3.1.1 Principios generales

Los ensayos biológicos incluidos en la FA se han concebido como “ensayos de dilución”, lo que significa que se supone que la preparación desconocida a ensayar contiene el mismo principio activo que la preparación estándar pero en una proporción diferente de componentes activos e inertes. En tal caso la preparación desconocida puede obtenerse, en teoría, a partir de la preparación estándar por dilución con componentes inertes.

Para comprobar si un ensayo en particular se comporta como un ensayo de dilución es necesario comparar la relación dosis-respuesta de estándar y desconocido. Si la relación difiere significativamente el ensayo es “no válido”. Diferencias significativas en la relación dosis-respuesta de estándar y desconocido puede significar que una de las preparaciones contiene, además del principio activo, otro componente no inerte que puede influenciar la respuesta. Para hacer evidente el efecto de dilución, en el modelo teórico, es útil transformar la relación dosis-respuesta en una función lineal en el rango más amplio de dosis posible.

Para los ensayos biológicos descritos, son de interés dos modelos estadísticos: el *modelo de líneas paralelas* y el *modelo de relación de pendientes*.

La aplicación de uno u otro depende del cumplimiento de las siguientes condiciones:

- 1) los diferentes tratamientos se han asignado al azar a las unidades experimentales;
- 2) las respuestas a cada tratamiento se distribuyen normalmente;
- 3) la desviación estándar de las respuestas dentro de cada grupo de tratamiento, para la preparación estándar y desconocido, no difiere significativamente una de otra.

Cuando un ensayo está en etapa de desarrollo el analista tiene que cerciorarse que los datos recolectados de muchos ensayos satisfacen estas condiciones teóricas.

- La condición 1 puede cumplirse usando eficazmente la *Sección 2*.

- La condición 2 es una condición que casi siempre se cumple en la práctica. Desviaciones pequeñas de esta suposición no introducen diferencias serias en el análisis siempre y cuando se incluyan varias réplicas por tratamientos. Cuando se sospechen desviaciones de la distribución normal en una serie de muestras pequeñas puede usarse la *Prueba de Shapiro - Wilk para normalidad de distribución*. Wilk, M.B. y Shapiro, S.S. (1968). The joint assessment of normality of several independent samples, *Technometrics* 10,825-839.

- La condición 3 puede ser probada con un ensayo para homogeneidad de la varianza (*prueba de Bartlett, prueba de Cochran*) Bartlett, M.S(1937). Properties of sufficiency and statistical tests, *Proc. Roy. Soc. London, Series A* 160, 280-282. Cochran, W.G (1951). Testing a linear relation among variances, *Biometrics* 7, 17-32.

Cuando el analista sospecha que no se cumplen las condiciones 2 y/o 3, una transformación de la respuesta “y” a $\ln y$, o a \sqrt{y} o a y^2 puede conducir a un mejor cumplimiento de estas condiciones. Deberán consultarse libros de texto de estadística para otras transformaciones.

- La transformación logarítmica de “y” en $\ln y$ puede ser útil cuando la homogeneidad de varianzas no es satisfactoria. También puede mejorar la normalidad si la distribución tiene asimetría a la derecha.
- La transformación de “y” en \sqrt{y} es útil cuando las observaciones siguen una distribución Poisson, es decir cuando se obtienen por conteo.
- La transformación de “y” en y^2 puede ser útil si, por ejemplo, la dosis parece ser más proporcional al área de una zona de inhibición que a la medida del diámetro de esa zona.

El analista debe decidir sobre el tipo de transformación adecuada para cada tipo de ensayo biológico cuando éste se está poniendo a punto en su laboratorio. Cuando las condiciones 2 y/o 3 parecen no cumplirse durante un ensayo rutinario de este tipo, el analista no debe adoptar otra transformación a menos que esté convencido de que este incumplimiento de los requisitos no es casual, sino que es debido a un cambio sistemático de las condiciones experimentales, en este caso debe repetirse el ensayo preliminar antes de adoptar una nueva transformación para los ensayos rutinarios.

Una categoría distinta la forman los ensayos en los que no puede medirse la respuesta en cada una de las unidades experimentales, sino que solamente puede contarse la fracción de unidades que responden a cada tratamiento. Esta categoría se trata en la *Sección 4*.

3.1.2 Ensayos de rutina

Cuando los ensayos se hacen de forma rutinaria, es raro que se cumplan de forma sistemática las condiciones 1 a 3 debido a que el número limitado de observaciones por ensayo probablemente tenga influencia en la sensibilidad del análisis estadístico. Afortunadamente, los estadísticos han demostrado que, en ensayos balanceados simétricamente, las desviaciones pequeñas en la homogeneidad de varianza y en la normalidad no afectan de forma grave los resultados del ensayo. La aplicación de los modelos estadísticos sólo necesita cuestionarse si una serie de ensayos muestran una validez dudosa, entonces puede ser necesario realizar nuevas series de investigaciones preliminares como se discute en la *Sección 3: Principios generales*.

Otras dos condiciones necesarias dependen del modelo estadístico a usar:

A - Para modelo de líneas paralelas (ver *Figura 3.2.1.-I*)

4A - La relación entre el logaritmo de la dosis y la respuesta puede representarse por una línea recta en el intervalo de dosis usadas.

5A - Para cualquier preparación desconocida en el ensayo, la línea recta es paralela a la del estándar.

B - Para modelo de relación de pendientes (ver *Figura 3.3.1.-I*)

4B - La relación entre la dosis y la respuesta puede representarse por una línea recta, para cada preparación, en el intervalo de dosis usadas.

5B - Para cualquier preparación desconocida en el ensayo la línea recta interseca, al eje y, a la dosis cero en el mismo punto que la línea recta de la preparación estándar (es decir, la función respuesta, de todas las preparaciones analizadas en el ensayo, tienen que tener el mismo punto de intersección, en el eje y, que la función respuesta del estándar).

Las condiciones 4A y 4B sólo se pueden verificar en los ensayos en los que se hayan analizado al menos tres diluciones de cada preparación. El empleo de un ensayo con menos diluciones puede estar justificado cuando la experiencia haya demostrado que la linealidad y el paralelismo o igual intersección se cumplen regularmente.

Después de recolectar los datos y antes de calcular la potencia relativa de cada preparación se debe realizar un análisis de varianza con la finalidad de comprobar el cumplimiento de las condiciones 4A y 5A o 4B y 5B. Para esto, el total de las sumas de cuadrados se subdivide en cierto número de sumas de cuadrados correspondientes a cada una de las condiciones que se deben cumplir. La suma de cuadrados remanente representa el error experimental residual con la cual la ausencia o existencia de fuente de variación relevante se pueden comparar mediante una serie de valores de razones *F*.

Cuando se ha establecido la validez, la potencia de cada preparación desconocida con respecto al estándar puede calcularse y expresarse como una relación de potencias o convertirse en alguna unidad relevante en la preparación bajo ensayo, por ejemplo, una unidad internacional. También pueden estimarse los límites de confianza a partir de cada serie de datos del ensayo.

Si no se cumple alguna de las cinco condiciones (1, 2, 3, 4A y 5A o 1, 2, 3, 4B y 5B) los métodos de cálculo descriptos aquí no son válidos y debe realizarse un estudio especial del diseño del ensayo.

El analista no debería adoptar otra transformación a menos que haya evidenciado que el no cumplimiento de los requisitos no es accidental sino debido a un cambio o variación sistemática de las condiciones experimentales. En este caso se debe repetir el ensayo descrito en la *Sección 3.3.1* antes de adoptar una nueva transformación en los ensayos de rutina.

En ensayos de rutina desarrollados para comparar preparaciones similares un número excesivo de ensayos no válidos, debido a ausencia de paralelismo o de linealidad, denota probablemente diseños con replicaciones inadecuadas. Normalmente esta falta de adecuación se debe a un reconocimiento incompleto de todas las fuentes de variabilidad que afectan al ensayo, lo cual puede producir una subestimación del error residual que conduciría a razones F grandes.

No siempre es posible tener en cuenta la totalidad de las posibles fuentes de variación dentro de un ensayo simple (por ejemplo, variaciones día a día). En un caso así, los intervalos de confianza de ensayos repetidos sobre la misma muestra pueden no superponerse satisfactoriamente y se debe poner especial cuidado en la interpretación de los intervalos de confianza individuales. Para obtener una estimación más confiable del intervalo de confianza puede ser necesario desarrollar varios ensayos independientes y combinar éstos en una única potencia estimada y un intervalo de confianza (ver *Sección 6*).

Con la finalidad de controlar la calidad de los ensayos de rutina es recomendable guardar copia de los valores estimados de la pendiente de regresión y del valor estimado del error residual en las cartas control.

- Un error residual excepcionalmente alto puede indicar algún problema de tipo técnico. Éste debería ser investigado, y si se puede evidenciar algún error analítico en el ensayo, debería ser repetido. Un error residual inusualmente alto puede indicar la presencia de un valor atípico ocasional o de una observación aberrante. Se rechaza una respuesta que es cuestionable debido a una falla en el cumplimiento del procedimiento durante el desarrollo del ensayo. Si se descubre un valor aberrante después de que las respuestas ya han sido registradas, que puede ser adjudicable a irregularidades del ensayo, su omisión puede estar justificada. La exclusión arbitraria o el mantenimiento de una respuesta aparentemente atípica puede ser una fuente grave de sesgo. En general el rechazo de observaciones solamente porque un ensayo para “valores atípicos” sea significativo, es desaconsejable.

- Un error residual excepcionalmente bajo puede ocurrir alguna vez y ser causa de que los valores de la razón F excedan los valores críticos. En tal caso puede estar justificado reemplazar el error residual estimado, a partir del ensayo individual, por un error residual medio obtenido de datos históricos registrados en las cartas control.

3.1.3 Cálculos y restricciones

Conforme a los principios generales de buen diseño, se imponen normalmente las tres siguientes restricciones en el diseño del ensayo. Éstas presentan ventajas tanto para facilitar el cómputo como para mejorar la precisión.

a) cada preparación en el ensayo debe ser contrastada con el mismo número de dosis.

b) en el modelo de líneas paralelas, el cociente entre las dosis adyacentes debe ser constante para todos los tratamientos en el ensayo (progresión geométrica); en el modelo de relación de pendientes, el intervalo entre dosis adyacentes debe ser constante para todos los tratamientos en el ensayo (progresión aritmética).

c) debe haber un número igual de unidades experimentales para cada tratamiento.

Si se utiliza un diseño que cumple estas restricciones los cálculos son sencillos. Las fórmulas se encuentran en las *Secciones 3.2* y *3.3*. Se recomienda el uso de aplicaciones informáticas (software) que hayan sido desarrolladas para esta finalidad particular. Existen varios programas que pueden fácilmente manejar todos estos diseños de ensayo descritos en las monografías correspondientes. No todos los programas emplean las mismas fórmulas y algoritmos, pero deben llevarnos a los mismos resultados.

Los diseños de ensayo que no cumplan las restricciones señaladas arriba pueden ser igualmente posibles y correctos, pero las fórmulas que precisan son demasiado complicadas para ser descriptas en este texto.

Las formulas para los diseños restringidos dadas en el texto pueden ser empleadas por ejemplo para crear programas *ad hoc* en una planilla de cálculos. Se pueden emplear los ejemplos de la *Sección 5* para comprobar si tales programas dan resultados correctos.

3.2 Modelo de líneas paralelas

3.2.1 Introducción

En la *Figura 3.2.1.-I* se representa el modelo de líneas paralelas. El logaritmo de las dosis se representa en el eje de abscisas y las respuestas en el eje de ordenadas. Las respuestas individuales a cada tratamiento se señalan con puntos negros. Las dos líneas son las relaciones calculadas $\ln(\text{dosis})$ -respuesta para el estándar y para la preparación desconocida.

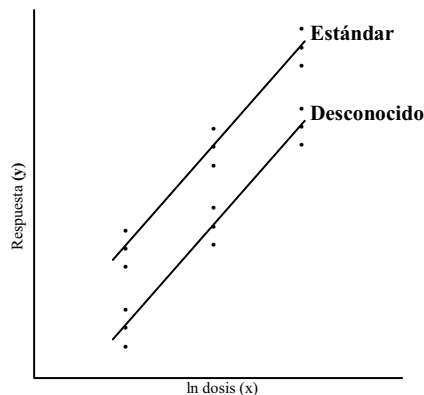


Figura 3.2.1.-I.-Modelo de líneas paralelas para un ensayo 3 + 3.

[NOTA: a lo largo del texto se utilizará el logaritmo neperiano (\ln). Donde aparezca el término “antilogaritmo” significa la e^x . Sin embargo, los Briggs o logaritmos “comunes” (\log o \log_{10}) pueden ser igualmente empleados. En este caso el antilogaritmo correspondiente es 10^x].

Para que un ensayo sea satisfactorio la potencia asumida de la preparación desconocida debe estar próxima a la verdadera potencia. Sobre el supuesto de esta potencia asumida y la potencia asignada del estándar se preparan dosis equipotentes (si es posible), esto es, que las dosis correspondientes del estándar y del desconocido se espera que den la misma respuesta. Si no se dispone de información sobre la potencia asumida, se realizan ensayos preliminares sobre un amplio rango de dosis para determinar el intervalo en el que la curva es lineal.

Cuanto más próxima esté la potencia estimada de una preparación desconocida a la potencia asumida tanto más próximas estarán las dos rectas, para lo cual deberán dar igual respuesta a igual dosis. La distancia horizontal entre las líneas representa la exactitud de la potencia estimada con respecto a la potencia asumida. A mayor distancia entre las dos líneas habrá menor exactitud en la asignación de la potencia asumida. Si la línea correspondiente a la preparación desconocida está situada a la derecha de la línea del estándar, la potencia asumida estará sobrestimada y los cálculos indicarán una potencia estimada inferior a la potencia asumida. De la misma manera, si la línea de la preparación desconocida está situada a la izquierda de la línea del estándar, la potencia asumida estará subestimada y los cálculos indicarán una potencia estimada superior a la potencia asumida.

3.2.2 *Diseño del ensayo*

Las siguientes consideraciones serán de utilidad para la optimización de la precisión del diseño del ensayo.

- 1) El cociente entre la pendiente y el error residual deberá ser tan grande como sea posible.
- 2) El intervalo de dosis deberá ser tan grande como sea posible.
- 3) Las líneas deberán estar tan estrechamente próximas como sea posible, es decir la potencia asumida debe ser una buena estimación de la verdadera potencia.

La distribución de las unidades experimentales (animales, tubos de ensayo, etc.) a los diferentes tratamientos puede hacerse de varias formas.

3.2.2.1 *Diseño completamente aleatorizado*

Si la totalidad de las unidades experimentales (animales, tubos, etc.) parece ser razonablemente homogénea sin indicación alguna de que la variabilidad de la respuesta sea menor dentro de ciertos subgrupos reconocibles, la asignación de las unidades a los diferentes tratamientos debe hacerse aleatoriamente, por ejemplo, mediante el uso de una tabla de permutaciones aleatorias.

Si es probable que las unidades en subgrupos, tales como las posiciones físicas o los días experimentales, sean más homogéneas que la totalidad de las unidades la precisión del ensayo puede aumentarse mediante la introducción de una o más restricciones en el diseño. Una cuidadosa distribución de las unidades, a partir de las restricciones, permite eliminar fuentes irrelevantes de variación.

3.2.2.2 Diseño en bloques aleatorizados

En este diseño es posible segregar una fuente identificable de variación tal como, la variación de sensibilidad entre camadas de animales experimentales o la variación entre placas de Petri en un ensayo microbiológico por difusión. El diseño requiere que todos los tratamientos se apliquen el mismo número de veces en cada bloque (camada o placa de Petri) y es adecuado solamente cuando el bloque es lo suficientemente grande como para aplicar todos los tratamientos.

Se proporcionan las fórmulas para un diseño en bloques aleatorios en este capítulo y en 770. *Valoraciones microbiológicas de antibióticos*.

3.2.2.3 Diseño en cuadrado latino

Este diseño es apropiado cuando la respuesta puede verse afectada por dos fuentes diferentes de variación, cada una de las cuales puede asumir k niveles o posiciones diferentes. Por ejemplo, en una prueba en placa de un antibiótico, los tratamientos pueden disponerse en una serie $k \times k$ sobre una placa grande, realizándose cada tratamiento una vez en cada fila y en cada columna. El diseño es adecuado cuando el número de filas, el número de columnas y el número de tratamientos son iguales.

Las respuestas se registran en un formato cuadrado conocido como cuadrado latino. Las variaciones debidas a las diferencias de las respuestas entre las k filas y las k columnas pueden separarse, reduciendo por tanto el error. *Ejemplo 5-1-3*.

Cualquiera que sea el diseño usado, la asignación de unidades experimentales a los bloques debe hacerse aleatoriamente y las unidades deben mantenerse bajo condiciones uniformes tanto antes como durante el experimento.

3.2.2.4 Diseño cruzado

Este diseño es útil cuando el experimento puede subdividirse en bloques, pero es posible aplicar solamente dos tratamientos a cada bloque, por ejemplo, un bloque puede ser una sola unidad que puede probarse en dos ocasiones. El diseño pretende aumentar la precisión eliminando los efectos de las diferencias entre las unidades mientras que se equilibra el efecto de cualquier diferencia entre los niveles generales de respuesta en las dos etapas del ensayo.

Si se prueban dos dosis de un estándar y de una preparación desconocida esto se conoce como un diseño cruzado doble, mientras que un diseño que incorpora tres dosis de cada preparación es un diseño cruzado triple.

El experimento se divide en dos partes separadas por un intervalo de tiempo adecuado. Las unidades se dividen en cuatro (o seis) grupos y cada grupo recibe uno de los cuatro (o seis) tratamientos en la primera parte de la prueba. Las unidades que reciben una preparación en la primera parte de la prueba reciben la otra preparación en la segunda parte y las unidades que reciben dosis bajas en una parte de la prueba reciben dosis altas en la otra. La disposición de las dosis se muestra en la *Tabla 3.2.2.4.-I*.

Tabla 3.2.2.4. I - Disposición de dosis en un diseño cruzado

<i>Grupo de unidades</i>	<i>Cruzado doble</i>		<i>Cruzado triple</i>	
	<i>Tiempo I</i>	<i>Tiempo II</i>	<i>Tiempo I</i>	<i>Tiempo II</i>
1	S_1	T_2	S_1	T_3
2	S_2	T_1	S_2	T_2
3	T_1	S_2	S_3	T_1
4	T_2	S_1	T_1	S_3
5	-	-	T_2	S_2
6	-	-	T_3	S_1

Ver ejemplo en *Statistical Methods in Biological Assay*; B. J. Finney 2da ed. 1964, pag. 265 a 299.

3.2.3 Análisis de varianza

Esta sección proporciona las fórmulas necesarias para llevar a cabo el análisis de varianza y serán comprendidas más fácilmente haciendo referencia a los ejemplos realizados en la *Sección 5.1*. También debe hacerse referencia al glosario de símbolos (*Sección 8*).

Las fórmulas son apropiadas para análisis simétricos en los que una o más preparaciones (T , U , etc.) que van a ser examinadas, se comparan con una preparación estándar (S). Se enfatiza que las fórmulas sólo pueden emplearse si las dosis están igualmente espaciadas, si se aplican igual número de tratamientos por preparación y si

cada tratamiento es aplicado un número igual de veces. No debe procederse al empleo de las fórmulas en cualquier otra situación.

Aparte de algunos ajustes del término debido al error el análisis básico de datos procedentes de un ensayo es el mismo para diseños completamente aleatorizados, en bloque aleatorizado y en cuadrado latino. Las fórmulas para ensayos cruzados, no se ajustan enteramente a este esquema.

Habiendo considerado los puntos discutidos en la *Sección 3.1* y habiendo transformado las respuestas, si fuera necesario, debe hacerse la media de los valores para cada tratamiento y cada preparación como se muestra en la *Tabla 3.2.3.-I*. También deben calcularse los contrastes lineales los cuales se relacionan con las pendientes de las líneas (ln dosis-respuesta). En la *Tabla 3.2.3.-II* se muestran tres fórmulas adicionales que son necesarias para la realización del análisis de varianza.

Tabla 3.2.3.-I. Fórmulas aplicables al modelo de líneas paralelas con d dosis de cada preparación

	<i>Estándar</i>	<i>Preparación 1 (T)</i>	<i>Preparación 2 (U, etc.)</i>
<i>Respuesta media de la dosis menor</i>	S_1	T_1	U_1
<i>Respuesta media de la segunda dosis</i>	S_2	T_2	U_2
...
<i>Respuesta media de la dosis mayor</i>	S_d	T_d	U_d
<i>Total de la preparación</i>	$P_S = S_1 + S_2 + \dots + S_d$	$P_T = T_1 + T_2 + \dots + T_d$	$P_U = U_1 + U_2 + \dots + U_d$
<i>Contraste lineal</i>	$L_S = 1S_1 + 2S_2 + \dots + dS_d - \frac{1}{2}(d+1)P_S$	$L_T = 1T_1 + 2T_2 + \dots + dT_d - \frac{1}{2}(d+1)P_T$	$L_U = 1U_1 + 2U_2 + \dots + dU_d - \frac{1}{2}(d+1)P_U$

Tabla 3.2.3.-II. Fórmulas adicionales para la construcción del análisis de la varianza.

$H_P = \frac{n}{d}$	$H_L = \frac{12n}{d^3 - d}$	$K = \frac{n(P_S + P_T + \dots)^2}{hd}$
---------------------	-----------------------------	---

Tabla 3.2.3.-III. Fórmulas para el cálculo de Suma de Cuadrados y Grados de libertad.

<i>Fuentes de Variación</i>	<i>Grados de Libertad (gl)</i>	<i>Suma de Cuadrados (SC)</i>
<i>Preparaciones</i>	$h - 1$	$SC_{prep} = H_P(P_S^2 + P_T^2 + \dots) - K$
<i>Regresión lineal</i>	1	$SC_{reg} = \frac{1}{h} H_L(L_S + L_T + \dots)^2$
<i>Desviación del paralelismo</i>	$h - 1$	$SC_{par} = H_L(L_S^2 + L_T^2 + \dots) - SC_{reg}$
<i>Desviación de la linealidad</i>	$h(d - 2)$	$SC_{lin} = SC_{trat} - SC_{prep} - SC_{reg} - SC_{par}$
<i>Tratamientos</i>	$hd - 1$	$SC_{trat} = n(S_1^2 + \dots + S_d^2 + T_1^2 + \dots + T_d^2 + \dots) - K$

^(*) No se calcula para ensayos con dos dosis.

Tabla 3.2.3.-IV. Estimación del Error Residual

<i>Fuentes de Variación</i>	<i>Grados de Libertad (gl)</i>	<i>Suma de Cuadrados (SC)</i>
<i>Bloques (Filas)</i> ^(*)	$n - 1$	$SC_{bloques} = hd(R_1^2 + \dots + R_n^2) - K$
<i>Columnas</i> ^(**)	$n - 1$	$SC_{col} = hd(C_1^2 + \dots + C_n^2) - K$
<i>Error Residual</i> ^(***)	<i>Completamente Aleatorizado</i>	$SC_{res} = SC_{total} - SC_{trat}$
	<i>Aleatorizado en bloques</i>	$SC_{res} = SC_{total} - SC_{trat} - SC_{bloques}$
	<i>Cuadrado latino</i>	$SC_{res} = SC_{total} - SC_{trat} - SC_{bloques} - SC_{col}$
<i>Total</i>	$nhd - 1$	$SC_{total} = \sum (y - \bar{y})^2$

(*) No se calcula para el diseño completamente aleatorizado.

(**) Sólo se calcula para el diseño Cuadrado Latino.

(***) Depende del tipo de diseño.

La variación total de la respuesta causada por los diferentes tratamientos se subdivide ahora, como se muestra en la *Tabla 3.2.3.-III*, en las sumas de cuadrados obtenidos a partir de los valores de las *Tablas 3.2.3.-I* y *3.2.3.-II*. La suma de cuadrados debida a la no linealidad se puede calcular únicamente si se incluyen por lo menos tres dosis por preparación en el ensayo.

El error residual del ensayo se obtiene restando las variaciones de las fuentes de variación, permitidas para el diseño, de la variación total de la respuesta (*Tabla 3.2.3.-IV*). En esta tabla \bar{y} representa la media de todas las respuestas registradas en el ensayo. Se ha de hacer notar que para el cuadrado latino el número de respuestas replicadas (n) es igual al número de filas, columnas o tratamientos (dh).

$$CM_{\text{fte.de variación}} = \frac{SC_{\text{fte.de variación}}}{gl_{\text{fte.de variación}}}$$

El análisis de varianza se completa ahora como sigue. Cada suma de cuadrados se divide por el correspondiente número de grados de libertad para dar los cuadrados medios (CM).

El F calculado es el cociente entre el cuadrado medio de cada fuente de variación y el cuadrado medio del error residual (s^2). La significación de esos valores (conocida como razón F) se evalúa mediante el empleo de la *Tabla 7.1*.

$$F_{\text{calculado}} = \frac{CM_{\text{fte.de variación}}}{CM_{\text{error}}}$$

3.2.4 Criterios de validez

Se dice que los resultados de un ensayo son “estadísticamente válidos” si el resultado del análisis de varianza es el siguiente:

- 1) El término regresión lineal es **significativo**, es decir, la probabilidad calculada es inferior a 0.01 ($p < 0,01$). Si este criterio no se cumple, se debe considerar que el ensayo es **no válido**.
- 2) El término de no paralelismo es **no significativo**, es decir, la probabilidad calculada no es inferior a 0,05 ($p > 0,05$). Esto indica que se satisface la condición 5A, *Sección 3.1*.
- 3) El término de no-linealidad es **no significativo**, es decir, la probabilidad calculada no es inferior a 0,05 ($p > 0,05$). Esto indica que se satisface la condición 4A, *Sección 3.1*.

Una desviación significativa del paralelismo en un ensayo múltiple (varias preparaciones simultáneamente) puede ser debida a la inclusión en el diseño del ensayo de una preparación a examinar que da una línea ln dosis-respuesta con una pendiente diferente de la de las otras preparaciones. En lugar de declarar no válido la totalidad del ensayo se puede decidir la eliminación de todos los datos relativos a esa preparación y retomar el análisis desde el inicio.

Cuando se establece la validez estadística, las potencias y los límites de confianza se pueden estimar por los métodos descriptos en la sección siguiente.

3.2.5. Estimación de la Potencia y Límites de Confianza

I es el ln del cociente entre dosis adyacentes de cualquier preparación, se obtiene a partir de:

$$I = \ln \frac{(\text{dosis } 2)}{(\text{dosis } 1)} = \ln \text{dosis } 2 - \ln \text{dosis } 1 \quad (3.2.5.-1)$$

La pendiente común b , para ensayos con d dosis de cada preparación, se obtiene a partir de la fórmula

$$b = \frac{H_L(L_S + L_T + \dots)}{I n h} \quad (3.2.5.-2)$$

El logaritmo de la relación de potencia de una preparación desconocida, por ejemplo T , es M'_T

$$M'_T = \frac{P_T - P_s}{d b} \quad (3.2.5.-3)$$

La potencia estimada es una estimación puntual de la verdadera potencia y los límites de confianza pueden calcularse por la fórmula (3.2.5.-4)

$$\begin{matrix} M'_T \text{ sup} \\ M'_T \text{ inf} \end{matrix} = CM'_T \pm \sqrt{(C-1)(CM'^2_T + 2V)} \quad (3.2.5.-4)$$

Donde

$$C = \frac{SC_{reg}}{SC_{reg} - s^2 t^2} \quad (3.2.5.-5)$$

$$V = \frac{SC_{reg}}{b^2 d n} \quad (3.2.5.-6)$$

Los valores de t se obtienen a partir de la *Tabla 8.2* para $p = 0,05$ y grados de libertad igual a los del error residual.

La potencia estimada y los límites de confianza, asociados a ella, se calculan multiplicando los *antilogaritmos* de M'_T ; $M'_T \text{ superior}$ y $M'_T \text{ inferior}$ por la potencia supuesta A_T .

$$\text{Potencia estimada} = R_T = \text{antilog } M'_T \times A_T \quad (3.2.5.-7)$$

$$\text{Límite de confianza superior} = R_T \text{ sup} = \text{antilog } M'_T \text{ sup} \times A_T \quad (3.2.5.-8)$$

$$\text{Límite de confianza inferior} = R_T \text{ inf} = \text{antilog } M'_T \text{ inf} \times A_T \quad (3.2.5.-9)$$

Si las soluciones existentes no son equipotentes en base a potencias asumida y asignada es necesario un factor de corrección.

3.2.6 Valores perdidos

En un ensayo equilibrado, un accidente sin ninguna relación con los tratamientos aplicados puede llevar a la pérdida de una o más respuestas, por ejemplo debido a la muerte de un animal. Si se considera que el accidente no está relacionado de ninguna manera con la composición de la preparación administrada, los cálculos exactos pueden aún realizarse pero las fórmulas son necesariamente más complicadas y solamente se pueden dar dentro del marco de trabajo de los modelos lineales generales. No obstante, existe un método aproximado que mantiene la simplicidad del diseño equilibrado sustituyendo la respuesta perdida por un valor calculado. La pérdida de información se tiene en cuenta disminuyendo los grados de libertad de la suma total de cuadrados y para el error residual en una unidad y empleando una de las fórmulas proporcionadas más adelante para el valor perdido. Se debe tener en mente que éste es sólo un método aproximado y que debe ser preferido el método exacto.

Si se pierde más de una información se puede emplear la misma fórmula. El procedimiento consiste en hacer una estimación grosera para todos los valores perdidos excepto uno y emplear la propia fórmula apropiada para éste, empleando todos los valores restantes incluidas las estimaciones groseras. Incluir el valor calculado. Continuar de forma similar calculando un valor para la primera aproximación grosera. Después de calcular todos los valores perdidos de la misma manera se repite el ciclo completo desde el principio, empleando en cada cálculo el valor estimado o calculado más reciente para todas las respuestas a las que se está aplicando la fórmula. Se continúa hasta que dos ciclos consecutivos dan los mismos valores, normalmente la convergencia es rápida.

Siempre que el número de valores reemplazados sea pequeño con relación al número total de observaciones en el experimento completo (digamos inferior al 5 %), la aproximación implicada en este reemplazo y la reducción de grados de libertad por el número de valores perdidos así reemplazados es normalmente bastante satisfactoria. Sin embargo, el análisis debe ser interpretado con gran cuidado, especialmente si existe una preponderancia de valores perdidos en un tratamiento o bloque, y se debe consultar a un especialista en estadística si se encuentra alguna característica inusual.

Diseño completamente aleatorizado.

En un ensayo completamente aleatorizado, el valor perdido puede ser sustituido por la media aritmética de las otras respuestas al mismo tratamiento.

Diseño en bloques aleatorizados.

El valor perdido y' se obtiene aplicando la ecuación:

$$y' = \frac{n B' + k T' - G'}{(n-1)(k-1)} \quad (3.2.6.-I)$$

en la que B' es la suma de las respuestas del bloque que contiene el valor perdido, T' es el total del tratamiento correspondiente y G' es la suma de todas las respuestas registradas en el ensayo.

Diseño en cuadrado latino.

El valor perdido y' se obtiene a partir de:

$$y' = \frac{k(B'+C'+T') - 2G'}{(k-1)(k-2)} \quad (3.2.6.-II)$$

donde B' y C' son las sumas de las respuestas en la fila y columna que contiene el valor perdido. En este caso $k = n$.

Diseño cruzado.

Cuando accidentalmente se produce una pérdida de valores en un diseño cruzado, se debe consultar un libro de estadística (por ejemplo, *D. J. Finney*, ver *Sección 10*), ya que las fórmulas apropiadas dependen de las combinaciones particulares de tratamientos.

3.3 Modelo de relación de pendientes

3.3.1 Introducción

Este modelo es apropiado, por ejemplo, para algunos ensayos microbiológicos cuando la variable independiente es la concentración de un factor de crecimiento esencial por debajo de la concentración óptima del medio.

El modelo se ilustra en la *Figura 3.3.1.-I*

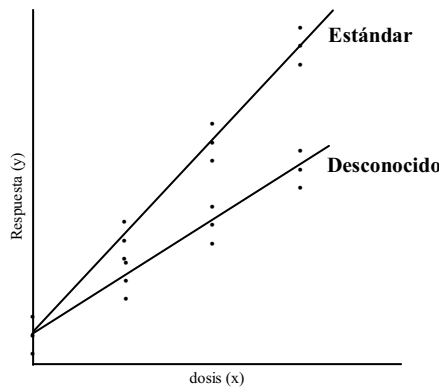


Figura 3.3.1.-I.-Modelo de relación de pendientes para un diseño $2 \times 3 + 1$.

Las dosis se representan en el eje de abscisas y las respuestas se representan en el eje de ordenadas. Las respuestas individuales a cada tratamiento se señalan con puntos negros. Las dos líneas son las relaciones dosis-respuesta calculadas para la preparación estándar y para la desconocida bajo el supuesto de que ambas se cortan en el cero de dosis. A diferencia del modelo de líneas paralelas, las dosis no se transforman a logaritmos.

Al igual que en el caso de un ensayo basado en el modelo de líneas paralelas, es importante que la potencia asumida esté cerca de la verdadera potencia y preparar diluciones equipotentes de las preparaciones desconocida y del estándar (si es posible). Cuanto más próxima esté la potencia asumida del desconocido a la verdadera potencia, más cerca estarán las dos líneas. La relación de las pendientes representa la “verdadera” potencia del desconocido, relativa a su potencia asumida. Si la pendiente de la preparación desconocida es mayor que la del estándar, la potencia ha sido subestimada y los cálculos indicarán una potencia estimada superior a la potencia asumida. De la misma manera, si la pendiente del desconocido es menor que la del estándar, la potencia ha sido sobrestimada y los cálculos indicarán una potencia estimada inferior a la potencia asumida.

En un ensayo todas las respuestas deben ser examinadas para que satisfagan las condiciones 1, 2 y 3 de la *Sección 3.1*. El análisis de varianza que ha de desarrollarse rutinariamente se describe en la *Sección 3.3.3*, por lo que el cumplimiento de las condiciones 4B y 5B de la *Sección 3.1* puede ser examinado.

3.3.2 Diseño del ensayo

El empleo del análisis estadístico presentado más adelante, impone las siguientes restricciones al ensayo:

- a) El estándar y las preparaciones a ensayar tiene que ser analizadas en el mismo número de diluciones igualmente espaciadas;
- b) Un grupo extra de unidades experimentales que no reciben tratamiento pueden ser examinadas (los blancos);
- c) Tiene que haber un número igual de unidades experimentales para cada tratamiento.

Como ya se señaló en la *Sección 3.1.3* los diseños de ensayo que no cumplen estas restricciones pueden ser posibles y correctos, pero los análisis estadísticos sencillos presentados aquí no son aplicables y ha de solicitarse el consejo de un experto o emplearse un programa apropiado.

Un diseño con dos dosis por preparación y un blanco, “diseño cero común ($h2 + 1$)” es normalmente preferido, ya que permite una mayor precisión juntamente con la posibilidad de revisar la validez dentro de las restricciones mencionadas arriba. Sin embargo, una relación lineal no puede ser siempre asumida como válida por debajo de dosis cero. Se puede adoptar, con una pequeña pérdida de precisión, un diseño sin blancos. En este caso se prefiere tres dosis por preparación, “diseño cero común ($h3$)”, al de dos dosis por preparación. Estas dosis son, así, dadas como sigue:

- 1) El estándar se da en una dosis alta, próxima, pero sin exceder la dosis máxima que da una respuesta media sobre el tramo recto de la línea dosis-respuesta.
- 2) Las otras dosis están uniformemente espaciadas entre la dosis más alta y la dosis cero.
- 3) Las preparaciones desconocidas se dan en las dosis correspondientes, basándose en la potencia asumida del material.

Puede emplearse un diseño completamente aleatorizado, un diseño en bloques aleatorizados o un diseño en cuadrado latino tal como se describe en la *Sección 3.2.2*. El empleo de cualquiera de estos diseños necesita un ajuste de la suma de cuadrados del error como se describe para el análisis basado en el modelo de rectas paralelas. Se describe más adelante el análisis de un ensayo de una o más preparaciones desconocidas frente a un estándar.

3.3.3 Análisis de varianza

3.3.3.1 Diseño ($hd + 1$)

Las respuestas se analizan como se describe en la *Sección 3.1* y si es necesario se transforman. Las respuestas son entonces promediadas sobre cada tratamiento y cada preparación como se indica en la *Tabla 3.3.3.1-I*. Adicionalmente se calcula la respuesta media de los blancos (B).

La suma de cuadrados en el análisis de varianza se calcula como se indica en las *Tablas 3.3.3.1-I a 3.3.3.1-III*. La suma de cuadrados debida a no linealidad puede ser calculada sólo si han sido incluidas al menos tres dosis de cada preparación en el ensayo. El error residual se obtiene restando las variaciones de las fuentes de variación contempladas en el diseño de la variación total de la respuesta (*Tabla 3.3.3.1-IV*).

El análisis de varianza se completa ahora como sigue. Cada suma de cuadrados se divide por el correspondiente número de grados de libertad para dar los cuadrados medios (CM).

$$CM_{fte.de\ variaci3n} = \frac{SC_{fte.de\ variaci3n}}{gl_{fte.de\ variaci3n}}$$

El F calculado es el cociente entre el cuadrado medio de cada fuente de variaci3n y el cuadrado medio del error residual (s^2). La significaci3n de esos valores (conocida como raz3n F) se evalúa mediante el empleo de la *Tabla 7.1*.

$$F_{calculado} = \frac{CM_{fte.de\ variaci3n}}{CM_{error}}$$

Tabla 3.3.3.1.-I.

F3rmulas aplicables al modelo de Relaci3n de pendientes con d dosis para cada preparaci3n y un blanco

	<i>Est3ndar</i>	<i>Preparaci3n 1 (T)</i>	<i>Preparaci3n 2 (U, etc.)</i>
<i>Respuesta media de la dosis menor</i>	S_1	T_1	U_1
<i>Respuesta media de la segunda dosis</i>	S_2	T_2	U_2
...
<i>Respuesta media de la dosis mayor</i>	S_d	T_d	U_d
<i>Total de la preparaci3n</i>	$P_S = S_1 + S_2 + \dots + S_d$	$P_T = T_1 + T_2 + \dots + T_d$	$P_U = U_1 + U_2 + \dots + U_d$
<i>Contraste lineal</i>	$L_S = 1S_1 + 2S_2 + \dots + dS_d$	$L_T = 1T_1 + 2T_2 + \dots + dT_d$	$L_U = 1U_1 + 2U_2 + \dots + dU_d$
<i>Valor de la intersecci3n</i>	$a_S = (4d + 2)P_S - 6L_S$	$a_T = (4d + 2)P_T - 6L_T$	$a_U = (4d + 2)P_U - 6L_U$
<i>Valor de la pendiente</i>	$b_S = 2L_S - (d + 1)P_S$	$b_T = 2L_T - (d + 1)P_T$	$b_U = 2L_U - (d + 1)P_U$
<i>Valor del tratamiento</i>	$G_S = S_1^2 + \dots + S_d^2$	$G_T = T_1^2 + \dots + T_d^2$	$G_U = U_1^2 + \dots + U_d^2$
<i>No linealidad (*)</i>	$J_S = G_S - \frac{P_S^2}{d} - \frac{3 b_S^2}{d^3 - d}$	$J_T = G_T - \frac{P_T^2}{d} - \frac{3 b_T^2}{d^3 - d}$	$J_U = G_U - \frac{P_U^2}{d} - \frac{3 b_U^2}{d^3 - d}$

(*) No calculado para ensayos de dos dosis

Tabla 3.3.3.1.-II. F3rmulas adicionales para la construcci3n del an3lisis de la varianza.

$H_B = \frac{nhd^2 - nhd}{hd^2 - hd + 4d + 2}$	$H_I = \frac{n}{4d^3 - 2d^2 - 2d}$	$a = \frac{a_S + a_T + \dots}{h(d^2 - d)}$	$K = \frac{n(B + P_S + P_T + \dots)^2}{hd + 1}$
--	------------------------------------	--	---

Tabla 3.3.3.1.-III. F3rmulas para el c3lculo de Suma de Cuadrados y Grados de libertad.

<i>Fuentes de Variaci3n</i>	<i>Grados de Libertad (gl)</i>	<i>Suma de Cuadrados (SC)</i>
<i>Regresi3n</i>	h	$SC_{reg} = SC_{trat} - SC_{blanco} - SC_{int} - SC_{lin}$
<i>Blancos</i>	1	$SC_{blancos} = H_B(B - a)^2$
<i>Intersecci3n</i>	$h - 1$	$SC_{int} = H_I((a_S^2 + a_T^2 + \dots) - h(d^2 - d)^2 a^2)$
<i>No linealidad (*)</i>	$h(d - 2)$	$SC_{lin} = n(J_S + J_T + \dots)$
<i>Tratamientos</i>	hd	$SC_{trat} = n(B^2 + G_S + G_T + \dots) - K$

(*) No calculado para ensayos de dos dosis

Tabla 3.3.3.1.-IV. Estimación del Error Residual

Fuentes de Variación	Grados de Libertad (g)	Suma de Cuadrados (SC)
Bloques (Filas) ^(*)	$n - 1$	$SC_{bloques} = hd (R_1^2 + \dots + R_n^2) - K$
Columnas ^(**)	$n - 1$	$SC_{col} = hd (C_1^2 + \dots + C_n^2) - K$
Error Residual ^(***)	Completamente Aleatorizado	$SC_{res} = SC_{total} - SC_{trat}$
	Aleatorizado en bloques	$SC_{res} = SC_{total} - SC_{trat} - SC_{bloques}$
	Cuadrado latino	$SC_{res} = SC_{total} - SC_{trat} - SC_{bloques} - SC_{col}$
Total	$nhd + n - 1$	$SC_{total} = \sum (y - \bar{y})^2$

(*) No se calcula para el diseño completamente aleatorizado.

(**) Sólo se calcula para el diseño Cuadrado Latino.

(***) Depende del tipo de diseño.

3.3.3.2 Diseño (hd)

Las fórmulas son básicamente las mismas que las empleadas para el diseño $(hd + 1)$, pero existen algunas pequeñas diferencias.

- B es descartado en la totalidad de las fórmulas.
- $K = \frac{n(P_s + P_T + \dots)^2}{hd}$
- SC_{blanco} se elimina del análisis de varianza.
- El número de grados de libertad para los tratamientos se transforma en $hd - 1$.
- El número de grados de libertad del error residual y la varianza total se calcula de la forma descrita para el modelo de líneas paralelas (ver *Tabla 3.2.3.-IV*)

La validez del ensayo, la potencia y el intervalo de confianza se determinan como se describe en las *Secciones 3.3.4* y *3.3.5*.

3.3.4 Criterios de validez

Se dice que los resultados del ensayo son “estadísticamente válidos” cuando el resultado del análisis de varianza es como sigue:

1) la variación debida a los blancos en los diseños $(hd + 1)$ es **no significativa**, es decir, la probabilidad calculada es no inferior a 0,05. Esto indica que la respuesta de los blancos no difiere significativamente del punto de intersección común y la relación lineal es válida hacia la dosis cero.

2) la variación debida a la intersección es **no significativa**, es decir, la probabilidad calculada es no inferior a 0,05. Esto indica que se satisface la condición 5B de la *Sección 3.1*.

3) en ensayos que incluyen al menos tres dosis por preparación, la variación debida a la no linealidad es **no significativa**, es decir, la probabilidad calculada es no inferior a 0,05. Esto indica que se satisface la condición 4B de la *Sección 3.1*.

Una variación significativa debida a los blancos indica que la hipótesis de linealidad es no válida cerca de la dosis cero. Si es probable que esto sea más sistemático que accidental, para el tipo de ensayo, el diseño hd es más apropiado. Cualquier respuesta a los blancos debe ser entonces no considerada.

Cuando estos ensayos indican que el ensayo es válido, se calcula la potencia con sus límites de confianza, como se describe en la *Sección 3.3.5*.

3.3.5 Estimación de la potencia y límites de confianza

3.3.5.1 Diseño $(hd + 1)$

La intersección común a' de las preparaciones se puede calcular a partir de

$$a' = \frac{(2d+1)B + (2d-3)ha}{h(2d-3) + 2d+1} \quad (3.3.5.1.-1)$$

La pendiente del estándar, y análogamente para cada una de las otras preparaciones, se calcula a partir de la fórmula (3.3.5.1.-2) con su correspondiente $L_S, L_T, L_U \dots$

$$b'_s = \frac{6L_S - 3d(d+1)a'}{2d^3 + 3d^2 + d} \quad (3.3.5.1.-2)$$

La relación de potencia para cada preparación desconocida se puede calcular ahora de

$$R'_T = \frac{b'_T}{b'_s} \quad (3.3.5.1.-3)$$

la cual ha de ser multiplicada por A_T , la potencia asumida de la preparación a ensayar, para determinar la potencia estimada R_T . Si el paso entre dosis adyacentes no fuera idéntico para el estándar y la preparación desconocida, la potencia tiene que ser multiplicada por I_S/I_T . Nótese que a diferencia del análisis de líneas paralelas, no se calculan antilogaritmos.

El intervalo de confianza para R'_T se calcula a partir de

$$CR'_T - K' \pm \sqrt{(C-1)(CR'^2_T + 1) + K'(K'-2CR'_T)} \quad (3.3.5.1.-4)$$

Donde

$$C = \frac{b'^2_s}{b'^2_s - s^2 t^2 V_1}$$

y

$$K' = (C-1) V_2$$

V_1 y V_2 están relacionados con la varianza y covarianza del numerador y del denominador de R'_T . Se pueden obtener a partir de

$$V_1 = \frac{6}{n(2d+1)} \left[\frac{1}{d(d+1)} + \frac{3}{2(2d+1) + hd(d-1)} \right] \quad (3.3.5.1.-5)$$

$$V_2 = \frac{3d(d+1)}{(3d+1)(d+2) + hd(d-1)} \quad (3.3.5.1.-6)$$

Los límites de confianza se multiplican por A_T , y si es preciso por I_S/I_T .

3.3.5.2 Diseño (hd)

Las fórmulas son las mismas que para el diseño $(hd + 1)$, con las siguientes modificaciones

$$a' = a \quad (3.3.5.2.-1)$$

$$V_1 = \frac{6}{nd(2d+1)} \left[\frac{1}{d+1} + \frac{3}{h(d-1)} \right] \quad (3.3.5.2.-2)$$

$$V_2 = \frac{3(d+1)}{3(d+1) + h(d-1)} \quad (3.3.5.2.-3)$$

4 ENSAYOS QUE DEPENDEN DE RESPUESTAS CUANTALES

4.1 Introducción

En ciertos ensayos es imposible o excesivamente laborioso medir el efecto sobre cada unidad experimental en una escala cuantitativa. En cambio, un efecto (respuesta) tal como la muerte o síntomas de hipoglucemia, se pueden observar como que “ocurren” o “no ocurren” en cada unidad y el resultado depende del número de unidades en las cuales ocurre. Tales ensayos se llaman cuantales o del todo-o-nada.

La situación es muy similar a lo descrito para ensayos cuantitativos en la *Sección 3.1*, pero en lugar de n respuestas separadas para cada tratamiento se registra un valor único, esto es, la fracción de unidades en cada grupo de tratamiento que muestra una respuesta. Cuando estas fracciones son representadas frente al logaritmo de las dosis la curva resultante tiende a ser sigmoidea más que lineal. Se emplea una función matemática que represente esta curvatura sigmoidea para estimar la curva dosis-respuesta. La función más comúnmente empleada es la función de distribución normal acumulada. Esta función tiene ventajas teóricas y es quizá la mejor elección si la respuesta es un reflejo de la tolerancia de las unidades. Si la respuesta tiende más a depender de un proceso de crecimiento, se prefiere el modelo de distribución logística, aunque entre los dos modelos la diferencia en el resultado es muy pequeña.

Los estimadores de máxima verosimilitud de la pendiente y localización de las curvas se pueden determinar únicamente aplicando un procedimiento iterativo. Existen muchos procedimientos que conducen al mismo resultado, pero difieren en eficiencia debido a la velocidad de convergencia. Uno de los métodos más rápidos es la optimización directa de la función de máxima verosimilitud, lo cual puede ser fácilmente realizado con programas de computación que contengan un procedimiento interno elaborado con esta finalidad. Desafortunadamente, la mayoría de estos procedimientos no proporcionan una estimación del intervalo de confianza y la técnica de obtención es demasiado complicada para ser descrita aquí. La técnica descrita a continuación no es la más rápida pero ha sido elegida por su simplicidad comparada con las otras alternativas. Puede ser empleada en ensayos en los que una o más preparaciones se comparan al estándar en los que además han de cumplimentarse las siguientes condiciones:

- 1) La relación entre el logaritmo de la dosis y la respuesta se puede representar por una curva de distribución normal acumulada.
- 2) Las curvas para el estándar y para la preparación muestra son paralelas, es decir, tienen una forma idéntica y pueden diferir solamente en su localización horizontal.
- 3) En teoría, naturalmente no hay respuesta a dosis extremadamente bajas y no hay respuesta a dosis extremadamente altas.

4.2 Método de probitos

La curva sigmoidea se puede transformar en una recta sustituyendo cada respuesta, esto es la proporción de respuestas positivas por grupo, por el correspondiente valor de la distribución normal estándar acumulada. Este valor, a menudo llamado “normito”, toma valores teóricos entre $-\infty$ a $+\infty$. Tiempo atrás se proponía añadir 5 a cada normito para obtener “probitos”. Esto facilitaba los cálculos hechos a mano ya que se evitaban los valores negativos. Con la llegada de las computadoras la necesidad de sumar 5 a los normitos ha desaparecido. El término “método de normitos” sería más apropiado para el método descrito a continuación. No obstante, ya que el término “análisis de probitos” está tan ampliamente difundido se mantendrá dicho término en el texto por razones históricas.

Una vez que las respuestas han sido linealizadas, debiera ser posible aplicar el análisis de líneas paralelas como se describe en la *Sección 3.2*. Desafortunadamente, la validez de condición de homogeneidad de la varianza para cada dosis no se cumple. La varianza es mínima para normito = 0 y crece para valores tanto positivos como negativos del normito. Por tanto, es necesario dar más peso a las respuestas en la parte media de la curva y menos peso en las partes más extremas de la misma. Este método, el análisis de varianza, la estimación de la potencia y del intervalo de confianza se describen a continuación.

4.2.1 Tabulación de resultados

La *Tabla 4.2.1.-I* se emplea para introducir datos en las columnas indicadas por números:

- (1) Dosis del estándar o de la preparación desconocido
- (2) Número n de unidades sometidas a ese tratamiento.
- (3) Número de unidades r que dan respuesta positiva al tratamiento.
- (4) Logaritmo x de la dosis.
- (5) Proporción $p = r/n$ de respuestas positivas por grupo.

El primer ciclo empieza aquí.

(6) La columna Y se completa con ceros en la primera iteración.

(7) El valor correspondiente a $\Phi = \Phi(Y)$ de la función de distribución normal estándar acumulada (ver *Tabla 7.4*).

Las columnas (8) a (10) se calculan con las siguientes fórmulas:

$$(8) \quad Z = \frac{e^{-Y^2/2}}{\sqrt{2\pi}} \quad (4.2.1.-1)$$

$$(9) \quad y = Y + \frac{p - \Phi}{z} \quad (4.2.1.-2)$$

$$(10) \quad w = \frac{n z^2}{\Phi - \Phi^2} \quad (4.2.1.-3)$$

Las columnas (11) a (15) se pueden calcular fácilmente a partir de las columnas (4), (9) y (10) como wx , wy , wx^2 , wy^2 y wxy respectivamente y la sumatoria de cada una de las columnas (10) a (15) se calcula separadamente para cada una de las preparaciones.

Las sumas calculadas en la *Tabla 4.2.1.-I* se transfieren a las columnas (1) a (6) de la *Tabla 4.2.1.-II* y se calculan seis columnas adicionales (7) a (12) como sigue.

Tabla 4.2.1.-I Primer tabla de trabajo

	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)	(13)	(14)	(15)
	dosis	n	r	x	p	Y	Φ	Z	y	w	wx	wy	wx^2	wy^2	wxy
S

										$\Sigma =$	$\Sigma =$	$\Sigma =$	$\Sigma =$	$\Sigma =$	$\Sigma =$
T

										$\Sigma =$	$\Sigma =$	$\Sigma =$	$\Sigma =$	$\Sigma =$	$\Sigma =$
etc.															

Tabla 4.2.1.-II Segunda tabla de trabajo

	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)
	Σw	Σwx	Σwy	Σwx^2	Σwy^2	Σwxy	S_{xx}	S_{xy}	S_{yy}	\bar{x}	\bar{y}	a
S
T
etc.
							$\Sigma =$	$\Sigma =$				

$$(7) \quad S_{xx} = \Sigma wx^2 - \frac{(\Sigma wx)^2}{\Sigma w} \quad (4.2.1.-4)$$

$$(8) \quad S_{xy} = \Sigma wxy - \frac{(\Sigma wx)(\Sigma wy)}{\Sigma w} \quad (4.2.1.-5)$$

$$(9) \quad S_{yy} = \sum wy^2 - \frac{(\sum wy)^2}{\sum w} \quad (4.2.1.-6)$$

$$(10) \quad \bar{x} = \frac{\sum wx}{\sum w} \quad (4.2.1.-7)$$

$$(11) \quad \bar{y} = \frac{\sum wy}{\sum w} \quad (4.2.1.-8)$$

La pendiente común, b puede obtenerse ahora así

$$b = \frac{\sum S_{xy}}{\sum S_{xx}} \quad (4.2.1.-9)$$

la intersección " a " del estándar y de las preparaciones desconocidas, se obtienen como

$$(12) \quad a = \bar{y} - b\bar{x} \quad (4.2.1.-10)$$

La columna (6) de la primera tabla de trabajo puede ser ahora sustituida por $Y = a + bx$ y el ciclo se va repitiendo hasta que la diferencia entre dos ciclos se ha hecho pequeña (por ejemplo, la máxima diferencia de Y entre dos ciclos consecutivos es inferior a 10^{-8}).

4.2.2 Criterios de validez

Antes de calcular las potencias e intervalos de confianza, debe ser evaluada la validez del ensayo. Si se han incluido al menos tres dosis para cada preparación, las desviaciones de la linealidad se pueden medir como sigue: añadir una columna 13 a la *Tabla 4.2.1.-II* y completarla según la expresión:

$$S_{yy} - \frac{S_{xy}^2}{S_{xx}} \quad (4.2.2.-1)$$

El total de columna es una medida de las desviaciones de la linealidad y se distribuye, aproximadamente, como una χ^2 con $N - 2h$ grados de libertad. La significación de este valor puede establecerse con la *Tabla 7.3* o con una adecuada subrutina en un programa de computación. Si el valor es significativo a un nivel de probabilidad de 0,05, el ensayo debe probablemente ser rechazado (ver *Sección 4.2.4*).

Cuando el ensayo anterior no indica desviación significativa de regresión lineal, se contrastan las desviaciones del paralelismo, a un nivel de significación del 0,05, con:

$$\chi^2 = \sum \frac{S_{xy}^2}{S_{xx}} - \frac{(\sum S_{xy})^2}{\sum S_{xx}} \quad (4.2.2.-2)$$

Con $h - 1$ grados de libertad.

4.2.3 Estimación de la potencia y límites de confianza

Cuando no se detecta desviación significativa del paralelismo y la linealidad, el \ln (relación de potencia) M_T se calcula como:

$$M'_T = \frac{a_T - a_S}{b} \quad (4.2.3.-1)$$

Se aplica el antilogaritmo. Ahora se considera $t = 1,96$ y $s = 1$.
Los límites de confianza se calculan como los antilogaritmos de:

$$CM'_T - (C-1)(\bar{x}_S - \bar{x}_T) \pm \sqrt{(C-1)(V \sum S_{xx} + C(M'_T - \bar{x}_S + \bar{x}_T)^2)} \quad (4.2.3.-2)$$

donde
$$C = \frac{b^2 \sum S_{xx}}{b^2 \sum S_{xx} - s^2 t^2}$$

y
$$V = \frac{1}{\sum_S w} + \frac{1}{\sum_T w}$$

4.2.4 Ensayos no válidos

Si la prueba de desviación de la linealidad, descrita en la *Sección 4.2.2.*, es significativa el ensayo deberá normalmente ser rechazado. Si existieran razones para mantener el ensayo, las fórmulas se modificarán ligeramente, t se toma como el valor t ($p = 0,05$) con el mismo número de grados de libertad utilizado en la revisión de la linealidad y s^2 pasa a ser el valor χ^2 dividido por el mismo número de grados de libertad (por ello es mayor que uno).

La prueba de paralelismo también se modifica ligeramente. El valor χ^2 para no paralelismo se divide por su número de grados de libertad. El valor resultante se divide por s^2 calculado anteriormente para obtener la razón F , con $h-1$ y $N-2h$ grados de libertad, el cual es evaluado de la forma habitual al 0,05 de nivel de significación.

4.3 Métodos de logitos

Como se indicó en la *Sección 4.1* el método de logitos puede ser algunas veces más apropiado. El nombre de este método se deriva de la función logit, que es la inversa de la función de distribución logística. El procedimiento es similar al descrito para el método probitos con las modificaciones siguientes en las formulas para Φ y Z .

$$\Phi = \frac{1}{1 + e^{-Y}} \quad (4.3.-1)$$

$$Z = \frac{e^{-Y}}{(1 + e^{-Y})^2} \quad (4.3.-2)$$

4.4 Otras formas de la curva

Los métodos de probitos y logitos son casi siempre adecuados para el análisis de las llamadas respuestas cuantales en la FA. Sin embargo, si puede ser evidente que la curva ln dosis-respuesta tiene una forma diferente de la que describen las dos curvas anteriores, se puede adoptar otra curva Φ . En este caso Z se toma como la primera derivada de Φ .

Por ejemplo: si puede mostrarse que la curva no es simétrica, la distribución de Gompertz podría ser apropiada (método de gompito) en este caso

$$\Phi = 1 - e^{-e^Y}$$

$$Z = e^{Y-e^Y}$$

4.5 Dosis mediana efectiva

En algunos tipos de ensayos interesa determinar la dosis mediana efectiva, que es la dosis que produce una respuesta en el 50 % de las unidades. Se puede utilizar el método de probitos para determinar esta dosis mediana

efectiva (ED50), pero ya que no es necesario expresar esta dosis relativa a un estándar, las fórmulas son ligeramente diferentes.

[NOTA: se puede incluir opcionalmente un estándar con objeto de validar el ensayo. Normalmente el ensayo se considera válido si el valor calculado ED50 del estándar está suficientemente cercano al valor asignado ED50. El significado de "suficientemente cercano", en este contexto, depende de los requerimientos especificados en la monografía.]

La tabulación de las respuestas para las preparaciones desconocidas y opcionalmente para el estándar, se hace como se describe en la *Sección 4.2.1*. La prueba de linealidad es como se describe en la *Sección 4.2.2*. Para este tipo de ensayo no es necesario una prueba de paralelismo. La ED50 de la preparación desconocida T y análogamente de las otras muestras se obtiene, como se describe en la *Sección 4.2.3*, con las siguientes modificaciones en las fórmulas 4.2.3.-1 y 4.2.3.-2.

$$M'_T = \frac{-a_T}{b} \quad (4.5.-1)$$

$$CM'_T - (C-1)\bar{x}_T \pm \sqrt{(C-1)(V \sum S_{xx} + C(M'_T + \bar{x}_T)^2)} \quad (4.5.-2)$$

donde

$$V = \frac{1}{\sum_T w}$$

y C se deja sin modificar

5 EJEMPLOS

5.1 Modelo de líneas paralelas

5.1.1 Ensayo múltiple de tres dosis con diseño completamente aleatorizado.

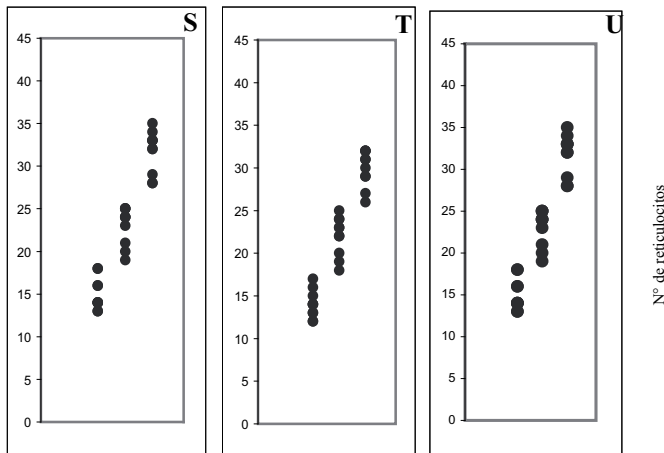
Ensayo de eritropoyetina mediante inyección subcutánea en ratones normocitémicos con recuento visual de la respuesta (número de reticulocitos) en cámara de Neubauer.

La potencia asumida de las preparaciones T y U es de 2000 UI/ml. Las dosis del estándar y preparaciones son 10, 30 y 90 UI/0,5ml/ratón. Las respuestas individuales y medias están dadas, para cada preparación en la *Tabla 5.1.1.-I* y representadas en la *Figura 5.1.1.-I*.

Tabla 5.1.1.-I Respuesta(y) número de reticulocitos

	Estándar S			Preparación T			Preparación U		
	S ₁	S ₂	S ₃	T ₁	T ₂	T ₃	U ₁	U ₂	U ₃
	13	25	34	14	20	27	17	25	34
	14	19	32	12	18	26	15	28	37
	18	21	33	15	23	29	16	27	35
	14	20	29	12	24	32	20	25	36
	14	24	28	14	19	30	18	29	35
	16	24	32	14	23	32	17	26	40
	13	23	33	17	22	29	17	27	39
	16	25	28	13	24	31	15	24	37
	14	25	33	16	22	32	19	25	39
	18	24	35	13	25	31	17	26	39
Media	15	23	31,7	14	22	29	17,1	26,2	37,1

Figura 5.1.1-I



Las fórmulas de las *Tablas 3.2.3.-I* y *3.2.3.-II* proporcionan:

$$P_S = 69,7$$

$$L_S = 16,7$$

$$P_T = 65,9$$

$$L_T = 15,9$$

$$P_U = 80,4$$

$$L_U = 20,0$$

$$H_p = \frac{10}{3} = 3,333333$$

$$H_L = \frac{120}{24} = 5$$

$$K = 51840$$

El análisis de varianza se puede ahora completar con las fórmulas de las *Tablas 3.2.3.-III* y *3.2.3.-IV*. Este se muestra en la *Tabla 5.1.1.-II*.

Tabla 5.1.1.-II. Análisis de varianza

<i>Fuente de variación</i>	<i>Grado de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón F</i>	<i>Probabilidad</i>
<i>Preparaciones</i>	2	376,8614	188,4307		
<i>Regresión</i>	1	4611,2667	4611,2667	1137,3768	0,0000
<i>No paralelismo</i>	2	47,2333	23,6165	5,8250	0,0043
<i>No linealidad</i>	3	6,2386	2,0795	0,5129	0,6745
<i>Tratamientos</i>	8	5041,6			
<i>Error Residual</i>	81	328,4	4,0543		
<i>Total</i>	89	5370			

El análisis confirma una regresión lineal altamente significativa. La falta de paralelismo es también significativa ($p = 0,0043$). La preparación U es por tanto rechazada y el análisis se repite utilizando únicamente la preparación T y la preparación estándar. El valor K es ahora 30645,6.

Tabla 5.1.1.-III. Análisis de varianza

<i>Fuente de variación</i>	<i>Grado de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón F</i>	<i>Probabilidad</i>
<i>Preparaciones</i>	1	24,0636	24,0600		
<i>Regresión</i>	1	2656,9000	2656,9000	585,6070	0,0000
<i>No paralelismo</i>	1	1,6000	1,6000	0,3527	0,5551
<i>No linealidad</i>	2	0,8364	0,4182	0,0922	0,9120
<i>Tratamientos</i>	5	2683,4			
<i>Error Residual</i>	54	245,0	4,5370		
<i>Total</i>	59	2928,4			

El análisis sin la preparación U cumple los requerimientos con respecto a la regresión, linealidad y paralelismo por lo tanto la potencia puede ser calculada. Aplicando las fórmulas de la *Sección 3.2.5* se obtiene:

Para la pendiente común

$$b = \frac{5 \times (16,7 + 15,9)}{\ln 3 \times 10 \times 2} = 7,4148$$

El ln de la relación de potencias es

$$M'_T = \frac{65,9 - 69,7}{3 \times 7,4184} = -0,1707$$

$$C = \frac{2656,9}{2656,9 - 4,5370 \times 2,005^2} = 1,0069$$

$$V = \frac{2656,9}{7,4184^2 \times 3 \times 10} = 1,6093$$

Los ln de los límites de confianza para la preparación T son:

$$-0,1719 \pm \sqrt{0,0069 \times (0,0293 + 3,2186)} = -0,1719 \pm 0,1497$$

Tomando antilogaritmos encontramos una relación de potencias de 0,8430 con límites de confianza, del 95 por ciento, de 0,7250 y 0,9780.

Multiplicando por la potencia asumida de la preparación T resulta una potencia de 1686 UI/ml con límites de confianza, del 95 por ciento, de 1450 y 1956 UI/ml.

5.1.2 Ensayo múltiple de cinco dosis con diseño completamente aleatorizado

Ensayo in vitro de tres vacunas de hepatitis B frente a un estándar

De cada una de las vacunas y del estándar se prepararon tres series independientes de cinco diluciones, en progresión geométrica (al medio). Después de algunos pasos adicionales en el procedimiento del ensayo, se midieron las absorbancias. Los resultados se muestran en la *Tabla 5.1.2.-I*.

Tabla 5.1.2.-I. Densidades ópticas

Dilución	Estándar S			Preparación T			Preparación U			Preparación V		
1:16000	0,043	0,045	0,051	0,097	0,097	0,094	0,086	0,071	0,073	0,082	0,082	0,086
1:8000	0,093	0,099	0,082	0,167	0,157	0,178	0,127	0,146	0,133	0,145	0,144	0,173
1:4000	0,159	0,154	0,166	0,327	0,355	0,345	0,277	0,268	0,269	0,318	0,306	0,316
1:2000	0,283	0,295	0,362	0,501	0,665	0,576	0,586	0,489	0,546	0,552	0,551	0,624
1:1000	0,514	0,531	0,545	1,140	1,386	1,051	0,957	0,866	1,045	1,037	1,039	1,068

Es conocido que los logaritmos de las densidades ópticas tienen una relación lineal con los logaritmos de las dosis. En la *Tabla 5.1.2.-II* figuran las respuestas medias de las densidades ópticas logaritmicamente transformadas.

Tabla 5.1.2.-II. Medias de las transformaciones ln de las absorbancias

S ₁	-3,075	T ₁	-2,343	U ₁	-2,572	V ₁	-2,485
S ₂	-2,396	T ₂	-1,789	U ₂	-2,002	V ₂	-1,874
S ₃	-1,835	T ₃	-1,073	U ₃	-1,305	V ₃	-1,161
S ₄	-1,166	T ₄	-0,550	U ₄	-0,618	V ₄	-0,554
S ₅	-0,635	T ₅	0,169	U ₅	-0,048	V ₅	0,047

Las fórmulas de las *Tablas 3.2.3.-I* y *3.2.3.-II* proporcionan:

$$P_S = -9,108$$

$$L_S = 6,109$$

$$P_T = -5,586$$

$$L_T = 6,264$$

$$P_U = -6,544$$

$$L_U = 6,431$$

$$P_V = -6,027$$

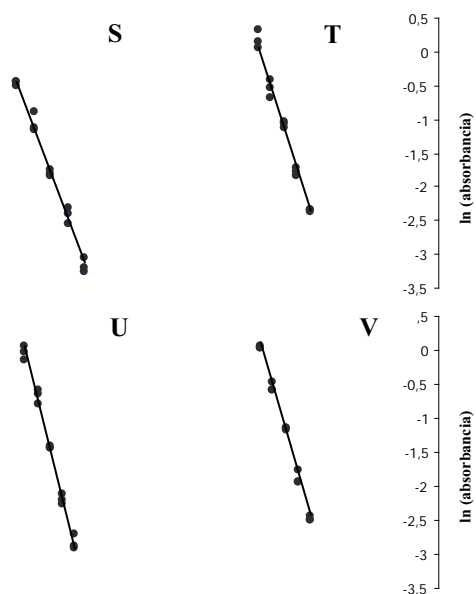
$$L_V = 6,384$$

$$H_p = \frac{3}{5} = 0,6$$

$$H_L = \frac{36}{120} = 0,3$$

$$K = 111,52$$

Figura 5.1.2.-I



El análisis de varianza ya puede ser completado con las fórmulas de las *Tablas 3.2.3.-III* y *3.2.3.-IV*. El resultado se presenta en la *Tabla 5.1.2.-III*.

Tabla 5.1.2.-III. Análisis de varianza

<i>Fuente de variación</i>	<i>Grado de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón F</i>	<i>Probabilidad</i>
<i>Preparaciones</i>	3	4,475	1,492		
<i>Regresión</i>	1	47,58	47,58	7126	0,000
<i>No paralelismo</i>	3	0,0187	0,006	0,933	0,434
<i>No linealidad</i>	12	0,0742	0,006	0,926	0,531
<i>Tratamientos</i>	19	52,152			
<i>Error Residual</i>	40	0,267	0,0067		
<i>Total</i>	59	52,42			

Una regresión altamente significativa y un desvío de paralelismo y linealidad no significativa, confirma que las potencias pueden ser calculadas satisfactoriamente. Aplicando las fórmulas de la *Sección 3.2.5* dan:

$$b = \frac{0,3 \times (6,109 + 6,264 + 6,431 + 6,384)}{\ln 2 \times 3 \times 4} = 0,90848$$

El ln de la relación de potencias para la preparación *T* es

$$M'_T = \frac{-5,586 - (-9,108)}{5 \times 0,90848} = 0,7752$$

$$C = \frac{47,58}{47,58 - 0,0067 \times 2,021^2} = 1,00057$$

$$V = \frac{47,58}{0,9085^2 \times 5 \times 3} = 3,8436$$

Los ln de los límites de confianza para la preparación *T* son

$$1,00057 \times 0,7752 \pm \sqrt{0,00057 \times (1,00057 \times 0,7752^2 + 2 \times 3,8436)} = 0,7756 \pm 0,0689$$

Tomando antilogaritmos se calcula una relación de potencias de 2,171 con límites de confianza, del 95 por ciento, de 2,027 y 2,327. Todas las muestras tienen una potencia asignada de 20 µg proteína/ml y por tanto una potencia de 43,4 µg proteína/ml se encuentra para la preparación desconocida *T* con límites de confianza, del 95 por ciento, de 40,5 y 46,5 µg proteína/ml.

El mismo procedimiento se sigue para estimar la potencia y los límites de confianza de las otras preparaciones ensayadas. Los resultados se muestran en la *Tabla 5.1.2.-IV*.

Tabla 5.1.2.-IV

Potencia final estimada e intervalos de confianza del 95% del ensayo de vacunas (en µg proteína/ml)

	<i>Límite inferior</i>	<i>Estimación</i>	<i>Límite superior</i>
<i>Vacuna T</i>	40,5	43,4	46,5
<i>Vacuna U</i>	32,9	35,2	37,6
<i>Vacuna V</i>	36,8	39,4	42,2

5.1.3 Ensayo de dos dosis con diseño de cuadrado latino y sin replicación

Ensayo de Ocitocina usando órgano aislado

Tabla 5.1.3.-I Disposiciones de tratamientos (Cuadrado latino)

<i>Filas</i>	<i>Columnas</i>			
	1	2	3	4
1	<i>S</i> ₁	<i>S</i> ₂	<i>T</i> ₁	<i>T</i> ₂
2	<i>S</i> ₂	<i>T</i> ₁	<i>T</i> ₂	<i>S</i> ₁
3	<i>T</i> ₁	<i>T</i> ₂	<i>S</i> ₁	<i>S</i> ₂
4	<i>T</i> ₂	<i>S</i> ₁	<i>S</i> ₂	<i>T</i> ₁

La preparación estándar se administró en dosis de 0,001UI/ml y 0,003 UI/ml. Se prepararon dosis equivalentes de las preparaciones *T* basándose en una potencia supuesta de 10 UI/ml. Cada uno de los cuatro tratamientos se aplicó una vez en cada fila y una vez en cada columna.

Tabla 5.1.3.-II Medida de contracción del útero en milímetros.

<i>Filas</i>	<i>Columnas</i>				<i>Media de las filas (R)</i>
	1	2	3	4	
1	26	31	20	33	27,50
2	31,5	18	29	23	25,375
3	17	22	16	28	20,75
4	24	14	24	16	19,50
<i>Media de las columnas (C)</i>	24,625	21,25	22,25	25,00	

Tabla 5.1.3.-III Medias de los tratamientos

Media	Estándar S		Preparación T	
	S ₁	S ₂	T ₁	T ₂
	19,75	28,625	17,75	27,00

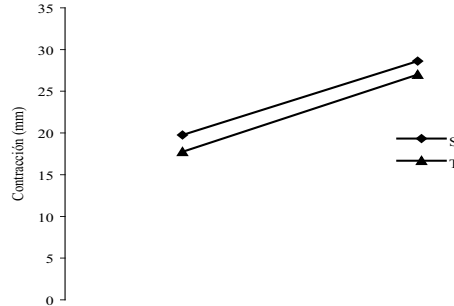


Figura 5.1.3.- I

Las fórmulas de las Tablas 3.2.3.-I y 3.2.3.-II proporcionan:

$$P_S = 48,375$$

$$L_S = 4,4375$$

$$P_T = 44,75$$

$$L_T = 4,625$$

$$H_P = 2$$

$$H_L = \frac{48}{6} = 8$$

$$K = 8672,265625$$

El análisis de varianza ya puede ser completado con las fórmulas de las Tablas 3.2.3.-III y 3.2.3.-IV. El resultado se muestra en la Tabla 5.1.3.-IV.

Tabla 5.1.3.-IV Análisis de varianza

Fuente de variación	Grado de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Razón F	Probabilidad
Preparaciones	1	13,1406	13,1406		
Regresión	1	328,5156	328,5156	512,8248	0,0000
No paralelismo	1	0,1406	0,1406	0,2195	0,6560
Tratamientos	3	341,7969	113,9323		
Filas	3	171,5469	57,1823	89,2637	0,0000
Columnas	3	39,7969	13,2656	20,7081	0,0014
Error Residual	6	3,8436	0,6406		
Total	15	556,9843	37,1323		

El análisis de varianza demostró diferencias significativas entre las filas y las columnas. Esto indica el aumento de precisión conseguido mediante el uso de un diseño cuadrado latino en lugar de un diseño completamente aleatorizado.

La regresión altamente significativa y el desvío del paralelismo no significativo, confirman que el ensayo es válido y se calcula la potencia aplicando las fórmulas de la Sección 3.2.5.

$$b = \frac{8 \times (4,4375 + 4,625)}{\ln 3 \times 4 \times 2} = 8,2491$$

El ln de la relación de potencia para la preparación *T* es

$$M'_T = \frac{44,75 - 48,375}{2 \times 8,2491} = -0,2197$$

$$C = \frac{328,5156}{328,5156 - 0,6406 \times 5,9878} = 1,0118$$

$$V = \frac{328,5156}{4 \times 2 \times (8,2491)^2} = 0,6035$$

y ln de los límites de confianza para la preparación *T* es:

$$1,0118(-0,2197) \pm \sqrt{(1,0118 - 1) \times (1,0118 \times (-0,2197))^2 + 2 \times 0,6035} = -0,2223 \pm 0,1217$$

Tomando antilogaritmos se calcula una relación de potencias de 0,8028 con límites de confianza, del 95 por ciento, de 0,7089 y 0,9043. Multiplicando por la potencia asumida de 10 UI/ml resulta una potencia de 8,028 UI/ml con límites de confianza de 7,089 y 9,043 UI/ml.

5.2 Modelo de relación de pendientes

5.2.1 Ensayo completamente aleatorizado con diseño (2 × 3 + 1)

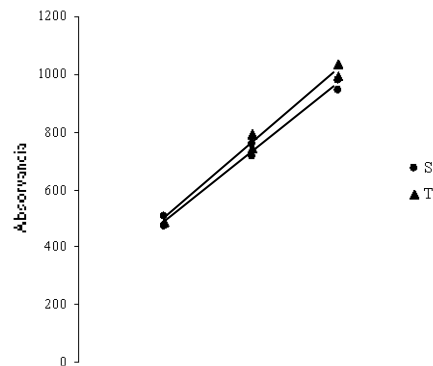
Ensayo de Factor VIII

Se lleva a cabo un ensayo cromogénico de actividad de concentrado de factor VIII. Se preparan tres diluciones independientes en progresión aritmética, por duplicado, tanto para el estándar como para la preparación desconocida. Además se prepara un blanco. Se realizan dos réplicas de cada dilución y se usa el promedio de estas como respuesta a cada tratamiento. Potencia asumida 250 UI/vial.

Tabla 5.2.1-I Promedio de Absorbancias

	Blanco	Estándar (S)			Desconocido (T)		
		S ₁	S ₂	S ₃	T ₁	T ₂	T ₃
		mUI/ml			mUI/ml		
		1,5	3,0	4,5	1,5	3,0	4,5
	241	474	714	946	487	790	992
	245	509	754	976	486	745	1034
Media	243,0	491,5	734,0	961,0	486,5	767,5	1013,0

Figura 5.2.1-I



Las fórmulas de las *Tablas 3.3.3.1.-I y 3.3.3.1.-II* proporcionan

$$\begin{array}{ll}
 P_S = 2186,50 & P_T = 2267 \\
 L_S = 4842,50 & L_T = 5060,5 \\
 a_S = 1556,00 & a_T = 1375 \\
 b_S = 939,00 & b_T = 1053 \\
 G_S = 1703849,25 & G_T = 1851907,5 \\
 J_S = 40,042 & J_T = 210,042 \\
 H_B = 0,923076923 & H_I = 0,023809523 \\
 a = 244,25 & K = 6302032,071
 \end{array}$$

El análisis de varianza ya puede ser completado con las fórmulas de las *Tablas 3.3.3.1.-III y 3.3.3.1.-IV*. El resultado se muestra en la *Tabla 5.2.1.-II*.

Tablas 5.2.1.-II Análisis de varianza

<i>Fuente de variación</i>	<i>Grado de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón F</i>	<i>Probabilidad</i>
<i>Regresión</i>	2	926687,8068	463343,9034	861,3460	0,0000
<i>Blancos</i>	1	1,4423	1,4423	0,0027	0,9600
<i>Intersección</i>	1	390,0119	390,0119	0,7250	0,4227
<i>No linealidad</i>	2	500,1680	250,0840	0,4649	0,6463
<i>Tratamientos</i>	6	927579,4290	154596,5715		
<i>Error Residual</i>	7	3765,5000	537,938		
<i>Total</i>	13	931344,9290			

Una regresión altamente significativa y desviaciones no significativas de linealidad e intersección indica que puede ser calculada la potencia. Además se observa el cumplimiento de blancos.

Aplicando las fórmulas de la *Sección 3.3.5* se obtiene:

$$a' = 243,5769$$

Pendiente del estándar

$$b'_S = \frac{6 \times 4842,50 - 9 \times 4 \times 243,5769}{2 \times 27 + 9 \times 3 + 3} = 241,5028$$

Pendiente de la preparación desconocida

$$b'_T = \frac{6 \times 5060,50 - 9 \times 4 \times 243,5769}{2 \times 27 + 9 \times 3 + 3} = 257,0742$$

La relación de potencia para la preparación *T* es

$$R'_T = 1,0645$$

$$C = \frac{241,5028^2}{241,5028^2 - 537,938 \times 2,3646^2 \times 0,0852} = 1,0044$$

$$K' = (1,0044 - 1)0,58064 = 0,0025$$

Los límites de confianza se calculan a partir de

$$1,0044 \times 1,0645 - 0,0025 \pm \sqrt{(1,0044 - 1)(1,1381 + 1) + 0,0025(0,0025 - 2,1383)} = 1,0666 \pm 0,0629$$

Se calcula una relación de potencias de 1,0645 con límites de confianza, del 95 por ciento, de 1,0037 y 1,1295. Como la preparación analizada tiene una potencia asumida de 250 UI/vial, por lo tanto su potencia estimada es de 266,12 UI/vial con límites de confianza de 250,92 UI/vial y 282,37 UI/vial. Nótese que a diferencia del análisis de líneas paralelas no se calculan los antilogaritmos.

5.2.2 Ensayo completamente aleatorizado con diseño (3×4)

Un ensayo in vitro de vacunas de influenza

El contenido en antígeno hemaglutinina (HA) de dos vacunas de influenza es determinado por inmunodifusión radial simple. Ambas tienen una potencia en rótulo de 15 µg HA por dosis, que equivale a un contenido de 30 µg HA/ml. El estándar tiene un contenido asignado de 39 µg HA/ml.

Se aplica el estándar y las dos vacunas problema en cuatro concentraciones duplicadas las cuales están preparadas sobre la base de los contenidos asignado y declarado respectivamente. Cuando se establece el equilibrio entre los reactantes, externo e interno, se mide la zona del área de precipitación anular. Los resultados se muestran en la *Tabla 5.2.2.-I*.

Tabla 5.2.2.1 Zona de precipitación area (mm²)

Concentración (µg/ml)	Estándar		Preparación T		Preparación U	
	I	II	I	II	I	II
7,5	18,0	18,0	15,1	16,8	15,4	15,7
15,0	22,8	24,5	23,1	24,2	20,2	18,6
22,5	30,4	30,4	28,9	27,4	24,2	23,1
30,0	35,7	36,6	34,4	37,8	27,4	27,0

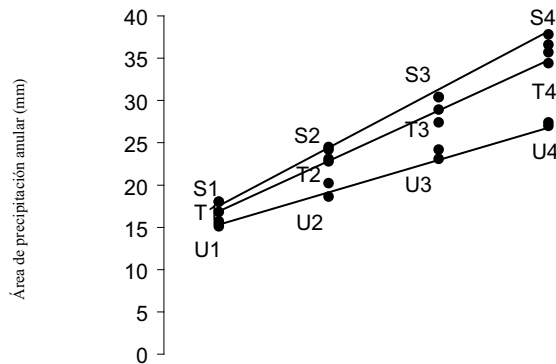


Figura 5.2.2.-I

Una representación gráfica de los datos no muestra hechos inusuales. Aplicando las fórmulas de las *Tablas 3.3.3.1.-I* y *3.3.3.1.-II* se obtiene:

$$\begin{array}{lll}
 P_S = 108,2 & P_T = 103,85 & P_U = 85,8 \\
 L_S = 301,1 & L_T = 292,1 & L_U = 234,1 \\
 a_S = 141,0 & a_T = 116,7 & a_U = 139,8 \\
 b_S = 61,2 & b_T = 64,95 & b_U = 39,2 \\
 G_S = 3114,3 & G_T = 2909,4 & G_U = 1917,3 \\
 J_S = 0,223 & J_T = 2,227 & J_U = 0,083 \\
 H_I = 0,00925926 & a' = 11,0416667 & K = 14785,7704
 \end{array}$$

y el análisis de varianza se completa con las fórmulas de las *Tablas 3.3.3.1.-III* y *3.3.3.1.-IV*. Esto se muestra en la *Tabla 5.2.2.-II*.

Tabla 5.2.2.-II Análisis de varianza

Fuente de variación	Grado de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Razón F	Probabilidad
Regresión	3	1087,66519	362,55065	339,497525	0,0000
Intersección	2	3,47388889	1,7369444	1,62647939	0,2371
No linealidad	6	5,0655	0,84425	0,79055794	0,5943
Tratamientos	11	1096,20458			
Error Residual	12	12,815	1,06791667		
Total	23	1109,01958			

Una regresión altamente significativa y desviaciones no significativa de linealidad e intersección indica que puede ser calculada la potencia.

Pendiente del estándar $b'_s = \frac{6 \times 301,1 - 60 \times 11,0416667}{180} = 6,35611$

Pendiente T es $b'_T = \frac{6 \times 292,1 - 60 \times 11,0416667}{180} = 6,05611$

Pendiente de U es $b'_U = \frac{6 \times 234,1 - 60 \times 11,0416667}{180} = 4,12277$

Esto proporciona una relación de potencias de 0,95280 para la vacuna T y 0,64863 para la vacuna U.

$$C = \frac{6,35611^2}{6,35611^2 - 1,06791667 \times 2,179^2 \times 0,4444} = 1,00561$$

$$K' = 0,00560842 \times 0,625 = 0,0035$$

Y los límites de confianza se determinan con la fórmula 3.3.5.1.-4

Para la vacuna T son: $0,95464 \pm \sqrt{0,00561 \times 1,91292 + 0,0035 \times (-1,91279)} = 0,95464 \pm 0,06343$

Para la vacuna U son: $0,64877 \pm \sqrt{0,00561 \times 1,42308 + 0,0035 \times (-1,30104)} = 0,64877 \pm 0,05856$

El contenido HA por dosis se puede determinar multiplicando las razones de potencias y límites de confianza por la potencia asumida, 15 µg/dosis. Los resultados están dados en la Tabla 5.2.2.-III

Tabla 5.2.2.-III Estimación de potencia HA (µg/dosis)

	Límite inferior	Potencia estimada	Límite superior
Vacuna T	13,4	14,3	15,3
Vacuna U	8,9	9,7	10,6

6 COMBINACIÓN DE RESULTADOS DE ENSAYOS

6.1 Introducción

Con frecuencia es necesario la repetición de ensayos independientes y la combinación de sus resultados para cumplir los requisitos de este Código. La cuestión que surge es, si es apropiado combinar los resultados de tales ensayos y si es así, de qué forma debe hacerse.

Dos ensayos pueden ser considerados mutuamente independientes cuando la ejecución de uno no afecta las probabilidades de los posibles resultados del otro. Esto implica que los errores aleatorios en la totalidad de los factores esenciales que influyen sobre el resultado (por ejemplo, diluciones del estándar y de la preparación que se va a examinar, la sensibilidad del indicador biológico) en un ensayo, tienen que ser independientes de los correspondientes errores aleatorios en el otro. Los ensayos, en días sucesivos, usando las diluciones originales y retenidas del estándar no son ensayos independientes.

Existen diversos métodos para combinar los resultados de ensayos independientes, cuanto más aceptable sea teóricamente el método más difícil será de aplicar. A continuación se describen tres (6.2.3 ó 6.2.4 y 6.3) métodos simples de aproximación, se pueden utilizar otros, siempre que se cumplan las condiciones necesarias.

Cuando se combinan potencias de ensayos provenientes de modelo de líneas paralelas las mismas deben ser transformadas a logaritmos (M) y cuando provienen de ensayos de modelo relación de pendientes, las potencias (R) se usan como tal. Ya que los modelos de líneas paralelas son más comunes que los basados en el modelo de relación de pendientes, el símbolo M que denota el logaritmo de la potencia se usa en las fórmulas de esta sección. En ensayos de relación de pendientes se usan las mismas fórmulas y R , pero corregidas por la potencia asumida en cada ensayo previo a la combinación.

6.2 Combinación ponderada de resultados de ensayos

Este método se puede usar siempre que se cumplan las siguientes condiciones:

- 1 - las estimaciones de la potencia derivan de ensayos independientes;
- 2 - para cada ensayo, C está próximo a 1 (inferior a 1,1);
- 3 - el número de grados de libertad de los errores residuales individuales no es inferior a 6, pero preferiblemente es mayor de 15.
- 4 - las potencias individuales estimadas forman un conjunto homogéneo (ver Sección 6.2.2).

Cuando estas condiciones no se cumplen este método no se puede aplicar. Entonces puede utilizarse el método descrito en la Sección 6.3 para obtener la mejor estimación de la potencia media.

6.2.1 Cálculo de los coeficientes de ponderación

Se asume que los resultados de cada uno de los n' ensayos han sido analizados para dar n' valores de M con los límites de confianza asociados. Para cada ensayo se obtiene la longitud del intervalo de confianza logarítmico, L , restando el límite inferior del superior. El peso W para cada valor de M se calcula a partir de la ecuación 6.2.2.-1, en la que t tiene el mismo valor que el utilizado para el cálculo de los límites de confianza.

$$W = \frac{4t^2}{L^2} \quad (6.2.1.-1)$$

6.2.2 Homogeneidad de las estimaciones de potencia

Sumando, de todos los ensayos, la desviación de cada M con respecto a la media ponderada (\bar{M}) elevada al cuadrado y multiplicada por el peso (6.2.2.1) se obtiene un estadístico, χ^2 (ver Tabla 7.3) y que se puede utilizar para probar la homogeneidad de un conjunto de \ln de potencias estimadas:

$$\chi^2 = \sum_n W(M - \bar{M})^2 \quad (6.2.2.-1)$$

donde

$$\bar{M} = \frac{\sum WM}{\sum W}$$

Si el χ^2 calculado es inferior al valor tabulado correspondiente con $(n'-1)$ grados de libertad las potencias son homogéneas y tendrán sentido calcular la potencia media y los límites de confianza por el método de la Sección 6.2.3.

Si el valor calculado de este estadístico es superior al valor tabulado, las potencias son heterogéneas. Esto significa que la variación entre las estimaciones individuales de M es mayor que la que se podría predecir a partir de las estimaciones de los límites de confianza, esto es, que existe una variabilidad significativa entre los ensayos. Bajo estas circunstancias la condición 4 no se cumple y las ecuaciones de la Sección 6.2.3 ya no se pueden aplicar. En cambio se pueden usar las fórmulas de la Sección 6.2.4.

6.2.3 Cálculo de la media ponderada y límites de confianza

Se forman los productos WM para cada ensayo y su suma se divide por el peso total de todos los ensayos para dar el logaritmo de la potencia media ponderada.

$$\bar{M} = \frac{\sum WM}{\sum W} \quad (6.2.3.-1)$$

El error estándar del ln (potencia media) se calcula como la raíz cuadrada de la inversa del peso total:

$$S_{\bar{M}} = \sqrt{\frac{1}{\sum W}} \quad (6.2.3.-2)$$

y se obtienen los límites de confianza aproximados a partir de los antilogaritmos de los valores dados por

$$\bar{M} \pm t S_{\bar{M}} \quad (6.2.3.-3)$$

donde el número de grados de libertad de t es igual a la suma del número de grados de libertad de los cuadrados medios del error de los ensayos individuales.

6.2.4 Media ponderada y límites de confianza basados en la variación intra e inter ensayo

Cuando los resultados de varios ensayos repetidos se combinan, el valor χ^2 puede ser significativo. Se considera entonces que la variación observada tiene dos componentes:

- La variación intra ensayo

$$s_M^2 = \frac{1}{W}$$

- La variación inter ensayo

$$s_M^2 = \frac{\sum (M - \bar{M})^2}{n'(n'-1)}$$

donde \bar{M} es la media no ponderada. La primera componente varía de ensayo a ensayo mientras que la última es común para todo M .

Para cada M se calcula entonces un coeficiente de ponderación como sigue

$$W' = \frac{1}{s_M^2 + s_M^2}$$

que sustituye a W en la Sección 6.2.3 donde t se considera que es aproximadamente 2.

6.3 Combinación no ponderada de resultados de ensayos

Para combinar las n' estimaciones de M a partir de n' ensayos de forma más sencilla se calcula la \bar{M} y se obtiene una estimación de su desviación estándar calculando

$$s_M^2 = \frac{\sum (M - \bar{M})^2}{n'(n'-1)} \quad (6.3.-1)$$

y los límites son:

$$\bar{M} \pm t S_{\bar{M}} \quad (6.3.-2)$$

Donde t tiene $(n'-1)$ grados de libertad. El número n' de estimaciones de M normalmente es pequeño, y por tanto, el valor de t es bastante grande.

6.4 Ejemplo de potencia media ponderada y límites de confianza de ensayos de líneas paralelas

En la *Tabla 6.4.-I* se recogen seis estimaciones independientes de la potencia de la misma preparación, junto con sus límites de confianza del 95 % y el número de grados de libertad de sus varianzas del error. Cumplen las condiciones 1, 2 y 3 de la *Sección 6.2*. Los \ln de las potencias y los pesos se calculan como se describe en la *Sección 6.2*.

Tabla 6.4.-I Potencia estimada e intervalos de confianza de seis ensayos independientes

Potencia estimada (UI/vial)	Límite inferior (UI/vial)	Límite superior (UI/vial)	Grados de libertad	\ln Potencia M	Peso W
18,367	17,755	19,002	20	9,8183	3777,7
18,003	17,415	18,610	20	9,7983	3951,5
18,064	17,319	18,838	20	9,8017	2462,5
17,832	17,253	18,429	20	9,7887	4003,0
18,635	17,959	19,339	20	9,8328	3175,6
18,269	17,722	18,834	20	9,8130	4699,5

Se evalúa la homogeneidad de las potencias estimadas con la fórmula 6.2.2.-1 la cual da un χ^2 de 4,42 con 5 grados de libertad. Esto es, no significativo ($p = 0,49$) por lo que se cumplen todas las condiciones.

La potencia media ponderada se calcula con la fórmula 6.2.3.-1, resulta 9,8085.

La fórmula 6.2.3.-2 da una desviación estándar de 0,00673 y límites de confianza, del 95 %, de 9,7951 y 9,8218 que se calculan con la fórmula 6.2.3.-3 donde t tiene 120 grados de libertad.

Al tomar los antilogaritmos se obtiene una potencia de 18187 IU/vial con límites de confianza de 17946 UI/vial y 18431 IU/vial.

6.5 Ejemplo de potencia media ponderada y límites de confianza de ensayos de relación de pendientes con igual potencia asumida

En la *Tabla 6.5.-I* se especifican seis estimaciones independientes de potencia de la misma preparación, con igual potencia asumida (250UI/vial), la potencia corregida por potencia asumida con sus límites de confianza del 95% y el número de grados de libertad de la varianza del error. Cumplen las condiciones 1,2 y 3 de la *Sección 6.2*.

Tabla 6.5.-I Potencia estimada y peso de cuatro ensayos independientes

Potencia estimada R	Potencia corregida por potencia asumida R'	Grados de libertad	Peso W
260,768	1,043072	7	492,826
260,656	1,042624	7	315,215
250,792	1,003168	7	423,044
260,068	1,040272	7	566,024
270,000	1,080000	7	320,000
240,800	0,963200	7	350,100

Se evalúa la homogeneidad de las potencias estimadas con la formula 6.2.2.-1 la cual da un χ^2 de 2,8584 con 5 grados de libertad, esto es “no significativo”, el χ^2 de tabla es 11,070 por lo que se cumplen todas las condiciones.

La potencia media ponderada se calcula con la fórmula 6.2.3.-1, multiplicada por la potencia supuesta resulta ser 257,25 UI/ vial.

La fórmula 6.2.3.2 da una desviación estándar de 0,02013 y los límites de confianza, del 95%, obtenidos por la formula 6.2.3.3, donde t tiene 42 grados de libertad, dan un resultado de 247,08 UI/vial y 267,41 UI/ vial cuando se multiplican por la potencia supuesta.

7 TABLAS

Las tablas de esta sección proporcionan un listado de valores críticos para los números de grados de libertad más frecuentes. Si un valor crítico no está en la lista debe buscarse en tablas más completas. Muchos programas de ordenador incluyen funciones estadísticas y se recomienda su uso en lugar de las tablas de esta sección.

7.1 Distribución F

Si un valor observado es mayor que el valor de la tabla se considera que es significativo (líneas superiores, $p=0,05$) y muy significativo (líneas inferiores, $p=0,01$). gl 1 es el número de grados de libertad del numerador y gl 2 es el número de grados de libertad del denominador.

Tabla 7.1 Niveles de significación de la relación de varianzas (F)

gl 1→ gl 2↓	1	2	3	4	5	6	8	10	12	15	20	∞
10	4,965 10,044	4,103 7,559	3,708 6,552	3,478 5,994	3,326 5,636	3,217 5,386	3,072 5,057	2,978 4,849	2,913 4,706	2,845 4,558	2,774 4,405	2,538 3,909
12	4,747 9,330	3,885 6,927	3,490 5,953	3,259 5,412	3,106 5,064	2,996 4,821	2,849 4,499	2,753 4,296	2,687 4,155	2,617 4,010	2,544 3,858	2,296 3,361
15	4,543 8,683	3,682 6,359	3,287 5,417	3,056 4,893	2,901 4,556	2,790 4,318	2,641 4,004	2,544 3,805	2,475 3,666	2,403 3,522	2,328 3,372	2,066 2,868
20	4,351 8,096	3,493 5,849	3,098 4,938	2,866 4,431	2,711 4,103	2,599 3,871	2,447 3,564	2,348 3,368	2,278 3,231	2,203 3,088	2,124 2,938	1,843 2,421
25	4,242 7,770	3,385 5,568	2,991 4,675	2,759 4,177	2,603 3,855	2,490 3,627	2,337 3,324	2,236 3,129	2,165 2,993	2,089 2,850	2,007 2,699	1,711 2,169
30	4,171 7,562	3,316 5,390	2,922 4,510	2,690 4,018	2,534 3,699	2,421 3,473	2,266 3,173	2,165 2,979	2,092 2,843	2,015 2,700	1,932 2,549	1,622 2,006
50	4,034 7,171	3,183 5,057	2,790 4,199	2,557 3,720	2,400 3,408	2,286 3,186	2,130 2,890	2,026 2,698	1,952 2,563	1,871 2,419	1,784 2,265	1,438 1,683
∞	3,841 6,635	2,996 4,605	2,605 3,782	2,372 3,319	2,214 3,017	2,099 2,802	1,938 2,511	1,831 2,321	1,752 2,185	1,666 2,039	1,571 1,878	1,000 1,000

7.2 Distribución t

Si un valor observado es superior al tabulado, se considera que es significativo ($p = 0,05$) y muy significativo ($p = 0,01$).

Tabla 7.2 Niveles de significación de t (valores absolutos)

gl	$p = 0,05$	$p = 0,01$	gl	$p = 0,05$	$p = 0,01$
1	12,706	63,656	22	2,074	2,819
2	4,303	9,925	24	2,064	2,797
3	3,182	5,841	26	2,056	2,779
4	2,776	4,604	28	2,048	2,763
5	2,571	4,032	30	2,042	2,750
6	2,447	3,707	35	2,030	2,724
7	2,365	3,499	40	2,021	2,704
8	2,306	3,355	45	2,014	2,690
9	2,262	3,250	50	2,009	2,678
10	2,228	3,169	60	2,000	2,660
12	2,179	3,055	70	1,994	2,648
14	2,145	2,977	80	1,990	2,639
16	2,120	2,921	90	1,987	2,632
18	2,101	2,878	100	1,984	2,626
20	2,086	2,845	∞	1,960	2,576

7.3 Distribución χ^2

Si un valor observado es superior a uno tabulado, se considera que es significativo ($p=0,05$) y muy significativo ($p=0,01$).

Tabla 7.3 Niveles de significación de χ^2

<i>gl</i>	<i>p =0,05</i>	<i>p =0,01</i>	<i>gl</i>	<i>p =0,05</i>	<i>p =0,01</i>
1	3,841	6,635	11	19,675	24,725
2	5,991	9,210	12	21,026	26,217
3	7,815	11,345	13	22,362	27,688
4	9,488	13,277	14	23,685	29,141
5	11,070	15,086	15	24,996	30,578
6	12,592	16,812	16	26,296	32,000
7	14,067	18,475	20	31,410	37,566
8	15,507	20,090	25	37,652	44,314
9	16,919	21,666	30	43,773	50,892
10	18,307	23,209	40	55,758	63,691

7.4 Distribución Φ (Distribución normal estándar acumulada)

X	Φ	X	Φ	X	Φ
0,00	0,500	1,00	0,841	2,00	0,977
0,05	0,520	1,05	0,853	2,05	0,980
0,10	0,540	1,10	0,864	2,10	0,982
0,15	0,560	1,15	0,875	2,15	0,984
0,20	0,579	1,20	0,885	2,20	0,986
0,25	0,599	1,25	0,894	2,25	0,988
0,30	0,618	1,30	0,903	2,30	0,989
0,35	0,637	1,35	0,911	2,35	0,991
0,40	0,655	1,40	0,919	2,40	0,992
0,45	0,674	1,45	0,926	2,45	0,993
0,50	0,691	1,50	0,933	2,50	0,994
0,55	0,709	1,55	0,939	2,55	0,995
0,60	0,726	1,60	0,945	2,60	0,995
0,65	0,742	1,65	0,951	2,65	0,996
0,70	0,758	1,70	0,955	2,70	0,997
0,75	0,773	1,75	0,960	2,75	0,997
0,80	0,788	1,80	0,964	2,80	0,997
0,85	0,802	1,85	0,968	2,85	0,998
0,90	0,816	1,90	0,971	2,90	0,998
0,95	0,829	1,95	0,974	2,95	0,998

El valor Φ para valores negativos de x se calcula en la tabla como

$$1 - \Phi(-x)$$

8 GLOSARIO DE SÍMBOLOS

a = Intersección de la línea de regresión de la respuesta con respecto a las dosis o al ln (dosis)

b = Pendiente de la línea de regresión de la respuesta con respecto a las dosis o al ln (dosis)

d = Número de niveles de dosis para cada preparación (excepto el blanco de los ensayos de relación de pendientes)

e = Base de los logaritmos naturales (= 2,71828182845905...)

g = Estadístico usado en el teorema de Fieller: $g = C - 1/C$

gl = Grados de libertad

h = Número de preparaciones de un ensayo incluyendo la preparación estándar
 m = Potencia estimada obtenida como una relación de efectos en los modelos lineales generales
 n = Número de replicados de cada tratamiento
 n' = Numero de ensayos
 p = Probabilidad de que un estadístico dado sea mayor que el valor observado. También se utiliza como el cociente r/n en análisis de probitos
 r = Número de unidades con respuesta por grupo de tratamiento, en ensayos que dependen de respuestas cuantales
 s = Estimación de la desviación estándar = $\sqrt{s^2}$
 s^2 = Estimación de la varianza residual dada por el cuadrado medio del error en análisis de varianza
 t = Estadístico de Student (*Tabla 7.2.*)
 v_{11}, v_{12}, v_{22} = Multiplicadores de (co)varianza para el numerador y el denominador del cociente m en el teorema de Fieller
 w = Coeficiente de ponderación
 x = ln (dosis)
 y = Respuesta individual o respuesta transformada
 A = Potencias asumidas de las preparaciones a ensayar cuando se preparan las dosis
 B = Respuesta media de los blancos en los ensayos de relación de pendiente
 C = Estadístico usado en el cálculo de intervalos de confianza: $C=1/1 - g$
 C_1, \dots, C_n = Respuesta media de cada columna en el diseño de cuadrado latino
 D_1, D_2 = Respuesta media a tiempo 1 o a tiempo 2 en el diseño cruzado doble
 F = Relación de dos estimaciones independientes de varianza que sigue una distribución F (*Tabla 7.1*)
 $G_S, G_{T..}$ = Valores de los tratamientos utilizados en el análisis de varianza para ensayos de relación de pendientes
 H_p, H_L = Multiplicadores utilizados en el análisis de varianza para ensayos de líneas paralelas
 H_B, H_I = Multiplicadores utilizados en el análisis de varianza para ensayos de relación de pendientes
 I = En ensayos de líneas paralelas, ln del cociente entre dosis adyacentes. En ensayos de relación de pendientes, el intervalo entre dosis adyacentes
 J_S, J_T = Valores de linealidad utilizados en el análisis de varianza para ensayos de relación de pendientes
 K = Término de corrección usado en el cálculo de sumas de cuadrados en el análisis de varianzas
 L = Logaritmo de la longitud del intervalo de confianza
 L_S, L_T, \dots = Contrastes lineales del estándar y de las preparaciones ensayadas
 M = Logaritmo de la relación de potencia para una preparación ensayadas
 N = Número total de tratamientos en el ensayo (= dh)
 $P_S, P_{T..}$ = Suma de las respuestas medias del estándar ($S_1 + S_2 + \dots + S_d$) y de cada preparación ensayada
 R = Potencia estimada para una preparación ensayada
 R' = Relación de potencia para una preparación ensayada
 R_1, \dots, R_n = Respuesta media de cada fila l a n en un diseño de cuadrado latino o de cada bloque en un diseño de bloques aleatorizados
 S = Preparación estándar

S_1, \dots, S_d = Respuesta media a la dosis más baja 1, hasta la más alta d , de la preparación estándar S

SC = Suma de cuadrados debida a la fuente de variación dada

$T, U, V \dots$ = Preparaciones a ensayar

T_1, \dots, T_d = Respuesta media a la dosis más baja 1, hasta la más alta d , de la preparación a ensayar T

V = Coeficiente de varianza en el cálculo de los límites de confianza

W = Factor de ponderación en la combinación de resultados del ensayo

X = Estructura lineal o matriz del diseño usado en modelos lineales generales

Y, Y' = Vector que representa las respuestas (transformadas) en modelos lineales generales

Z = La primera derivada de Φ

$\pi = 3,141592653589793238 \dots$

Φ = Función de distribución normal estándar acumulada (*Tabla 7.4*)

χ^2 = Estadístico Chi-cuadrado (*Tabla 7.3*)

20. ANÁLISIS TÉRMICO

Las Técnicas Termoanalíticas se basan en el calentamiento o enfriamiento de muestras a velocidades programables o en condiciones isotérmicas, dentro de rangos de temperatura y atmósferas (aire, nitrógeno, etc.) adecuados. Estos procesos, a través de las transiciones, cambios de estado, interacciones que en ellos se produjeran, etc., permiten obtener información cuali y cuantitativa sobre propiedades de las sustancias y características de las muestras, tales como: estados cristalinos y amorfos, temperatura de fusión, calor específico, pureza, estabilidad, composición y transformaciones polimórficas, composición isomérica, transiciones vítreas, sublimación, interacciones sólido – sólido, etc.. Algunas de estas

propiedades contribuyen corrientemente a la identificación de sustancias.

Estas técnicas tienen las ventajas de utilizar pequeñas cantidades de muestra (del orden del miligramo) que se utilizan frecuentemente sin tratamiento previo y de poseer alta sensibilidad, precisión y exactitud.

Las técnicas de Análisis Térmico que se emplean con mayor frecuencia son: la Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB), el Análisis Térmico Diferencial (ATD), el Análisis Termogravimétrico (ATG), el Análisis Termomecánico (ATM) y la Microscopía de Platina Calentable (MPC). Las propiedades medidas por estas técnicas se indican en la *Tabla 1*.

Tabla 1.

Técnica	Propiedad medida/estudiada
CDB	cambios de energía (absorción o liberación de calor)
ATD	diferencia de temperaturas entre muestra y referencia
ATG	masa (variación en el peso de la muestra)
ATM	deformación (variación en las dimensiones físicas)
MPC	cambios visuales (morfológicos o de color)

Durante los análisis, las propiedades medidas por cada método son registradas en función de la temperatura y/o el tiempo, permitiendo, para las cuatro primeras técnicas presentadas, la visualización de los barridos en gráficos cuya interpretación contribuye en gran medida a la elaboración de las conclusiones.

La información producida por los gráficos antedichos, se resume en la *Tabla 2*, excepto para el Análisis Térmico Diferencial, cuyas aplicaciones varían según las características de los aparatos.

Tabla 2.

Información	CDB	ATG	ATM
Calor específico	SI		
Temperatura de fusión	SI		en polímeros
Calor de fusión, cristalinidad	SI		
Evolución de la fusión, fracción líquida	SI		
Análisis de la composición	SI	SI	
Identificación y pureza de cristales (material no polimérico)	SI	SI	
Evaporación, desorción, secado, sublimación	SI	SI	
Polimorfismo	SI		SI
Pseudopolimorfismo	SI	SI	
Calores de transición	SI		
Transiciones polimórficas	SI		
Mesofases en cristales líquidos	SI		
Transiciones vítreas, suavizado	SI		SI
Estabilidad y descomposición térmica, pirólisis, despolimerización	SI	SI	SI
Análisis de productos de descomposición gaseosos liberados (por asociación con otros equipos)		SI	

Coefficiente de expansión lineal			SI
Comportamiento viscoelástico			SI
Compatibilidad de sustancias entre sí y de sustancias con el material de empaque	SI	SI	en polímeros
Polimerización, curado	SI		SI
Cinética de reacción	SI		SI

Dado que los resultados dependen en ciertos casos de las condiciones bajo las cuales se realizaron los ensayos, es necesario incluir en cada registro térmico una descripción completa de las mismas, entre las que se encuentran: marca y modelo del aparato, tamaño e identificación de la muestra, material, capacidad y estado del crisol empleado para contener la muestra, programa de temperaturas, composición y caudal del gas empleado, presión del sistema y sensibilidad de las determinaciones.

Calorimetría diferencial de Barrido (CDB)

La técnica se basa en mantener iguales las temperaturas de la muestra y la referencia cuando se someten ambas a procesos de calentamiento o enfriamiento (dinámicos, isotérmicos o ambos combinados). El procedimiento se realiza en un horno provisto de un sensor de alta sensibilidad, donde se ubican tanto el crisol con la muestra, como el crisol de referencia, vacío. Dado que las transiciones físicas y las reacciones químicas de las muestras van siempre acompañadas de absorciones o desprendimientos de energía adicionales a los mencionados procesos, es función del equipo medir las diferencias de flujo de calor necesarias para mantener en todo momento la misma temperatura en ambos crisoles.

Determinación de Pureza (análisis de impurezas eutécticas) -

La fusión de un compuesto cristalino puro debe producirse dentro de un intervalo de temperatura muy reducido, correspondiente a la temperatura de fusión T_0 , pero la presencia de *impurezas eutécticas* (aquellas solubles en la fase líquida formada durante la fusión, pero no en la fase sólida del componente principal) expande el mencionado intervalo y produce un descenso en la temperatura de finalización de la fusión (Punto de Fusión). Las determinaciones de pureza a través de DSC se basan en la relación entre el descenso del Punto de Fusión y la cantidad de *impurezas eutécticas*, lo cual tiene su expresión matemática a través de la Ley de Van't Hoff en su forma simplificada (1), que permite predecir el efecto de las impurezas sobre T_m :

$$T_m = T_0 - \frac{RT_0^2}{\Delta H_f} x_2 \frac{1}{F}$$

en la cual:

T_m = temperatura de la muestra en cualquier punto de equilibrio durante la fusión (en °K)

T_0 = temperatura de fusión del componente principal puro (en °K)

R = constante de los gases (8,134 J/°K mol)

ΔH_f = calor molar de fusión de la muestra

x_2 = fracción molar de la impureza eutéctica en la muestra completamente fundida

F = fracción fundida

Esta ecuación permite obtener parámetros de fusión tales como:

T_f , Temperatura de Fusión (Punto de Fusión), cuando $F = 1$

T_0 , surge de la extrapolación de la función cuando $x_2 = 0$

ΔH_f , surge de la integración del área de la endoterma de fusión

y permite además calcular la Pureza Eutéctica

Pureza Eutéctica = $(1 - x_2) 100$ moles %
(sobre sustancia tal cual)

En la fórmula anterior se observa que la disminución del punto de fusión es directamente proporcional a la fracción molar de la impureza.

Los resultados de estas determinaciones son suficientemente exactos cuando las impurezas no exceden aproximadamente el 1,5% en moles. Las *impurezas* de síntesis y de degradación, entre otras, guardan cierta similitud con el producto final y generalmente no presentan problemas de solubilidad en el material fundido, siendo, en estos casos, a través de un comportamiento eutéctico, globalmente cuantificables por esta técnica

Las *impurezas no eutécticas* no son evaluables a través de CDB. Su efecto puede ser incluso el de aumentar el punto de fusión. Ejemplos de *impurezas no eutécticas* son los cristales mixtos y las soluciones sólidas.

A las sustancias que presentan simultáneamente más de un *estado polimórfico* no se les determina la pureza, a menos que se conviertan completamente en la modificación estable durante la fusión.

El análisis de pureza no debe aplicarse a muestras que funden presentando simultáneamente fenómenos de evaporación y/o descomposición.

Polimorfismo -

Las técnicas de CDB y de ATD son particularmente útiles para detectar y caracterizar el *polimorfismo* (capacidad de una molécula de formar distintas estructuras al estado sólido), dado que registran los cambios de entalpía producidos por las transformaciones sólido-sólido, las fusiones y las recristalizaciones. Esas diferentes estructuras internas que presenta gran parte de las moléculas, pueden corresponder a diferentes Puntos de Fusión, solubilidades, reactividades químicas, estabildades, etc., lo cual puede a su vez impactar en propiedades farmacéuticas tales como velocidad de disolución y biodisponibilidad.

Polímeros -

La posibilidad de detectar y evaluar temperaturas de transiciones vítreas, fusiones, recristalizaciones, calores específicos, grado de polimerización, curado etc., le confiere a esta técnica una particular utilidad en el análisis de *polímeros*, lo cual se refleja en la utilidad que presta en el desarrollo y control de la Industria Farmacéutica.

Análisis Térmico Diferencial (ATD)

Este análisis mide la diferencia de temperatura entre la muestra en ensayo y una referencia inerte (crisol de referencia), ambas calentadas bajo las mismas condiciones, mientras que la CDB permite cuantificar las absorciones y desprendimientos de calor. Actualmente, de los análisis de ATD también pueden obtenerse resultados calorimétricos cuantificables que permiten aplicarlo también, como se ha mencionado, en áreas en las que presta especial utilidad la CDB, como las de *polimorfismo* y *polímeros*.

Análisis termogravimétrico (ATG)

Este análisis registra el peso de la muestra en función de la temperatura o del tiempo de calentamiento, mediante el empleo de una termobalanza. Incluye programas de calentamiento dinámico, de temperatura fija (proceso isotérmico) o mezclas de ambos. Suministra más información que la pérdida por secado a una temperatura determinada, ya que detecta las temperaturas a las que se desprenden las sustancias volátiles retenidas, además de cuantificar los respectivos desprendimientos.

Muchas sustancias tienen la capacidad de formar hidratos y/o solvatos. En los primeros, el agua está presente no sólo en su superficie como

humedad, sino también en el cristal. Esta propiedad, conocida como *pseudopolimorfismo*, puede conducir a complejos procesos de fusión.

A través de este análisis, especialmente cuando está combinado con CDB, es generalmente posible distinguir entre la pérdida de solvente adsorbido en la superficie, la pérdida de solvente ocluido en el cristal y las pérdidas de masa producidas por descomposición de la sustancia.

Las mediciones se llevan a cabo bajo el flujo programado de un gas apropiado. El cálculo de la pérdida porcentual G, se efectúa a través de la fórmula siguiente:

$$G (\% \text{ de pérdida}) = 100 \Delta m/m_0$$

en la cual Δm es la pérdida de masa y m_0 es el peso inicial de la muestra.

Dado que el Análisis Termogravimétrico no identifica específicamente los productos de reacción, pueden analizarse los gases desprendidos trabajando en combinación con técnicas tales como la Espectrometría de Masa o la Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier.

Los equipos constan de una microbalanza asociada a una fuente de calor programable. Estos difieren, principalmente, en el intervalo de masas aceptable para las muestras a analizar y las formas de detección de la temperatura y de la masa de la muestra.

Análisis Termomecánico (ATM)

Este análisis mide los cambios dimensionales (dilatación o contracción) de una muestra expuesta o no a la acción de pequeñas cargas, en función de la temperatura o el tiempo. Se utiliza fundamentalmente en polímeros, por lo cual su relevancia en la Industria Farmacéutica se basa en su aplicación a sistemas de liberación poliméricos, envases y prótesis médicas. Además de permitir la detección de transiciones vítreas, es importante en el cálculo de Coeficientes de expansión y de Conversión.

Microscopía de platina calentable

Esta técnica reúne la visualización de la muestra a través de un microscopio en paralelo a la posibilidad de programar el calentamiento y/o el enfriamiento de la misma.

Ventajas que presenta:

- visualizar, para su estudio, los procesos de fusión y cristalización.
- detectar, durante el calentamiento o el enfriamiento, procesos que generan pequeños o ningún cambio de entalpía (cambios morfológicos y de color).

- contribuir a la interpretación de señales o picos que aparecen en otras técnicas de Análisis Térmico asociados con transiciones térmicas, en particular las polimórficas.
-
- detección de cristales birrefringentes a través del uso de luz polarizada, lo cual es de especial interés en el estudio del polimorfismo utilizando la técnica de formación de “films cristalinos”.

70. CONDUCTIVIDAD

La resistividad eléctrica ρ de una solución acuosa es por definición la resistencia en corriente alterna medida en ohms entre las caras opuestas de un cubo de un centímetro de lado de una solución acuosa a una temperatura especificada.

La conductividad κ , de una solución es por definición la función inversa de la resistividad ρ . La resistencia R , de un conductor de sección transversal A , y longitud L , está dada por la siguiente expresión:

$$R = \rho \frac{L}{A}$$

o sea,

$$R = \frac{1}{\kappa} \frac{L}{A} \quad \text{ó} \quad \kappa = \frac{1}{R} \frac{L}{A}$$

La unidad de conductividad en el Sistema Internacional es el siemens por metro (S m^{-1}). En la práctica la conductividad eléctrica de una solución se expresa en siemens por centímetro (S cm^{-1}) o en microsiemens por centímetro ($\mu\text{S cm}^{-1}$). La unidad de resistividad en el Sistema Internacional es el ohm por metro ($\Omega \text{ m}$) y para el caso de la resistividad de soluciones es el ohm por centímetro ($\Omega \text{ cm}$). A menos que se especifique de otro modo, la temperatura para la expresión de la conductividad o la resistividad es de $25,0^\circ\text{C}$ y debe estabilizarse dentro de $\pm 0,1^\circ\text{C}$.

Aparato - Emplear un instrumento que puede ser un puente Wheatstone de operación manual o equivalente, o un instrumento de medición de lectura directa analógica o digital, el cual mide la resistencia de una columna de líquido entre los electrodos de un dispositivo de medida sumergido (celda conductimétrica).

El aparato se provee con corriente alterna para evitar los efectos de polarización del electrodo y está equipado con un dispositivo de compensación de temperatura o un termómetro de precisión.

La celda conductimétrica contiene dos electrodos paralelos de platino, recubiertos con

negro de platino, cada uno con un área A , y separados uno de otro por una distancia L . Ambos están generalmente protegidos por un tubo de vidrio que permite un buen intercambio entre la solución y los electrodos.

Las celdas de platino con negro de platino no deben usarse para la medición de conductividades por debajo de $10 \mu\text{S cm}^{-1}$ a menos que pueda usarse una celda con sólo trazas de negro de platino para mediciones entre $0,1$ y $10 \mu\text{S cm}^{-1}$; las celdas para las mediciones en este rango deben reservarse con exclusividad para este uso.

Debe considerarse la influencia de dióxido de carbono presente en el aire al medir aguas de muy baja conductividad ya que éste puede producir un aumento significativo de la conductividad medida al disolverse en el agua. Donde sea posible, debe evitarse el contacto del aire con el agua de baja conductividad mediante celdas de flujo o bien aislando la superficie expuesta mediante gases inertes químicamente puros, tales como el nitrógeno o el helio.

La constante C , de la celda conductimétrica se expresa en cm^{-1} de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$C = \alpha \frac{L}{A}$$

en la cual α es un coeficiente adimensional característico del diseño de la celda.

Preparación de soluciones estándar

Solución estándar A - Preparar una solución que contenga $0,7440 \text{ g}$ de cloruro de potasio por cada litro de solución a 20°C , empleando agua libre de dióxido de carbono, preparada con agua cuya conductividad no excede de $2 \mu\text{S cm}^{-1}$.

Solución estándar B - Diluir 100 ml de la Solución estándar A a 1 litro a 20°C .

La conductividad de las dos soluciones estándar de cloruro de potasio, a las temperaturas de 0°C , 18°C y 25°C se indican en la Tabla.

Tabla.

<u>Solución estándar</u>	<u>Normalidad aproximada de la solución</u>	<u>Temperatura °C</u>	<u>Conductividad $\mu\text{S cm}^{-1}$</u>
<u>A</u>	<u>0,01</u>	<u>0</u>	<u>773,6</u>
		<u>18</u>	<u>1.220,5</u>
		<u>25</u>	<u>1.408,8</u>
<u>B</u>	<u>0,001</u>	<u>0</u>	<u>77,69</u>
		<u>18</u>	<u>127,54</u>
		<u>25</u>	<u>146,93</u>

Las conductividades indicadas de la Tabla no incluyen la conductividad del agua usada para preparar las soluciones.

Procedimiento

Determinación de la constante de la celda –
Elegir una celda conductimétrica apropiada para la conductividad de la solución muestra a medir. Cuanto mayor sea la conductividad esperada, mayor debe ser la constante de la celda elegida (baja ρ), para que el valor de R medido sea tan grande como sea posible para el aparato empleado. Las celdas conductimétricas comúnmente empleadas, tienen una constante del orden de 0,1; 1 y 10 cm^{-1} . Emplear una solución estándar de cloruro de potasio apropiada. Enjuagar varias veces la celda con agua libre de dióxido de carbono, y al menos dos veces con la solución estándar de cloruro de potasio empleada para determinar la constante de la celda conductimétrica. Medir la resistencia de la celda conductimétrica con la solución estándar de cloruro de potasio a $25,0 \pm 0,1$ °C o a la temperatura especificada en la monografía correspondiente. Repetir la medición con porciones

adicionales de la solución estándar de cloruro de potasio hasta que el valor obtenido permanezca constante. La constante de la celda conductimétrica C , en cm^{-1} , está dada por la expresión:

$$C = R_{KCl} \kappa_{KCl}$$

en la cual R_{KCl} es la resistencia medida, en megohms, y κ_{KCl} es la conductividad de la solución estándar de cloruro de potasio empleada, expresada en $\mu\text{S cm}^{-1}$.

La medida de la constante de la celda conductimétrica C , deberá estar comprendida dentro del ± 2 % del valor indicado.

Determinación de la conductividad de la solución a ensayar - Luego de calibrar el aparato con una de las soluciones estándar, enjuagar la celda conductimétrica varias veces con agua libre de dióxido de carbono y al menos dos veces con la solución muestra a $25,0 \pm 0,1$ °C o a la temperatura especificada en la monografía correspondiente. Proceder con las sucesivas mediciones según como se especifique en la monografía correspondiente.

75. CONDUCTIVIDAD EN AGUA CALIDAD FARMACÉUTICA

En este ensayo se incluyen dos etapas preliminares. Si las condiciones de ensayo y los límites de conductividad se cumplen en cualquiera de las etapas preliminares, el Agua Calidad Farmacéutica cumple con los requisitos del ensayo cuando se especifique en la monografía. En estas circunstancias es innecesario proceder con la tercera etapa. La muestra no cumple con los requisitos del ensayo sólo si no cumple con la tercera etapa.

Procedimiento

ETAPA 1

1. Determinar la temperatura y la conductividad del agua realizando una lectura de conductividad no compensada por temperatura. La medida puede llevarse a cabo en un recipiente apropiado o como una medida en línea.

2. Empleando la *Tabla 1. Etapa 1. Requisitos de conductividad y temperatura*, encontrar el valor de temperatura inmediata inferior a la temperatura medida. El valor de conductividad correspondiente es el límite a esa temperatura.

3. Si la conductividad medida no es mayor que el valor de la *Tabla 1*, el agua cumple los requisitos del ensayo de conductividad. Si la conductividad es mayor que el valor indicado en la *Tabla 1*, proceder con la *Etapa 2*.

ETAPA 2

4. Transferir una cantidad suficiente de agua (100 ml o más) a un envase apropiado y agitar. Ajustar la temperatura, si fuera necesario, y mientras se la

mantiene a 25 ± 1 °C, comenzar a agitar vigorosamente la muestra y observar periódicamente la conductividad. Cuando el cambio en la conductividad (debido a la captación del dióxido de carbono atmosférico) es menor que el valor neto de $0,1 \mu\text{S}/\text{cm}$ durante 5 minutos, registrar la conductividad.

5. Si la conductividad no es mayor que $2,1 \mu\text{S}/\text{cm}$, el agua cumple con los requisitos del ensayo de conductividad. Si la conductividad es mayor que $2,1 \mu\text{S}/\text{cm}$, proceder con la *Etapa 3*.

ETAPA 3

6. Realizar este ensayo dentro de los 5 minutos aproximadamente de la determinación de la conductividad en el *Paso 5*, mientras se mantiene la temperatura de la muestra a 25 ± 1 °C. Agregar una solución saturada de cloruro de potasio a la misma muestra de agua (0,3 ml por cada 100 ml de muestra), y determinar el pH con una exactitud de 0,1 unidades de pH, según se indica en 250. *Determinación del pH*.

7. Empleando la *Tabla 2. Etapa 3. Requisitos de conductividad y pH*, determinar el límite de la conductividad al valor de pH medido. Si la conductividad medida en el *Paso 4* no es mayor que los requisitos de conductividad para el pH determinado en el *Paso 6*, el agua cumple con los requisitos para el ensayo de conductividad. Si la conductividad medida es mayor que este valor o el pH se encuentra fuera del intervalo entre 5,0 y 7,0, el agua no cumple con los requisitos para el ensayo de conductividad.

Tabla 1. Etapa 1. Requisitos de conductividad y temperatura (para medidas de conductividad no compensada por temperatura)

Temperatura (°C)	Requisito de conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$)*
0	0,6
5	0,8
10	0,9
15	1,0
20	1,1
25	1,3
30	1,4
35	1,5
40	1,7
45	1,8
50	1,9

55	2,1
60	2,2
65	2,4
70	2,5
75	2,7
80	2,7
85	2,7
90	2,7
95	2,9
100	3,1

* $\mu\text{S/cm}$ (microSiemen por centímetro) = $\mu\text{mho/cm}$ = recíproco de Megaohm-cm.

Tabla 2. Etapa 3. Requisitos de conductividad y pH
(para muestras equilibradas con la atmósfera y con la temperatura)

pH	Requisito de conductividad ($\mu\text{S/cm}$)*
5,0	4,7
5,1	4,1
5,2	3,6
5,3	3,3
5,4	3,0
5,5	2,8
5,6	2,6
5,7	2,5
5,8	2,4
5,9	2,4
6,0	2,4
6,1	2,4
6,2	2,5
6,3	2,4
6,4	2,3
6,5	2,2
6,6	2,1
6,7	2,6
6,8	3,1
6,9	3,8
7,0	4,6

* $\mu\text{S/cm}$ (microSiemen por centímetro) = $\mu\text{mho/cm}$ = recíproco de Megaohm-cm.

90. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS NO OBLIGATORIAMENTE ESTÉRILES

En este capítulo se especifican los ensayos necesarios para estimar el número de microorganismos viables presentes, determinar ausencia de gérmenes revivificables y de ciertas especies microbianas en cualquier tipo de materia prima o producto farmacéutico no obligatoriamente estéril.

A menos que se especifique de otro modo, el término incubar implica colocar el recipiente en aire termostáticamente controlado a las temperaturas y períodos de tiempo especificados oportunamente.

PREPARACIÓN MUESTRA

Preparar la muestra a ensayar mediante un tratamiento que se ajuste a sus características físicas y que no altere el número y tipo de microorganismos originalmente presentes, a fin de obtener una solución o suspensión apropiada.

En el caso de líquidos, soluciones verdaderas, suspensiones en agua o en un vehículo hidroalcohólico que contenga menos de 30 % de alcohol y en el caso de un sólido que se disuelve en *Solución reguladora de fosfato pH 7,2* o en el medio especificado proceder según se indica en *Recuento de microorganismos aerobios totales, Recuento combinado de hongos filamentosos y levaduras y Ensayos para investigar la presencia de microorganismos específicos*.

En el caso de líquidos no miscibles en agua, como ungüentos, cremas y ceras, preparar una suspensión con la ayuda de una cantidad mínima de un agente emulsionante estéril apropiado (por ej: polisorbato), mezclar y, si fuera necesario, calentar a temperatura menor o igual a 45 °C. Proceder según se indica en *Recuento de microorganismos aerobios totales, Recuento combinado de hongos filamentosos y levaduras y Ensayos para investigar la presencia de microorganismos específicos*.

En el caso de sólidos que no se disuelven por completo, reducir la muestra a polvo moderadamente fino, suspender en el vehículo adecuado y proceder según se indica en *Recuento de microorganismos aerobios totales, Recuento combinado de hongos filamentosos y levaduras y Ensayos para investigar la presencia de microorganismos específicos*.

En el caso de aerosoles líquidos, transferir asépticamente el producto a un aparato de filtro de membrana o a un envase estéril para el muestreo adicional. Utilizar el contenido total o un número definido de dosis medidas de cada uno de los envases probados, suspender en el vehículo adecuado y

proceder según se indica en *Recuento de microorganismos aerobios totales, Recuento combinado de hongos filamentosos y levaduras y Ensayos para investigar la presencia de microorganismos específicos*.

En el caso de parches transdérmicos, quitar las hojas de la cubierta protectora de los parches y colocar el lado adhesivo hacia arriba sobre una placa estéril. Cubrir la superficie adhesiva con un material poroso estéril (ej: gasa estéril) para evitar que los parches se adhieran. Transferir los parches a un volumen conveniente del diluyente elegido que contiene inactivadores tales como polisorbato y/o lecitina. Agitar vigorosamente la preparación por no menos de 30 minutos. Proceder según se indica en *Recuento de microorganismos aerobios totales, Recuento combinado de hongos filamentosos y levaduras y Ensayos para investigar la presencia de microorganismos específicos*.

SOLUCIÓN REGULADORA Y MEDIOS DE CULTIVO

Solución reguladora de fosfato pH 7,2

Transferir 34 g de fosfato monobásico de potasio a un matraz aforado de 1 litro y disolver en aproximadamente 500 ml de agua. Agregar aproximadamente 175 ml de hidróxido de sodio (SR) para ajustar a pH $7,2 \pm 0,1$, completar a volumen con agua y mezclar. Fraccionar y esterilizar. Almacenar en un ambiente refrigerado. Para usar, diluir esta solución con agua en una proporción de 1 en 800 y esterilizar.

Medios de Cultivo

Pueden emplearse medios de cultivo listos para usar, deshidratados reconstituidos según indicación del elaborador o prepararse según se indica en este capítulo.

Al preparar el medio de cultivo con las fórmulas aquí indicadas, se deben disolver los sólidos solubles en agua, empleando calor si fuera necesario, para obtener la disolución total y agregar soluciones de ácido clorhídrico o hidróxido de sodio en cantidades suficientes hasta alcanzar el pH deseado. Determinar el pH a 25 ± 2 °C.

Si en una fórmula se indica agar, se debe emplear uno con un contenido de humedad menor o igual a 15 %.

Antes de esterilizar el medio agarizado se debe hidratar a temperatura ambiente y fundir para evitar la formación de grumos y favorecer su homogeneización. Salvo que se indique lo contrario, todos los

medios de cultivo deben ser esterilizados, según indicaciones del fabricante, en autoclave en ciclos validados.

I. Agar Digerido de Caseína-Soja

Digerido pancreático de caseína.....	15,0 g
Digerido papaínico de soja.....	5,0 g
Cloruro de sodio.....	5,0 g
Agar.....	15,0 g
Agua.....	1000 ml
pH después de la esterilización: 7,3 ± 0,2	

II. Agar Papa-Dextrosa

Cocer 300 g de papas peladas y cortadas en rodajas en 500 ml de agua. Filtrar a través de gasa, agregar agua en cantidad suficiente para obtener 1000 ml y agregar:

Agar.....	15,0 g
Glucosa.....	20,0 g
pH después de la esterilización: 5,6 ± 0,2	

Disolver por calentamiento y esterilizar.

Antes de verter en las placas, ajustar el medio fundido y enfriado a 45 °C con solución estéril de ácido tartárico (1 en 10) a pH 3,5 ± 0,1. No volver a calentar el medio.

III. Agar Sabouraud-Dextrosa

Glucosa.....	40,0 g
Mezcla de partes iguales de digerido péptico de carne y digerido pancreático de caseína.....	10,0 g
Agar.....	15,0 g
Agua.....	1000 ml
pH después de la esterilización: 5,6 ± 0,2	

Mezclar y calentar a ebullición para facilitar la disolución.

IV. Agar Cristal Violeta-Rojo Neutro-Bilis-Glucosa

Digerido pancreático de gelatina.....	7,0 g
Extracto de levadura	3,0 g
Cloruro de sodio	5,0 g
Glucosa monohidrato.....	10,0 g
Mezcla de sales biliares.....	1,5 g
Rojo neutro	30,0 mg
Cristal violeta.....	2,0 mg
Agar.....	15,0 g
Agua.....	1000ml
pH final: 7,4 ± 0,2	

Disolver y calentar durante 30 minutos a vapor fluente. No esterilizar en autoclave.

V. Agar Cetrimida

Digerido pancreático de gelatina.....	20,0 g
Cloruro de magnesio.....	1,4 g
Sulfato de potasio.....	10,0 g
Agar.....	13,6 g
Bromuro de cetiltrimetilamonio (cetrimida).....	0,3 g
Glicerina.....	10 ml
Agua.....	1000 ml
pH después de la esterilización: 7,2 ± 0,2	

Disolver los componentes sólidos en agua y agregar la glicerina. Calentar a ebullición durante 1 minuto agitando frecuentemente para facilitar la disolución.

VI. Agar Columbia con gentamicina

Digerido pancreático de caseína.....	10,0 g
Digerido péptico de carne.....	5,0 g
Digerido pancreático de corazón	3,0 g
Extracto de levadura.....	5,0 g
Almidón de maíz.....	1,0 g
Cloruro de sodio.....	5,0 g
Agar, de acuerdo con la capacidad de gelificación	10,0 a 15,0 g
Agua.....	1000 ml
pH después de la esterilización: 7,3 ± 0,2	

Hidratar el agar y disolver calentando hasta ebullición y revolviendo completamente. Dejar enfriar a 45 – 50 °C, agregar, cuando sea necesario, sulfato de gentamicina correspondiente a 20 mg de gentamicina base y verter en placas de Petri.

VII. Agar Manitol-Salado

Digerido pancreático de caseína.....	5,0 g
Digerido péptico de carne.....	5,0 g
Extracto de carne	1,0 g
D-Manitol.....	10,0 g
Cloruro de sodio.....	75,0 g
Agar	15,0 g
Rojo de fenol.....	25,0 mg
Agua.....	1000 ml
pH después de la esterilización: 7,4 ± 0,2	

Mezclar y luego calentar agitando frecuentemente. Calentar a ebullición durante 1 minuto hasta lograr la disolución.

VIII. Agar Mac Conkey

Digerido pancreático de gelatina.....	17,0 g
Digerido pancreático de caseína.....	1,5 g
Digerido péptico de carne.....	1,5 g
Lactosa monohidrato.....	10,0 g
Mezcla de sales biliares.....	1,5 g
Cloruro de sodio.....	5,0 g
Agar.....	13,5 g
Rojo neutro.....	30,0 mg
Cristal violeta.....	1,0 mg
Agua.....	1000 ml

pH después de la esterilización: $7,1 \pm 0,2$

Calentar la mezcla de todos los componentes y el agua hasta ebullición y seguir calentando durante 1 minuto para facilitar la disolución.

IX. Agar Sulfito-Polimixina-Sulfadiacina

Peptona de caseína.....	15,0 g
Extracto de levadura.....	10,0 g
Citrato férrico.....	0,5 g
Sulfito de sodio.....	0,5 g
Polimixina B sulfato.....	10,0 mg
Sulfadiacina sódica.....	0,12 g
Agar.....	13,9 g
Agua.....	1000 ml

pH después de la esterilización: $7,0 \pm 0,2$

Disolver por calentamiento y esterilizar.

X. Agar Xilosa Lisina Desoxicolato

Xilosa.....	3,5 g
L-Lisina.....	5,0 g
Lactosa monohidrato.....	7,5 g
Sacarosa.....	7,5 g
Cloruro de sodio.....	5,0 g
Extracto de levadura.....	3,0 g
Rojo fenol.....	80,0 mg
Agar.....	13,5 g
Tiosulfato de sodio.....	6,8 g
Citrato férrico amónico.....	0,8 g
Desoxicolato de sodio.....	2,5 g
Agua.....	1000 ml

pH final: $7,4 \pm 0,2$

Disolver y calentar a ebullición por vapor fluyente. No esterilizar en autoclave. Enfriar hasta $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ y dispensar en placas de Petri.

XI. Caldo Digerido de Caseína-Soja

Digerido pancreático de caseína.....	17,0 g
Digerido papaínico de soja.....	3,0 g
Glucosa monohidrato.....	2,5 g
Fosfato dibásico de potasio.....	2,5 g
Cloruro de sodio.....	5,0 g
Agua.....	1000 ml

pH después de la esterilización: $7,3 \pm 0,2$

Disolver los componentes sólidos en el agua calentando suavemente. Enfriar la solución a temperatura ambiente y ajustar con hidróxido de sodio 1 N para obtener un pH de $7,3 \pm 0,2$. Filtrar, si fuera necesario, y envasar en recipientes apropiados.

XII. Caldo de Enriquecimiento de Mossel para Enterobacterias

Digerido pancreático de gelatina.....	10,0 g
Glucosa monohidrato.....	5,0 g
Bilis de buey deshidratada.....	20,0 g
Fosfato monobásico de potasio.....	2,0 g
Fosfato dibásico de sodio Dihidratado.....	8,0 g
Verde brillante.....	15,0 mg
Agua.....	1000 ml

pH final: $7,2 \pm 0,2$

Disolver y calentar durante 30 minutos a vapor fluyente. No esterilizar en autoclave. Enfriar inmediatamente.

XIII. Caldo Rappaport Vassiliadis para enriquecimiento de *Salmonella*

Peptona de soja.....	4,5 g
Cloruro de magnesio hexahidrato.....	29,0 g
Cloruro de sodio.....	8,0 g
Fosfato dibásico de potasio.....	0,4 g
Fosfato monobásico de potasio.....	0,6 g
Verde de malaquita.....	36,0 mg
Agua.....	1000 ml

pH después de la esterilización: $5,2 \pm 0,2$

Disolver calentando suavemente. Esterilizar a no más de $115\text{ }^{\circ}\text{C}$.

XIV. Caldo Sabouraud Dextrosa

Glucosa.....	20,0 g
--------------	--------

Mezcla de partes iguales de digerido péptico de carne y digerido pancreático de caseína..... 10,0 g
 Agua..... 1000 ml
 pH después de la esterilización: $5,6 \pm 0,2$

XV. Medio Reforzado para *Clostridios*

Extracto de carne..... 10,0 g
 Peptona..... 10,0 g
 Extracto de levadura..... 3,0 g
 Almidón soluble..... 1,0 g
 Glucosa monohidrato..... 5,0 g
 Clorhidrato de cisteína..... 0,5 g
 Cloruro de sodio..... 5,0 g
 Acetato de sodio..... 3,0 g
 Agar..... 0,5 g
 Agua..... 1000 ml
 pH después de la esterilización: $6,8 \pm 0,2$

Hidratar el agar y disolver calentando hasta ebullición revolviendo completamente.

XVI. Medio Tioglicolato

L-Cistina..... 0,5 g
 Agar (con menos de 15 % de humedad)..... 0,75 g
 Cloruro de sodio..... 2,5 g
 Glucosa monohidrato..... 5,5 g
 Extracto de levadura (soluble en agua)..... 5,0 g
 Digerido pancreático de caseína..... 15,0 g
 Tioglicolato de sodio*..... 0,5 g
 Solución de resazurina sódica (0,1 %), recién preparada..... 1,0 ml
 Agua..... 1000 ml
 pH después de la esterilización: $7,1 \pm 0,2$

Mezclar y calentar hasta disolución completa. Ajustar el pH del medio con hidróxido de sodio 1 N para obtener el pH indicado. Filtrar en caliente, si fuera necesario, a través de un papel de filtro humedecido. Distribuir el medio en recipientes de vidrio que mantenga una relación entre la superficie expuesta y la profundidad de medio tal que no más de la mitad superior experimente un cambio de color, indicativo de la fijación de oxígeno, al final del período de incubación. Tapar para evitar la contaminación y la evaporación excesiva del medio durante el almacenamiento. Enfriar inmediatamente luego de la esterilización.

* En caso de reemplazarse por ácido tioglicólico emplear 0,3 ml.

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN

Los productos farmacéuticos pueden ser vehículos de microorganismos que pueden producir enfermedades, alteraciones físico-químicas, disminución de la actividad terapéutica, o ser indicadores de calidad higiénica deficiente. Deben, por lo tanto, fijarse límites de aceptabilidad con el fin de garantizar la inocuidad y estabilidad del producto desde el punto de vista microbiológico. La *Tabla 1* indica los límites de aceptabilidad de acuerdo a la vía de administración.

Los límites microbianos de la *Tabla 1* deben interpretarse como:

- ufc significa que el recuento máximo aceptable es 20.
- ufc significa que el recuento máximo aceptable es 200.
- ufc significa que el recuento máximo aceptable es 2000.

En caso de detectarse microorganismos no especificados en la *Tabla 1*, se deberá evaluar su relevancia en función de la vía de administración, la naturaleza del producto y los pacientes a los cuales está destinado.

Los límites de aceptabilidad deben ser establecidos por personal especializado entrenado en microbiología, al igual que la realización de los ensayos, la interpretación y la evaluación de los resultados obtenidos.

MÉTODOS DE RECuento

En esta sección se especifican los ensayos necesarios para estimar el número de microorganismos aerobios viables presentes en cualquier tipo de materia prima o producto farmacéutico no obligatoriamente estéril.

En caso de no seguirse la metodología descrita en este capítulo, pueden ser utilizados otros procedimientos microbiológicos, incluidos los métodos automatizados, a condición de que su equivalencia al método de esta Farmacopea haya sido demostrada o validada según corresponda.

Ensayos preliminares

La validez de los resultados de los ensayos incluidos en este capítulo depende, en gran medida, de que se demuestre apropiadamente que las muestras sometidas a las condiciones del ensayo no inhiben la multiplicación de los microorganismos que pudieran estar presentes.

La efectividad de los medios de cultivo utilizados debe haber sido previamente verificada.

Promoción de crecimiento de los medios de cultivo

Analizar cada envase de medio de cultivo de manera de verificar la aptitud del mismo para su uso. Si el medio se prepara a partir de los ingredientes analizar todos los lotes elaborados. Si se trata de medios listos para usar, asegurar la calidad de los mismos.

Para medios sólidos, el crecimiento obtenido con los microorganismos de prueba (ver *Tabla 3*) no debe diferir en un factor de 2 respecto del obtenido con un envase previamente aprobado.

Los medios líquidos deben presentar evidencia visual de crecimiento dentro de los 3 días de incubación a 30 – 35 °C para bacterias y 5 días de incubación a 20 – 25 °C para hongos y levaduras.

El número de microorganismos a inocular debe ser próximo a 100 ufc.

Validez del método de recuento

Diluir la muestra en un diluyente apropiado de acuerdo a la técnica a ensayar. Agregar separadamente diluciones de cultivos de 24 horas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) y *Candida albicans* (ATCC 10231). Incluir *Escherichia coli* (ATCC 8739) en aquellos productos que en la *Tabla 1* no requieren ausencia de la misma y suspensiones de esporas de *Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404) y *Bacillus subtilis* (ATCC 6633).

Pueden utilizarse cepas aptas para tales fines pertenecientes a colecciones de cultivo microbianas reconocidas por la WFCC (World Federation of Culture Collections). El número de microorganismos a inocular debe ser tal que en cada placa de Petri el recuento final sea próximo a 100 ufc.

Siguiendo el método de estudio, realizar el recuento en presencia y ausencia de la muestra a ensayar. Incluir controles negativos de medios y diluyentes.

El recuento de los microorganismos ensayados con la muestra no debe diferir en un factor mayor de 2 respecto del hallado sin la muestra.

Cuando no se obtiene el criterio de aceptación establecido, modificar el método de ensayo de acuerdo a:

- aumentar el factor de dilución siempre que la especificación del producto o materia prima lo permita;
- agregar un antagonista adecuado (ver *Tabla 2*);
- otra modificación apropiada del método, diluyente o medio de cultivo;
- una combinación de los anteriores.

En caso de agregar una sustancia antagonista, o si se cambia la composición del diluyente o medio de cultivo, demostrar que dicha modificación no tiene efecto tóxico que afecte el desarrollo de los microorganismos de prueba.

Para demostrar la validez del método de recuento por filtración, la suspensión con los microorganismos se agrega en el último lavado, para evaluar la ausencia de sustancias inhibitorias en la membrana que puedan afectar su crecimiento.

En el recuento en placa, las suspensiones de las cepas de control se agregan en la dilución del producto. En caso de no cumplir el criterio de aceptación habiendo efectuado todas las modificaciones detalladas anteriormente, los microorganismos podrán inocularse directamente en la placa antes del agregado del medio sólido, para evaluar la remoción del agente inhibitorio.

Si no se encuentra un método de neutralización adecuado, puede suponerse que la imposibilidad de aislar el microorganismo inoculado es atribuible a la actividad microbicida del producto. Esta información permite deducir que no es probable que el producto se contamine con esa determinada especie de microorganismo.

Es posible que el producto inhiba solamente algunos microorganismos especificados en este capítulo pero que no inhiba otros no incluidos entre las cepas de prueba o aquellos para los cuales éstas no son representativas. En consecuencia, realizar la prueba con el factor de dilución más alto compatible con el crecimiento y el criterio de aceptación específico.

Recuento de microorganismos aerobios totales

Cuando sea posible su aplicación, el método de elección es el de Recuento en placa. En caso contrario se podrán utilizar los métodos por filtración o en tubos múltiples (número más probable - NMP).

Preparación de la muestra - Disolver o suspender 10 g o 10 ml de muestra en el diluyente definido en la *Validez del método de recuento*, para obtener una dilución 1:10 o la resultante de la Validez. Las diluciones así preparadas no deben dejarse más de 1 hora antes de completar el ensayo.

Siembra en profundidad -

Transferir 1 ml de la dilución final a cada una de dos placas de Petri estériles. Agregar inmediatamente a cada placa entre 15 y 20 ml del Agar Digerido de Caseína-Soja previamente fundido y enfriado a 45 °C. Tapar las placas de Petri, homogeneizar la muestra con el agar por rotación de las placas y dejar solidificar a temperatura ambiente. Invertir las placas de Petri e incubar a 30 - 35 °C durante no menos de 3 días. Luego de la incubación, examinar las placas para observar si hubo desarrollo. Contar el número de colonias y expresar el promedio para las dos placas en términos del número de unidades formadoras de colonias por g (ufc/g) o por ml de

muestra (ufc/ml). Si no se detectan colonias en las placas, expresar los resultados como menor a la inversa del valor de la dilución utilizada, por ejemplo para la dilución 1:10 se expresa como menor a 10 ufc/g o ml de muestra. Tener en cuenta que el resultado se debe expresar en función de la dilución y el volumen sembrado.

Siembra en superficie -

Sembrar en superficie no más de 0,1 ml de la dilución final sobre al menos dos placas con Agar Digerido de Caseína-Soja previamente secadas en incubadora o campana de flujo laminar. Incubar a 30 - 35 °C durante no menos de 3 días. Luego de la incubación, examinar las placas para observar si hubo desarrollo. Contar el número de colonias y expresar el promedio para las dos placas como el número de unidades formadoras de colonias por g (ufc/g) o por ml de muestra (ufc/ml). Si no se detectan colonias en las placas, expresar los resultados como menor a la inversa del valor de la dilución utilizada y el volumen sembrado.

Tubos múltiples (número más probable – NMP -

Agregar a cada uno de catorce tubos de ensayo de tamaño similar, 9 ml de Caldo Digerido de Caseína-Soja esterilizado. Distribuir doce de los tubos en cuatro grupos de tres tubos cada uno. Uno de los cuatro grupos servirá como control. Transferir 1 ml de la solución o suspensión de la muestra a cada uno de los tres tubos de un grupo (“100”) y a un cuarto tubo (A) y mezclar. Transferir 1 ml del contenido del tubo (A), al tubo restante (B) no incluido en ningún grupo y mezclar. Estos dos tubos contienen 0,1 g (ó 0,1 ml) y 0,01 g (ó 0,01 ml) de la muestra, respectivamente. Transferir 1 ml del contenido del tubo (A) a cada uno de los tres tubos del segundo grupo (0,01) y 1 ml del contenido del tubo (B) a cada uno de los tubos del tercer grupo (0,001). Descartar el contenido remanente de los tubos (A) y (B). Tapar e incubar todos los tubos a 30 - 35 °C no más de 3 días. Luego del período de incubación, examinar los tubos para detectar turbidez: los tres tubos controles deben permanecer sin desarrollo y los tubos que contienen la muestra deben compararse con la *Tabla 4* para determinar el NMP/g ó ml de producto. En caso que la turbidez de la muestra enmascare el desarrollo microbiano, subcultivar en el mismo caldo o en Agar Digerido de Caseína-Soja a 30 – 35 °C durante 24 a 48 horas.

Filtración -

Usar filtros de membrana con tamaño nominal de poro no mayor de 0,45 µm. Elegir el material de la membrana tal que la eficiencia de la retención microbiana no sea afectada por los componentes de la muestra. Transferir la cantidad apropiada de la dilución de muestra a una membrana y filtrar inme-

diatamente. Lavar el filtro según se haya determinado previamente. Transferir la membrana a la superficie de una placa conteniendo Agar Digerido de Caseína-Soja. Incubar a 30 – 35 °C durante no menos de 3 días. Calcular el número de ufc por g ó ml de producto.

En el caso de parches transdérmicos filtrar un volumen tal que la muestra filtrada corresponda a una unidad. Expresar el recuento como ufc / parche.

Informe de los resultados -

En los métodos de recuento en placa el número de microorganismos aerobios totales se informará como la sumatoria de todas las colonias desarrolladas en las placas de Agar Digerido de Caseína-Soja incluidos hongos filamentosos y levaduras.

Recuento combinado de hongos filamentosos y levaduras

Siembra en profundidad –

Proceder según se indica en *Recuento de microorganismos aerobios totales* empleando Agar Sabouraud Dextrosa o Agar Papa Dextrosa. Incubar las placas sin invertir, a 20 - 25 °C durante no menos de 5 días. Luego de la incubación, examinar las placas para observar si hubo desarrollo. Continuar según lo indicado en *Siembra en profundidad para recuento de microorganismos aerobios totales*.

Siembra en superficie -

Proceder según se indica en *Recuento de microorganismos aerobios totales*. Preparar al menos dos placas empleando Agar Sabouraud Dextrosa o Agar Papa Dextrosa para cada nivel de dilución, previamente secadas en incubadora o campana de flujo laminar. Sembrar en superficie no más de 0,1 ml sobre cada placa. Incubar a 20 – 25 °C durante no menos de 5 días. Luego de la incubación, examinar las placas para observar si hubo desarrollo. Continuar según se indica en *Siembra en profundidad para Recuento de microorganismos aerobios totales*, teniendo en cuenta el volumen sembrado.

Filtración -

Proceder según se indica en *Recuento de microorganismos aerobios totales*. Transferir la membrana a la superficie de una placa conteniendo Agar Sabouraud Dextrosa o Agar Papa Dextrosa. Incubar a 20 – 25 °C durante no menos de 5 días. Calcular el número de ufc por g ó ml de producto.

En el caso de parches transdérmicos filtrar un volumen tal que la muestra filtrada corresponda a una unidad. Expresar el recuento como ufc / parche.

Informe de los resultados -

En los métodos de recuento en placa el número de microorganismos aerobios totales se informará

como la sumatoria de todas las colonias desarrolladas en las placas de Agar Sabouraud Dextrosa o Agar Papa Dextrosa incluidas las bacterias.

ENSAYOS PARA LA INVESTIGACIÓN DE MICROORGANISMOS ESPECÍFICOS

En esta sección se especifican los ensayos necesarios para investigar los microorganismos especificados en la *Tabla 5* presentes en cualquier tipo de materia prima o producto farmacéutico no obligatoriamente estéril. En caso de no seguirse la metodología descrita en este capítulo, pueden ser utilizados otros procedimientos microbiológicos, incluidos los métodos automatizados, a condición de que su equivalencia al método de esta Farmacopea haya sido demostrada o validada según corresponda.

Ensayos preliminares

La validez de los resultados de los ensayos incluidos en este capítulo depende, en gran medida, de que se demuestre apropiadamente que las muestras sometidas a las condiciones del ensayo no inhiben la multiplicación de los microorganismos que pudieran estar presentes.

La efectividad de los medios de cultivo utilizados debe haber sido previamente verificada.

Promoción de crecimiento de los medios de cultivo

Analizar cada envase de medio de cultivo de manera de verificar la aptitud del mismo para su uso. Si el medio se prepara a partir de los ingredientes analizar todos los lotes elaborados. Si se trata de medios listos para usar, asegurar la calidad de los mismos.

Para medios sólidos diferenciales, el crecimiento obtenido con los microorganismos de prueba (ver *Tabla 5*) sembrados en superficie, no debe diferir en un factor mayor de 2 respecto del obtenido con un envase previamente aprobado. Puede reemplazarse por el método ecométrico o por el método Miles Misra. Las colonias desarrolladas deben mostrar las características típicas del microorganismo.

Los medios líquidos deben presentar evidencia visual de crecimiento dentro de los 3 días de incubación a 30 – 35 °C, o bien durante un tiempo no mayor que el período menor indicado en la prueba correspondiente considerando, la temperatura requerida por el mismo.

El número de microorganismos a inocular debe ser menor a 100 ufc.

Validez del método de investigación de microorganismos específicos

Diluir la muestra en un diluyente apropiado de acuerdo a la técnica a ensayar. Agregar una canti-

dad apropiada en Caldo Digerido de Caseína-Soya y/o Medio Fluido Tioglicolato. Agregar separadamente diluciones de cultivos de 24 horas de: *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Salmonella* entérica (ATCC 14028), *Clostridium sporogenes* (ATCC 19404 o ATCC 11437) y *Candida albicans* (ATCC 10231). Pueden utilizarse cepas aptas para tales fines pertenecientes a colecciones de cultivo microbianas reconocidas por la WFCC (World Federation of Culture Collections). El número de microorganismos a inocular debe ser menor a 100 ufc.

Siguiendo el método de estudio, realizar la investigación de la presencia del microorganismo inoculado. Incluir controles negativos de medios y diluyentes.

Cuando no se obtiene el criterio de aceptación establecido, modificar el método de ensayo de acuerdo a:

- aumentar el volumen de Caldo Digerido de Caseína-Soja y/o Medio Fluido Tioglicolato hasta un volumen máximo de 1000 ml,
- agregar un antagonista adecuado (ver *Tabla 2*),
- filtrar a través de membrana la dilución de la muestra y sumergir ésta en el Caldo Digerido de Caseína-Soja y/o Medio Fluido Tioglicolato, u
- otra modificación apropiada del método, diluyente o medio de cultivo.

En caso de agregar una sustancia antagonista, o si se cambia la composición del diluyente o medio de cultivo, demostrar que dicha modificación no tiene efecto tóxico que afecte el desarrollo de los microorganismos de prueba.

Ensayo para *Bacterias Gram negativas tolerantes a la bilis*

Disolver o suspender 10 g o 10 ml de muestra en Caldo Digerido de Caseína - Soja para obtener 100 ml o el volumen establecido en el ensayo de *Validez del método de investigación de microorganismos específicos*. Incubar a 20 - 25 °C durante 2 a 5 horas. Homogeneizar y transferir 10 ml de la dilución o el equivalente a 1 g ó ml de producto a 90 ml de Caldo de Enriquecimiento de Mossel para *Enterobacteriaceae*. Incubar a 30 - 35 °C durante 24 a 48 horas. Subcultivar sobre Agar Cristal Violeta-Rojo Neutro-Bilis-Glucosa e incubar a 30 - 35 °C durante 18 a 24 horas.

La muestra cumple con el ensayo para bacterias Gram negativas tolerantes a la bilis por gramo o mililitro si no se observa desarrollo de colonias.

Ensayo para *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*

Agregar un volumen de la dilución preparada en *Recuento de microorganismos aerobios totales* equivalente a 1 g ó 1 ml de producto, a Caldo Digerido de Caseína-Soja para obtener 100 ml o el volumen establecido en el ensayo de *Validez del método de recuento*, mezclar e incubar a 30 - 35 °C durante 18 a 24 horas.

Ensayo para Staphylococcus aureus

Subcultivar sobre una placa con Agar Manitol-Salado. Incubar a 30 - 35 °C durante 18 a 72 horas. Si hay desarrollo de colonias típicas amarillas o blancas rodeadas de una zona amarilla, identificarlas para descartar *Staphylococcus aureus*.

La muestra cumple con el ensayo para *Staphylococcus aureus* si no se observa el desarrollo de colonias con las características descritas o si la identificación es negativa.

Ensayo para Pseudomonas aeruginosa

Subcultivar sobre una placa con Agar Cetrimida. Incubar a 30 - 35 °C durante 18 a 72 horas. Si hay desarrollo de colonias generalmente verdosas identificarlas para descartar *Pseudomonas aeruginosa*.

La muestra cumple con el ensayo para *Pseudomonas aeruginosa* si no se observa el desarrollo de colonias con las características descritas o si la identificación es negativa.

Ensayo para Escherichia coli

Subcultivar sobre una placa con Agar Mac Conkey. Incubar a 30 - 35 °C durante 18 a 72 horas. Si hay desarrollo de colonias, identificarlas para descartar *Escherichia coli*.

La muestra cumple con el ensayo para *Escherichia coli* si no se observa el desarrollo de colonias con las características descritas o si la identificación es negativa.

Ensayo para Salmonella

Transferir 0,1 ml de Caldo Digerido de Caseína-Soja a 10 ml de Caldo Rappaport-Vassiliadis para enriquecimiento de *Salmonella* e incubar a 30 - 35 °C durante un 18 a 24 horas. Subcultivar en placas de Agar Xilosa Lisina Desoxicolato. Incubar a 30 - 35 °C durante un período de 18 a 48 horas.

Si se observa la presencia de colonias bien desarrolladas color rojo, con o sin centro negro, identificarlas para descartar *Salmonella*.

La muestra cumple con el ensayo para *Salmonella* si no se observa el desarrollo de colonias con las características descritas o si la identificación es negativa.

Ensayo para Candida albicans

Agregar un volumen de la dilución preparada en *Recuento de microorganismos aerobios totales*,

equivalente a 1g ó 1 ml de producto, a Caldo Sabouraud Dextrosa para obtener 100 ml, o el volumen establecido en el ensayo de *Validez del método de recuento*. Mezclar e incubar a 30 - 35 °C durante 3 a 5 días. Subcultivar en una placa con Agar Sabouraud Dextrosa e incubar a 30 - 35 °C durante 24 a 48 horas.

Si se observa desarrollo de colonias blancas, identificarlas para descartar *Candida albicans*.

La muestra cumple con el ensayo para *Candida albicans* si no se observa el desarrollo de colonias con las características descritas o si la identificación es negativa.

Ensayo para anaerobios sulfito-reductores

Agregar un volumen de la dilución preparada en *Recuento de microorganismos aerobios totales*, equivalente a 1 g ó 1 ml de producto, a Medio Tioglicolato previamente calentado durante 10 minutos en un baño de vapor y enfriado, adicionado de azida sódica al 0,03 %, hasta obtener 100 ml. Cubrir la superficie con una mezcla estéril de vaselina y parafina. [NOTA: la mezcla estéril de vaselina y parafina se prepara fundiendo 250 g de parafina conjuntamente con 750 g de vaselina, mezclando bien, repartiendo en tubos y esterilizando en autoclave]. Incubar a 30 - 35 °C durante 48 a 72 horas. Si se observa desarrollo microbiano, transferir 1 ml a un tubo estéril de no más de 16 mm de diámetro exterior y no menos de 200 mm de largo. Agregar por las paredes Agar Sulfito-Polimixina-Sulfadiacina, previamente fundido y enfriado a 40 °C, hasta no más de 1 cm del borde superior del tubo. Cubrir con la mezcla de vaselina-parafina e incubar a 30-35 °C durante 5 a 7 días, observando diariamente.

La muestra cumple con el ensayo de ausencia de microorganismos anaerobios sulfito-reductores por gramo o mililitro si no se observa el desarrollo de colonias negras.

Ensayo para Clostridios

Tomar dos porciones iguales correspondientes a no menos de 1 g o 1 ml de producto a examinar. Calentar una porción a 80 °C durante 10 minutos y enfriar rápidamente. No calentar la otra porción.

Transferir 10 ml de cada una de las porciones mezcladas a dos recipientes de 38 x 200 mm cada uno u otros que contenga 100 ml de Medio Reforzado para Clostridios. Incubar bajo condiciones anaeróbicas a 30 - 35 °C durante 48 horas. Después de la incubación, realizar subcultivos a partir de cada tubo en Agar Columbia e incubar en condiciones anaeróbicas a 30 -35 °C durante 48 horas.

El crecimiento anaeróbico de bacilos (con o sin endoesporas), que dan una reacción de catalasa negativa, indica la presencia de Clostridios.

La muestra cumple con el ensayo para Clostridios si no se observa desarrollo de colonias con las características descritas o si la identificación es negativa.

Ensayo para gérmenes revivificables

Agregar un volumen de una dilución de la muestra, equivalente a 1 g ó ml de producto, a un volumen de Caldo Digerido de Caseína-Soja definido por el ensayo de *Validez del método de investi-*

gación de microorganismos específicos. Incubar a 20 – 25 °C durante al menos 5 días. Agregar otro volumen de la misma dilución, equivalente a 1 g o ml de producto, a un volumen de Medio Fluido Tioglicolato definido por el ensayo de *Validez del método de investigación de microorganismos específicos* (ver *Tabla 6*). Incubar a 30 - 35° C durante al menos 5 días. La muestra cumple con los requisitos del ensayo para ausencia de gérmenes revivificables en un gramo o mililitro si no se observa turbidez debida a desarrollo microbiano.

Tabla 1. Límites de aceptabilidad para productos farmacéuticos no obligatoriamente estériles

Vía de Administración	Recuento de microorganismos aerobios totales (ufc/g ó ml)	Recuento combinado de hongos filamentosos y levaduras (ufc/g ó ml)	Microorganismos específicos (1 g ó ml)
Vía inhalatoria (excepto Soluciones Fisiológicas para nebulizar)			Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> Ausencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Ausencia de bacterias Gram negativas tolerantes a la bilis
Vías: oromucosal			Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> Ausencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
cutánea			
gingival			
nasal			
auricular			
parches transdérmicos (límites para un parche incluyendo la capa adhesiva y el soporte)			
Vía vaginal			Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> Ausencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Ausencia de <i>Candida albicans</i>
Preparaciones acuosas para uso oral			Ausencia de <i>Escherichia coli</i>
Preparaciones no acuosas para uso oral			Ausencia de <i>Escherichia coli</i>
Vía rectal			-
Aplicaciones sobre escaras, ulceraciones o quemaduras	Ausencia de gérmenes revivificables (g ó ml)		

Tabla 2. Antagonistas

Sustancia de Interferencia	Agentes Neutralizantes Potenciales / Método
Glutaraldehído, Mercuriales	Sulfito Acido de Sodio (Bisulfito de Sodio)
Fenólicos, Alcohol, Aldehídos, Sorbato	Dilución
Aldehídos	Glicina
Compuestos de Amonio Cuaternarios (CAC), Parahidroxibenzoatos (Parabenos), Biguanidas	Lecitina
CAC, Yodo, Parabenos	Polisorbato
Mercuriales	Tioglicolato
Mercuriales, Halógenos, Aldehídos	Tiosulfato
EDTA (Edetato)	Iones de Mg o Ca

Tabla 3. Preparación y uso de microorganismos de prueba para recuento

Microorganismo	Preparación de Cepas de Prueba	Promoción del Crecimiento		Aptitud del Método de Recuento en Presencia del Producto	
		Recuento Total de Microorganismos Aerobios	Recuento Total de Hongos Filamentosos y Levaduras	Recuento Total de Microorganismos Aerobios	Recuento Total de Hongos Filamentosos y Levaduras
<i>Staphylococcus aureus</i> Por ejemplo ATCC 6538, NCIMB 9518, CIP 4.83 o NBRC 13276	Agar Digerido de Caseína-Soja o Caldo Digerido de Caseína-Soja 30 - 35 °C 18-24 horas	Agar Digerido de Caseína-Soja y Caldo Digerido de Caseína-Soja ≤ 100 ufc 30 - 35 °C ≤ 3 días		Agar Digerido de Caseína-Soja / NMP Caldo Digerido de Caseína- Soja ≤ 100 ufc 30 - 35 °C ≤ 3 días	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Por ejemplo ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118 o NBRC 13275	Agar Digerido de Caseína-Soja o Caldo Digerido de Caseína-Soja 30 - 35 °C 18 - 24 horas	Agar Digerido de Caseína-Soja y Caldo Digerido de Caseína-Soja ≤ 100 ufc 30 - 35 °C ≤ 3 días		Agar Digerido de Caseína-Soja / NMP Caldo Digerido de Caseína-Soja ≤ 100 ufc 30 - 35 °C ≤ 3 días	
<i>Bacillus Subtilis</i> Por ejemplo ATCC 6633, NCIMB 8054, CIP 52.62 o NBRC 3134	Agar Digerido de Caseína-Soja o Caldo Digerido de Caseína-Soja 30 - 35 °C 18 - 24 horas	Agar Digerido de Caseína-Soja y Caldo Digerido de Caseína-Soja ≤ 100 ufc 30 - 35 °C ≤ 3 días		Agar Digerido de Caseína-Soja / NMP Caldo Digerido de Caseína-Soja ≤ 100 ufc 30 - 35 °C ≤ 3 días	
<i>Candida albicans</i> Por ejemplo ATCC 10231, NCPF 3179, IP 48.72 o NBRC 1594	Agar Sabouraud Dextrosa o Caldo Sabouraud Dextrosa 20 - 25 °C 2 - 3 días	Agar Digerido de Caseína-Soja ≤ 100 ufc 30 - 35 °C ≤ 5 días	Agar Sabouraud Dextrosa ≤ 100 ufc 20 - 25 °C ≤ 5 días	Agar Digerido de Caseína-Soja ≤ 100 ufc 30-35 °C ≤ 5 días NMP: no aplica	Agar Sabouraud Dextrosa ≤ 100 ufc 20 - 25 °C ≤ 5 días
<i>Aspergillus brasiliensis</i> Por ejemplo ATCC 16404, IMI 149007, IP 1431.83 o NBRC 9455	Agar Sabouraud Dextrosa o Agar Papa Dextrosa 20 - 25 °C 5.-7 días o hasta alcanzar una buena esporulación	Agar Digerido de Caseína-Soja ≤ 100 ufc 30 - 35 °C ≤ 5 días	Agar Sabouraud Dextrosa ≤ 100 ufc 20 - 25 °C ≤ 5 días	Agar Digerido de Caseína-Soja ≤ 100 ufc 30 - 35 °C ≤ 5 días NMP: no aplica	Agar Sabouraud Dextrosa ≤ 100 ufc 20 - 25 °C ≤ 5 días

Tabla 4. Valores del Número Más Probable de microorganismos

Combinaciones observadas de Números de tubos que muestran crecimiento en cada juego			NMP por g o por ml de producto	Límites de confianza de 95 %
Número de g o ml de producto por tubo				
0,1	0,01	0,001		
0	0	0	< 3	0-9,4
0	0	1	3	0,1-9,5
0	1	0	3	0,1-10
0	1	1	6,1	1,2-17
0	2	0	6,2	1,2-17
0	3	0	9,4	3,5-35
1	0	0	3,6	0,2-17
1	0	1	7,2	1,2-17
1	0	2	11	4-35
1	1	0	7,4	1,3-20
1	1	1	11	4-35
1	2	0	11	4-35
1	2	1	15	5-38
1	3	0	16	5-38
2	0	0	9,2	1,5-35
2	0	1	14	4-35
2	0	2	20	5-38
2	1	0	15	4-38
2	1	1	20	5-38
2	1	2	27	9-94
2	2	0	21	5-40
2	2	1	28	9-94
2	2	2	35	9-94
2	3	0	29	9-94
2	3	1	36	9-94
3	0	0	23	5-94
3	0	1	38	9-104
3	0	2	64	16-181
3	1	0	43	9-181
3	1	1	75	17-199
3	1	2	120	30-360
3	1	3	160	30-380
3	2	0	93	18-360
3	2	1	150	30-380
3	2	2	210	30-400
3	2	3	290	90-990
3	3	0	240	40-990
3	3	1	460	90-1980
3	3	2	1100	200-4000
3	3	3	> 1100	

Tabla 5. Preparación y uso de microorganismos de prueba para investigación

<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538, NCIMB 9518, CIP 4.83 o NBRC 13276
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118 o NBRC 13275
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739, NCIMB 8545, CIP 53.126 o NBRC 3972
<i>Salmonella enterica</i> subesp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium o, como alternativa,	ATCC 14028
<i>Salmonella enterica</i> subesp. <i>enterica</i> serovar Abony	NBRC 100797, NCTC 6017 o CIP 80.39
<i>Candida Albicans</i>	ATCC 10231, NCPF 3179, IP 48.72 o NBRC 1594
<i>Clostridium sporogenes</i>	ATCC 19404 o ATCC 11437

Tabla 6. Microorganismos de prueba para el ensayo de gérmenes revivificables

Caldo Digerido de Caseína-Soja	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633, CIP 52.62, NCIMB 8054, NBRC 3134 <i>Candida albicans</i> ATCC 10231, IP 48.72, NCPF 3179, NBRC 1594 <i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404, IP 1431.83, IMI 149007, NBRC 9455
Medio Fluido Tioglicolato	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538, CIP 4.83, NCTC 10788, NCIMB 9518, NBRC 13276 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118, NBRC 13275* <i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 19404, CIP 79.3, NCTC 532 o ATCC 11437, NBRC 14293**

* alternativo *Kocuria rhizophila* ATCC 9341

** alternativo *Bacteroides vulgatus* ATCC 8482

225. DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE PERÓXIDOS

El índice de peróxidos I_p de una sustancia es el valor que expresa, en miliequivalentes de oxígeno activo, la cantidad de peróxidos presentes en 1.000 g de muestra.

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, determinar el *Índice de peróxidos* por el *Método I*.

Método I

Procedimiento - Transferir aproximadamente 5,0 g de muestra a un erlenmeyer con tapón esmerilado de 250 ml, agregar 30 ml de una mezcla de ácido acético glacial y cloroformo (3:2), agitar hasta disolver y agregar 0,5 ml de una solución saturada de yoduro de potasio. Agitar exactamente durante 1 minuto, agregar 30 ml de agua y titular con tiosulfato de sodio 0,01 N (SV), agregado lentamente y sin dejar de agitar, hasta que el color amarillo desaparezca. Agregar 5 ml de almidón (SR) y continuar la titulación con tiosulfato de sodio 0,01 N (SV) agitando vigorosamente hasta que el color desaparezca. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver *Titulaciones residuales* en 780. *Volumetría*). El volumen consumido en mililitros de tiosulfato de sodio 0,01 N (SV) multiplicado por 10 y dividido por el peso en gramos de la muestra es el *Índice de peróxidos*.

[NOTA: la titulación del blanco no debe consumir más de 0,1 ml de tiosulfato de sodio 0,01 N (SV)].

Método II

[NOTA: realizar el ensayo protegido de la luz].

Solución de almidón - Agregar 1 g de almidón a una porción de agua fría, mezclar y diluir a 200 ml con agua en ebullición agitando continuamente. Agregar 250 mg de *Ácido Salicílico* y calentar a ebullición durante 3 minutos. Retirar inmediatamente del calor y enfriar.

Procedimiento - Transferir aproximadamente la cantidad de muestra indicada en la *Tabla* a un erlenmeyer con tapón esmerilado, agregar 50 ml

de una mezcla de ácido acético glacial y trimetilpentano (3:2), colocar el tapón y agitar hasta disolver. Agregar 0,5 ml de una solución saturada de yoduro de potasio, colocar el tapón, dejar reposar aproximadamente durante 1 minuto, agitar en forma continua y agregar 30 ml de agua. Titular la solución con tiosulfato de sodio 0,01 N (SV), agregado lentamente y con agitación continua y vigorosa, hasta que el color amarillo del yodo desaparezca casi por completo. Agregar aproximadamente 0,5 ml *Solución de almidón* y continuar la titulación agitando constantemente especialmente en las proximidades del punto final de la titulación para liberar todo el yodo de la capa del solvente. Agregar tiosulfato de sodio 0,01 N (SV) hasta que el color azul desaparezca. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver *Titulaciones residuales* en 780. *Volumetría*). [NOTA 1: la titulación del blanco no debe consumir más de 0,1 ml de tiosulfato de sodio 0,01 N (SV)]. [NOTA 2: cuando el contenido de peróxidos en la sustancia en ensayo es mayor o igual a 70, existe un retraso de 15 a 30 segundos en la neutralización del indicador de almidón por la tendencia del trimetilpentano a separarse del medio acuoso y el tiempo requerido para mezclar adecuadamente el solvente y la solución valorante y liberar las últimas trazas de yodo; se puede agregar una cantidad de 0,5 a 1,0 % de un emulsionante de elevado balance hidrofilia-lipofilia (BHL), como por ej., polisorbato 60, a la mezcla para retardar la separación de fases y reducir el tiempo que tarda en liberar el yodo. Cuando el contenido de peróxidos en la sustancia en ensayo es mayor a 150 se debe utilizar tiosulfato de sodio 0,1 N (SV)]. Calcular el *Índice de peróxidos* por la fórmula siguiente:

$$1.000VC/P$$

en la cual V es el volumen en ml de tiosulfato de sodio (SV) consumido, C es la normalidad de tiosulfato de sodio empleado y P es el peso en g de la sustancia en ensayo.

Tabla.

Índice de peróxidos esperado	Peso de muestra a examinar (g)
0 - 12	2,00 - 5,00
12 - 20	1,20 - 2,00
20 - 30	0,80 - 1,20
30 - 50	0,500 - 0,800
50 - 90	0,300 - 0,500

335. ENSAYO DE MICOBACTERIAS

Si la muestra en ensayo puede estar contaminada con otros microorganismos diferentes a micobacterias, tratar la muestra con una solución descontaminante apropiada, como solución de hidróxido de sodio -acetilcisteína o solución de laurilsulfato de sodio.

Inocular 0,2 ml de la muestra por triplicado en dos medios sólidos apropiados (Lôwenstein-Jensen y Middlebrook 7H10). Inocular 0,5 ml de la muestra por triplicado en un medio líquido apropiado. Incubar todos los medios a 37 °C durante 56 días.

Determinar la fertilidad de los medios en presencia de la preparación en ensayo inoculando una cepa adecuada de *Mycobacterium sp*, como BCG y, de ser necesario, usar una solución neutralizante.

Si se produce desarrollo de un microorganismo contaminante durante los primeros 8 días de incubación, repetir el ensayo y realizar al mismo tiempo un ensayo de esterilidad de la muestra.

La preparación cumple con los requisitos si al cabo del periodo de incubación no se desarrolla crecimiento de micobacterias.

336. ENSAYO DE MICOPLASMAS

Cuando se indica para un banco maestro de células, un banco de trabajo de células, un lote de semilla de virus o para controles de células, proceder según se indica en *Método de cultivo* y *Método del indicador en cultivos celulares*. Cuando se indica para cosechas virales, graneles de vacuna o lotes finales de producto proceder según se indica en *Método de cultivo*.

MÉTODO DE CULTIVO

Elección del método de cultivo

Realizar el ensayo usando un número suficiente de medios líquidos y sólidos que asegure el crecimiento en las condiciones de incubación elegidas de un pequeño número de micoplasmas que puede estar presente en el material a ser examinado. Los medios líquidos deben contener rojo fenol. Las propiedades nutritivas de cada nuevo lote de medio se deben verificar usando los siguientes organismos:

Acholeplasma laidlawii: para vacunas a las que se les ha agregado antibiótico durante su producción.

Mycoplasma gallisepticum: cuando se ha usado material de origen aviar durante la elaboración.

Mycoplasma orale: para vacunas de uso humano.

Mycoplasma pneumoniae: para vacunas de uso humano.

Mycoplasma synoviae: para vacunas de uso humano.

Condiciones de incubación

Dividir los medios inoculados en dos porciones iguales e incubar una en condiciones aeróbicas y la otra en condiciones de microaerofilia; para medios sólidos mantener una atmósfera de adecuada humedad para prevenir la evaporación de la superficie. Para medios sólidos en condiciones aeróbicas, incubar en una atmósfera de aire que contenga entre 5 y 10 % de dióxido de carbono. Para medios sólidos en condiciones de microaerofilia incubar en una atmósfera de nitrógeno que contenga entre 5 y 10 % de dióxido de carbono.

Propiedades nutritivas

Realizar la determinación de las propiedades nutritivas para cada nuevo lote de medio. Inocular el medio elegido con el organismo de ensayo correspondiente; usar no más de 100 ufc por placa de 60 mm conteniendo 9 ml de medio sólido y no más de 40 ufc por envase de medio líquido conteniendo 100 ml; usar placas separadas para cada organismo ensayado. Incubar los medios en las

condiciones que serán usadas para el ensayo sobre producto. El medio cumple con el ensayo para propiedades nutritivas si se verifica un apropiado crecimiento del organismo y un apropiado cambio de color del medio líquido.

Sustancias inhibitorias

Realizar el ensayo de propiedades nutritivas en presencia del producto en ensayo. Si el crecimiento del organismo elegido es menor que el encontrado en ausencia del producto, éste contiene sustancias inhibitorias que deben ser neutralizadas antes de realizar el ensayo para micoplasmas. La efectividad de la neutralización u otro proceso debe ser comprobada repitiendo el ensayo para sustancias inhibitorias después de la neutralización.

Ensayo para micoplasmas en el producto a ser examinado

Para medios sólidos usar placas de 60 mm de diámetro conteniendo 9 ml de medio. Inocular 0,2 ml del producto a ser examinado en cada una de por lo menos dos placas de medio sólido. Para medios líquidos inocular 10 ml de producto cada 100 ml de medio. Incubar entre 35 y 38 °C en condiciones de aerobiosis y de microaerofilia, durante 21 días; paralelamente incubar una porción de 100 ml de cada medio sin inocular para usar como control. Si durante el agregado del producto en ensayo se produce cualquier cambio de pH, restaurar el valor de pH del medio de cultivo mediante el agregado de una solución de hidróxido de sodio o de ácido clorhídrico.

Al primero, segundo y tercer día después de la inoculación subcultivar cada cultivo líquido por inoculación de 0,2 ml en cada una de dos placas de cada medio sólido utilizado e incubar entre 35 y 38 °C en aerobiosis y microaerofilia durante no menos de 21 días. Repetir este procedimiento al sexto, séptimo y octavo día y nuevamente a los trece o catorce días de iniciado el ensayo. Observar los medios líquidos cada dos o tres días y si se produce cualquier cambio de color subcultivar inmediatamente. Observar los medios sólidos una vez a la semana.

Si los medios líquidos evidencian contaminación fúngica o bacteriana repetir el ensayo. Si, no antes de los 7 días después de la inoculación, no más de una placa de cada paso del ensayo se contamina con hongos o bacterias o se rompe, esa placa debe ser ignorada si se comprueba por examinación inmediata que no presenta evidencia de crecimiento de micoplasmas. Si, en cualquier paso del ensayo más de una placa se

contamina accidentalmente con hongos o bacterias o se rompe, el ensayo no es válido y debe repetirse.

Incluir en el ensayo controles positivos preparados inoculando no más de 100 ufc de especies como *M. orale* o *M. pneumoniae*.

Al finalizar el periodo de incubación, examinar microscópicamente todos los medios sólidos inoculados para la presencia de micoplasmas. El producto cumple el ensayo si no se produce crecimiento de micoplasmas en todos los medios inoculados. Si se produce crecimiento de micoplasma, el ensayo debe ser repetido una vez usando el doble de la cantidad de inóculo, medios y placas, si no se produce crecimiento de micoplasmas el producto cumple el ensayo. El ensayo es no válido si no se produce crecimiento en los controles positivos.

MÉTODO DEL INDICADOR EN CULTIVO CELULAR

Los cultivos celulares se tiñen con un colorante que se une al ADN. Los micoplasmas se detectan por su patrón particulado o filamentoso de fluorescencia sobre la superficie de la célula y, en los casos de contaminación abundante también en las áreas circundantes.

Verificación del sustrato

Usando un cultivo de células Vero como sustrato, preensayar el procedimiento usando un inóculo de no más de 100 ufc de una cepa que crezca en medio sólido o líquido y desafiar su capacidad para detectar contaminación por micoplasmas tales como *Mycoplasma hyorhinae* y *Mycoplasma orale*. Puede utilizarse un sustrato celular diferente, por ejemplo la línea celular de producción, si se ha demostrado que provee la misma sensibilidad para la detección de potencial contaminación por micoplasmas.

Método

Emplear no más de 1 ml del producto en ensayo para inocular por duplicado un área no menor a 25 cm² del cultivo celular indicador creciendo confluyente. Incluir en el ensayo un control negativo (no infectado) y dos controles positivos de micoplasmas tales como *Mycoplasma hyorhinae* y *Mycoplasma orale*. Usar un inóculo de no más de 100 ufc para los controles positivos.

Si para suspensiones virales la interpretación de los resultados se ve afectada por el efecto

citopático, el virus puede ser neutralizado usando un antisuero específico que no tenga efecto inhibitorio sobre micoplasmas o el sustrato celular y que no permita el crecimiento de los virus. Para demostrar la ausencia de efectos inhibitorios en el suero, llevar a cabo controles positivos en presencia y en ausencia del antisuero.

Procedimiento

Sembrar el cultivo celular a una densidad regular (2×10^4 a 2×10^5 cel/ml o 4×10^3 a $2,5 \times 10^4$ cel/cm²) e incubar a 36 ± 1 °C durante por lo menos 2 días. Inocular el producto en ensayo e incubar durante por lo menos 2 días; realizar no menos de un subcultivo. Permitir el crecimiento del último subcultivo en una superficie apropiada para el procedimiento del ensayo. No permitir que el último subcultivo alcance a ser confluyente ya que esto podría inhibir la tinción e impedir la visualización de los micoplasmas. Descartar el medio. Enjuagar la monocapa con Solución reguladora fosfato salina pH 7,4 luego con una mezcla de iguales volúmenes del mismo solvente y una solución fijadora apropiada y por último con la solución fijadora. Agregar la solución fijadora y dejar reposar durante 10 minutos. Eliminar y descartar la solución fijadora. Si la monocapa va a ser teñida posteriormente, secar completamente y si la monocapa va a ser teñida directamente, eliminar la solución fijadora con dos lavados con agua destilada estéril y descartar el agua. Agregar bisbenzimidida diluida (SR) o cualquier otro colorante para ADN y dejar reposar durante 10 minutos. Eliminar el colorante y lavar la monocapa con agua.

Examinar por epifluorescencia (filtro de excitación a 300 nm/380 nm, filtro barrera LP 440 nm) con un aumento entre 100 y 400 × o mayor. Comparar la apariencia microscópica del cultivo de ensayo con los controles positivos y negativos, examinando la fluorescencia extranuclear. Los micoplasmas se visualizan como puntos o filamentos sobre el citoplasma celular y, en algunos casos en los espacios intercelulares.

El producto a ser examinado cumple con el ensayo si no se exhibe evidencia de la presencia de micoplasmas en los cultivos de ensayo inoculados con el producto. El ensayo sólo es válido si los controles positivos exhiben evidencia de la presencia de micoplasma.

339. ENSAYO DE NEUROVIRULENCIA PARA VACUNAS A VIRUS VIVO

Para cada ensayo, utilizar no menos de diez monos que sean seronegativos para el virus en ensayo. Para cada mono inyectar no más de 0,5 ml de la muestra en ensayo dentro de la región del tálamo de cada hemisferio salvo otro caso indicado. La cantidad total de virus inoculado en cada mono no debe ser menor de la cantidad contenida en la dosis humana simple recomendada de la vacuna. Para verificar la ausencia de virus neurovirulento salvaje, mantener un grupo de no menos de cuatro monos control. Observar los monos inoculados durante 17 a 21 días para síntomas de parálisis y otra evidencia de complicación neurológica, observar los monos control durante 10 días más del mismo período. Los animales que mueran durante las 48 horas después de la inyección son considerados muertos por causas no específicas y pueden ser reemplazados. El ensayo sólo es válido si no más de 20 % de los monos inoculados mueren por causas no específicas y muestras de suero de los monos control tomadas al momento de inoculación de los animales del ensayo y 10 días posteriores a la muerte no muestran signos de infección con virus salvajes del tipo de virus a en ensayo o por virus de sarampión. Al final del período de observación realizar una autopsia y un examen histopatológico de las áreas apropiadas del cerebro para evidencia de complicaciones del sistema nervioso central. La muestra en ensayo cumple con los requisitos si no hay evidencia clínica e histopatológica inesperadas de complicaciones del sistema nervioso central atribuibles al virus inoculado.

ENSAYO PARA LA VACUNA CONTRA LA POLIOMIELITIS ORAL

Los monos utilizados en el ensayo de neurovirulencia deben cumplir con los requisitos de *Vacuna contra la poliomiелitis oral* y deben pesar no menos de 1,5 kg. La patogenicidad para monos *Macaca* o *Cercopithecus* es evaluada en comparación con la de la preparación del virus de referencia para neurovirulencia mediante inoculación en la región lumbar del sistema nervioso central luego de la sedación con una sustancia apropiada, por ejemplo hidrocloreuro de ketamina. Una muestra de suero tomada antes de la inyección debe demostrar no contener anticuerpos neutralizantes a una dilución de 1 en 5 cuando se evalúa contra no más de 1.000 CCID₅₀ de cada uno de los tres tipos de poliovirus.

Número de monos

Inocular igual número de animales con la vacuna en ensayo y la preparación de referencia. Distribuir los animales al azar entre los distintos grupos de tratamiento y codificar las cajas y su identidad para que el tratamiento recibido por cada animal sea conciliado por los evaluadores de cada sección. El número de monos inoculados debe ser tal que en la evaluación de la vacuna y de la preparación de referencia, se incluyan no menos de once monos positivos para el virus tipo 1 y tipo 2 y no menos de dieciocho monos positivos para el virus tipo 3 (monos positivos son aquellos que muestran lesiones neuronales específicas del poliovirus en el sistema nervioso central).

Puede ensayarse más de un lote de vacuna con la misma referencia homotípica. Siempre que sea posible deben utilizarse monos del mismo grupo de cuarentena. Si se utilizan monos provenientes de 2 grupos se deben tratar igual número de cada grupo con la vacuna y con la preparación de referencia. Si el ensayo se realiza en 2 días de trabajo, un mismo número de monos de cada grupo debe ser inoculado en cada día con la vacuna y la preparación de referencia homotípica.

Contenido de virus

Ajustar el contenido de virus de la vacuna y el de la preparación homotípica de referencia de manera de estar entre $10^{5.5}$ y $10^{6.5}$ CCID₅₀ por 0,1 ml.

Observaciones

Observar todos los monos durante 17 a 22 días para determinar la presencia de signos de poliomiелitis u otras infecciones virales. Realizar una autopsia a aquellos monos que sobreviven las primeras 24 horas pero mueren antes del día 11 después de la inoculación para determinar si la poliomiелitis fue la causa de muerte. Los animales que mueren por causas diferentes a la poliomiелitis son excluidos para la evaluación. Sacrificar los animales moribundos o aquellos que están severamente paralizados y realizar una autopsia. El ensayo sólo es válido si no más de 20 % de los animales muestra infección recurrente durante el período de observación.

Número de secciones examinadas

Se sugiere la examinación histológica de por lo menos: médula lumbar, médula cervical, bulbo raquídeo inferior y superior, cerebro medio, tálamo y la corteza motora de cada mono.

Cortar las secciones de un espesor de 15 µm y teñidas con galocianina. El mínimo número de secciones examinadas es el siguiente:

1. 12 secciones representativas del engrosamiento lumbar en su totalidad,
2. 10 secciones representativas del engrosamiento cervical en su totalidad,
3. 2 secciones del bulbo raquídeo,
4. 1 sección del puente y cerebelo,
5. 1 sección del cerebro medio,
6. 1 sección del lado izquierdo y otra del lado derecho del tálamo,
7. 1 sección del lado izquierdo y otra del lado derecho de la corteza cerebral.

Puntaje de la actividad viral

Para la evaluación de la actividad del virus en las hemisecciones de la médula espinal y del tallo cerebral se utiliza un sistema de puntaje según la severidad de las lesiones, diferenciándose infiltración celular y destrucción de neuronas según se indica:

1. Solo infiltración celular (el mono no se cuenta como positivo)
2. Infiltración celular con daño neuronal mínimo
3. Infiltración celular con daño neuronal extensivo
4. Daño neuronal masivo con o sin infiltración celular

Los puntajes son registrados en una planilla. Un mono con lesiones neuronales en las secciones pero que no presente tracto de aguja es considerado como positivo. Un mono que presente tracto de aguja en las secciones pero no lesiones específicas del virus no es considerado positivo. Si en una sección se observa daño debido a trauma pero ninguna lesión específica por virus, dicha sección no será incluida en la valoración. La gravedad de las lesiones se basa en la observación de los cortes histológicos lumbar (L), cervical (C) y cerebral (B). El índice de lesión (IL) para cada mono positivo se calcula mediante la fórmula siguiente:

$$IL = \frac{\left[\frac{\sum L}{N_{hemisecc}^o} \right] + \left[\frac{\sum C}{N_{hemisecc}^o} \right] + \left[\frac{\sum B}{N_{hemisecc}^o} \right]}{3}$$

Calcular el índice de lesión promedio para cada grupo de monos positivos.

Evaluación

La comparación de la actividad del virus en la vacuna y en la preparación de referencia se basa en la actividad existente en el engrosamiento lumbar de la médula y el grado de difusión de la actividad desde esta región hacia el engrosamiento cervical y el cerebro. La vacuna será aceptada o rechazada sobre la base de la valoración total de todos los animales

ensayados. Los animales que presenten individualmente una actividad inusualmente elevada, tanto en la región lumbar o como resultado de la difusión desde dicha región, también son tenidos en cuenta en la evaluación final. El producto a granel filtrado cumple el ensayo si el número de animales requerido es positivo y si en ninguno de los exámenes clínicos e histopatológicos se registra una diferencia significativa entre la patogenicidad del virus de la vacuna y el del material de referencia.

Criterio de aceptación

Realizar un mínimo de cuatro ensayos de neurovirulencia (considerados calificadorios) sobre cada vacuna de referencia (tipos 1, 2 y 3), para obtener datos sobre la actividad de tales vacunas para establecer criterios de aceptabilidad para las vacunas sometidas a ensayo. Calcular el valor medio general de las lesiones M para los ensayos repetidos con cada virus de referencia, junto con una estimación conjunta de la varianza intra-ensayo s^2 y la desviación intra-ensayo s .

Los criterios de validez para los resultados de un ensayo sobre una preparación de referencia se establecen sobre la base de los datos acumulados de los ensayos calificadorios por lo que no es posible dar ningún criterio aplicable de forma general. En laboratorios con experiencia limitada, puede resultar de ayuda el siguiente método empírico para establecer límites aceptables para la media de los índices de lesión para la preparación de referencia X_{ref} :

	Límite inferior	Límite superior
Tipo 1 y 2	$M - s$	$M + s$
Tipo 3	$M - s/2$	$M + s$

Si el valor medio de lesiones para la vacuna en ensayo es X_{test} y C_1 , C_2 y C_3 son constantes determinadas según se indica:

$$C_1 = 2,3 \sqrt{\frac{2s^2}{N_1}}$$

$$C_2 = 2,6 \sqrt{\frac{2s^2}{N_1}}$$

$$C_3 = 1,6 \sqrt{\frac{2s^2}{N_2}}$$

Siendo N_1 el número de monos positivos por vacuna analizada, N_2 el número de monos positivos en los dos ensayos, 2,3 la desviación normal en el nivel de 1,0 %, 2,6 la desviación normal en el nivel de 0,5 % y 1,6 la desviación normal en el nivel de 5,0 %.

La vacuna no cumple con los requisitos si:

$$X_{test} - X_{ref} > C_1$$

La vacuna puede ser reanalizada una vez si:

$$C_1 < X_{test} - X_{ref} < C_2$$

Si la vacuna es reanalizada, calcular las medias de los puntajes de las lesiones de las vacunas en ensayo y la vacuna de referencia. La vacuna no cumple con los requisitos si:

$$\frac{X_{(test_1 + test_2)} - X_{(ref_1 + ref_2)}}{2} > C_3$$

Un ensayo de neurovirulencia en el cual el puntaje de la lesión media para la referencia X_{ref} no es compatible con la experiencia previa, no debe ser usado para evaluación de una vacuna en ensayo.

El ensayo sólo es válido si el puntaje de la lesión media para la vacuna en ensayo X_{test} es calculada y comparada con una vacuna de referencia homotípica.

345. ENSAYO DE *SALMONELLA*/FRACCIÓN MICROSOMAL (TEST DE AMES) PARA DETECCIÓN DE MUTAGENICIDAD

El ensayo de Salmonella-fracción microsomal (o test de Ames) es una prueba *in vitro* que permite evaluar el potencial efecto mutagénico de compuestos químicos o productos biológicos como una medida indirecta del posible efecto carcinogénico sobre seres humanos. Esta prueba utiliza varias cepas de *Salmonella typhimurium* auxótrofas para el aminoácido histidina, que poseen distintas mutaciones en genes del operón histidina. Esas mutaciones son el blanco para mutágenos que producen daño al ADN por diferentes mecanismos. Cuando esas cepas de *Salmonella* se siembran sobre placas de medio mínimo-glucosa (placas MG) que contienen trazas de histidina, sólo pueden crecer en él las bacterias que revirtieron al fenotipo *his+*. El número de colonias revertantes por placa producidas en forma espontánea es relativamente constante para cada cepa. Por eso cuando se agrega un mutágeno a la placa, el número de colonias revertantes aumenta de manera dependiente de la dosis de dicho mutágeno.

Como las bacterias son incapaces de metabolizar productos químicos mediante citocromos P450, como los mamíferos y otros

vertebrados, un componente clave del ensayo para hacerlo realmente útil es el agregado de un *Sistema exógeno de activación metabólica de mamífero*; se emplea habitualmente fracción microsomal de hígado de rata.

Cepas

Se utilizan las cepas de *Salmonella typhimurium* TA 97a, TA 98, TA 100, TA 102, TA 1535 y TA 1538. Las mismas deberán ser provistas por un centro de referencia que certifique su autenticidad.

Éstas se conservarán congeladas a -80 °C (en freezer) o en nitrógeno líquido. Su mantenimiento se realizará de acuerdo a lo aconsejado por el proveedor o lo acostumbrado por el laboratorio. Los cultivos congelados se prepararán a partir de cultivos frescos a los que se les agregará un agente crioprotector (por ejemplo Glicerol al 10 % v/v concentración final).

Cada cepa tiene una mutación en el operón histidina y otras mutaciones que aumentan su capacidad para detectar mutágenos. Los genotipos relevantes de las cepas se detallan en la *Tabla 1*.

Tabla 1

Cepa	Mutación operón histidina	Reversión	<i>bio ΔuvrB</i>	LPS	Plásmido
TA 97a	<i>hisD6610</i>	Corrimiento de armazón	Delección	<i>rfa</i>	pKM101
TA 98	<i>hisD3052</i>	Corrimiento de armazón	Delección	<i>rfa</i>	pKM101
TA 100	<i>his G46</i>	Sustitución	Delección	<i>rfa</i>	pKM101
TA 102	<i>hisG428</i>	Transición /transversión	Tipo salvaje	<i>rfa</i>	pKM101, pAQ1
TA 1535	<i>his G46</i>	Sustitución	Delección	<i>rfa</i>	-
TA 1538	<i>hisD3052</i>	Corrimiento de armazón	Delección	<i>rfa</i>	-

bioΔuvrB: la mutación por delección de *uvrB* elimina el sistema de reparación de ADN por escisión. Eso aumenta la mutabilidad de la bacteria y la hace sensible a la irradiación con luz UV. La delección abarca también el gen para biotina lo que hace que la bacteria sea dependiente de biotina.

rfa: esta mutación produce una síntesis defectuosa del lipopolisacárido (LPS) de pared lo que aumenta la permeabilidad de la bacteria para compuestos voluminosos. La bacteria se vuelve sensible al colorante Cristal Violeta.

Plásmido pKM101: aumenta la mutagénesis química e inducida por UV mediante un aumento de la ruta de reparación por recombinación, propensa a error. El plásmido confiere resistencia a ampicilina.

Plásmido pAQ1: este plásmido multicopia lleva la mutación *hisG428*. Eso amplifica el número de sitios para la acción del mutágeno con el consiguiente aumento de reversión de la cepa portadora. El plásmido confiere resistencia a tetraciclina.

SOLUCIONES Y MEDIOS DE CULTIVO

Soluciones

Cada ensayo debe realizarse con una misma partida de reactivos, soluciones, medios y ágar.

I. Solución de glucosa al 10 %

D-glucosa (Dextrosa).....100 g
Agua destilada c.s.p.....1 litro

Agregar la *D*-glucosa a 700 ml de agua. Mezclar hasta que la solución sea límpida. Completar a volumen con agua destilada. Fraccionar en volúmenes superiores a 20 ml. Autoclavar. Conservar en heladera.

II. Solución de biotina al 0,01 %

D-biotina.....10 mg
Agua destilada.....100 ml

Calentar el agua a aproximadamente 40 °C y disolver la *D*-biotina. Esterilizar por filtración a través de membrana con tamaño nominal de poro no mayor de 0,45µm . Conservar en heladera.

III. Solución de histidina al 0,5 %

L-histidina . HCl . H₂O.....500 mg
Agua destilada.....100 ml

Disolver la histidina en el agua destilada. Autoclavar y conservar en heladera.

IV. Solución de histidina/biotina 0,5 mM

D-biotina.....124 mg
L-histidina . HCl . H₂O.....96 mg
Agua destilada.....1 litro

Calentar el agua a aproximadamente a 40 °C y disolver la *D*-biotina y la *L*-histidina. Esterilizar por filtración a través de de membrana con tamaño nominal de poro no mayor de 0,45 µm. Conservar en heladera.

V. Solución reguladora de fosfato de sodio 0,2 M pH 7,4

Solución A:

Fosfato dibásico de sodio anhidro.....28,4 g
Agua destilada c.s.p.....1 litro

Solución B:

Fosfato monobásico de sodio monohidrato....27,6 g
Agua destilada c.s.p.....1 litro

Disolver las sales en un volumen reducido de agua y luego completar a volumen final.

Para preparar la solución reguladora mezclar 1 volumen de *Solución A* y 2 volúmenes de *Solución B*. Ajustar el pH a 7,4 ± 0,2. Esterilizar en autoclave. Conservar en heladera.

VI. Cofactores para la mezcla S9

D-glucosa-6-fosfato.....1,6 g
Nicotinamida adenina dinucleótido
fosfato (NADP).....3,5 g
Cloruro de magnesio.....1,8 g
Cloruro de potasio.....2,7 g
Fosfato dibásico de sodio anhidro.....12,8 g
Fosfato monobásico de sodio
monohidrato.....2,8 g
Agua destilada c.s.p.....1 litro

Agregar a 750 ml de agua los ingredientes uno a uno, disolviendolos por completo antes de agregar el siguiente. Completar a volumen con agua. Esterilizar por filtración a través de membrana con tamaño nominal de poro no mayor de 0,45µm.. Conservar a -20 °C en envases de vidrio inactínico.

VII. Solución de ampicilina al 0,8 %

Ampicilina.....800 mg
Agua destilada.....100 ml

Disolver la ampicilina en el agua caliente (aproximadamente 40 °C). Esterilizar por filtración a través de membrana con tamaño nominal de poro no mayor de 0,45µm. Conservar en heladera en envases de vidrio inactínico durante no más de 15 días.

VIII. Solución de tetraciclina al 0,08 %

Tetraciclina.....80 mg
Agua destilada:Etanol (1:1).....100 ml

Disolver la tetraciclina en la mezcla de agua destilada : etanol (1:1). Esterilizar por filtración a través de membrana con tamaño nominal de poro no mayor de 0,45µm. Conservar en envase inactínico en heladera.

IX. Solución de cristal violeta al 0,1 %

Cristal violeta.....100 mg
Agua destilada.....100 ml

Disolver el cristal violeta en el agua. Conservar en envase inactínico en heladera.

X. Soluciones madres de mutágenos control

Solución de 2-aminoantraceno: 25 mg por ml en dimetil sulfóxido.

Solución de Azida sódica: 10,0 mg por ml en agua destilada.

Solución de 9-aminoacridina: 10 mg por ml en dimetil sulfóxido.

Solución de Nitrofurantoína: 20 mg por ml en dimetil sulfóxido.

Solución de Mitomicina C: 1 mg por ml en agua destilada.

Solución de 4-Nitroquinolina-N-óxido: 20 mg

por ml en dimetil sulfóxido.

Se pueden emplear otros mutágenos de probada acción sobre la cepa de interés.

Las soluciones madres de los mutágenos deben ser preparadas extremando las medidas de seguridad dado la peligrosidad de las sustancias que se manipulan. Se debe trabajar solamente bajo campana de seguridad biológica y con la protección adecuada.

En cada caso pesar la cantidad de droga necesaria por diferencia en el recipiente en el cual se preparará la solución, preferentemente frascos de vidrio inactivado, estériles, agregar el volumen de solvente estéril necesario y disolver. No filtrar.

Las soluciones madres de los mutágenos se conservan a -20°C y se diluyen a las concentraciones de trabajo en el día del ensayo.

PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO Y PLACAS

I. Medio E (50x) (sales VB ó Vogel-Bonner)

Sulfato de magnesio heptahidrato.....	10 g
Ácido cítrico monohidrato	100 g
Fosfato dibásico de potasio anhidro	500 g
Fosfato de sodio y amonio tetrahidrato.....	175 g
Agua destilada c.s.p.....	1 litro

Agregar los ingredientes a 650 ml de agua caliente (aproximadamente a 40°C) en el orden indicado y mezclar con agitador magnético hasta disolución total antes del agregado del componente siguiente. Completar a volumen con agua. Fraccionar, esterilizar a 121°C en autoclave durante 15 minutos. Conservar en envases inactivados a temperatura ambiente.

II. Agar blando suplementado con histidina/biotina

Agar.....	6 g
Cloruro de sodio.....	6 g
Solución de histidina/biotina 0,5 mM.....	100 ml
Agua destilada c.s.p.....	1 litro

Autoclavar el agua con el agar y el cloruro de sodio a 121°C durante 15 minutos. Conservar en heladera. En el momento de usar fundir el medio preparado en microondas o en agua hirviendo y agregar la *Solución estéril de histidina/biotina 0,5 mM*.

III. Caldo nutritivo

Seguir las instrucciones del fabricante que figuran en el envase.

IV. Placas de agar nutritivo

Seguir las instrucciones del fabricante que figuran en el envase. Luego de la esterilización

dejar entibiar y volcar en placas de Petri de plástico estériles.

V. Placas de medio mínimo-glucosa (MG)

Agar.....	15 g
Medio E (50x).....	20 ml
Solución de glucosa al 10 %.....	50 ml
Agua destilada c.s.p.....	1 litro

Agregar el agar al agua y autoclavar. Dejar enfriar hasta aproximadamente 60°C . Agregar el *Medio E (50x)* y la *Solución de glucosa al 10 %*, previamente esterilizados, mezclar cuidadosamente y volcar en placas de Petri de plástico estériles.

VI. Placas de medio mínimo-glucosa (MG) enriquecidas

[NOTA: estas placas serán empleadas para el aislamiento y la caracterización fenotípica de las cepas de manera que en todos los casos deben contener histidina en exceso (para su preparación se emplea *Solución de histidina al 0,5 %*), a diferencia de las placas que se emplean para la realización del ensayo que sólo contendrán trazas de histidina para permitir sólo unas pocas divisiones de las cepas *his* -].

Para preparar medio mínimo – glucosa enriquecido agregar los siguientes volúmenes a 1 litro del medio agarizado preparado en *V. Placas de medio mínimo-glucosa (MG)*:

Placas MG-biotina

Solución de biotina al 0,01 %.....	8 ml
------------------------------------	------

Placas MG-histidina

Solución de histidina al 0,5 %.....	8 ml
-------------------------------------	------

Placas MG-biotina/histidina

Solución de biotina al 0,01 %.....	8 ml
------------------------------------	------

Solución de histidina 0,5 %.....	8 ml
----------------------------------	------

Placas MG-biotina/histidina/Ampicilina

Solución de biotina al 0,01 %.....	8 ml
------------------------------------	------

Solución de histidina al 0,5 %.....	8 ml
-------------------------------------	------

Solución de ampicilina al 0,8 %.....	3 ml
--------------------------------------	------

(concentración final $24\ \mu\text{g}$ por ml)

PlacasMG-biotina/histidina/Ampicilina/Te-traciclina

Solución de biotina al 0,01 %.....	8 ml
------------------------------------	------

Solución de histidina al 0,5 %.....	8 ml
-------------------------------------	------

Solución de ampicilina al 0,8 %.....	3 ml
--------------------------------------	------

(concentración final $24\ \mu\text{g}$ por ml)

Solución de tetraciclina al 0,08 %.....	0,25 ml
---	---------

(concentración final $2\ \mu\text{g}$ por ml)

Sistema exógeno de activación metabólica

El sistema de activación metabólica utilizado habitualmente consiste en el sobrenadante de la fracción obtenida a 9.000 G con un homogenato de

hígado de rata (fracción microsomal S-9) que ha sido previamente inducida con una mezcla de bifenilos policlorados de las que se encuentran comercialmente disponibles, o con una mezcla de fenobarbital y β -naftoflavona. Una vez obtenida la fracción microsomal S-9, se fracciona y se conserva a -80 °C.

Mezcla S-9

En el momento de emplearlos se descongela un volumen de S-9 de acuerdo a las necesidades del ensayo y el volumen equivalente de mezcla de cofactores (ver *Soluciones y medios de cultivo*). Se prepara la mezcla S9: habitualmente se emplean concentraciones entre 5 y 30 % v/v de fracción microsomal en solución de cofactores. La elección dependerá del tipo de producto a ensayar.

Recuperación de las cepas para su caracterización fenotípica y para la realización del ensayo

Para cada ensayo las cepas de *Salmonella* se recuperan tomando una alícuota del cultivo congelado y transfiriéndola a caldos nutritivos (con el agregado de antibiótico en los casos que corresponda para evitar la pérdida de los plásmidos) de manera de obtener una densidad inicial aproximada de células de entre 10^6 y 10^7 ufc por ml. Los caldos se incuban a 35 – 37 °C hasta una densidad de $1-2 \times 10^9$ ufc por ml. Se sugiere realizar un recuento en placa, mediante diluciones seriadas, para confirmar el número de bacterias viables. De ahora en adelante estos caldos serán denominados *Cultivos de trabajo*.

[NOTA: el resto del cultivo congelado no se reutiliza.]

Caracterización fenotípica de las cepas de *Salmonella typhimurium* utilizadas para la realización del ensayo

A continuación se describen los ensayos a realizar con las cepas de *Salmonella typhimurium* que se utilizarán para la realización del ensayo con el propósito de confirmar la identidad genética de las mismas y su tasa de reversión espontánea al carácter *his*⁺.

Estos ensayos deben ser realizados cuando se reciban cepas nuevas, cuando se preparen cultivos para ser congelados o cuando se considere necesario.

Procedimiento

Los ensayos se realizan con cultivos de toda la noche en caldo nutritivo.

a) Dependencia de histidina (his)

Se realiza un aislamiento del cultivo en una Placa MG-biotina. Como todas las cepas utilizadas

de *Salmonella* son dependientes de histidina, no debe observarse crecimiento luego de 48 horas de incubación a 35 – 37,0 °C.

b) Dependencia de biotina (bio)

Se realiza un aislamiento del cultivo en una Placa MG-histidina. No debe observarse crecimiento, excepto con la cepa TA102 que es independiente de biotina, luego de 48 hs de incubación a 35 - 37 °C.

c) Dependencia de biotina e histidina (bio, his)

Se realiza un aislamiento del cultivo en una Placa MG-biotina/histidina. Debe observarse crecimiento con todas las cepas luego de 24-48 hs de incubación a 35 - 37 °C..

d) Marcador rfa

Se realiza un aislamiento del cultivo en una Placa MG-biotina/histidina, o en una placa de agar nutritivo. Se coloca un disco de papel de filtro estéril en el centro de la siembra y se aplican sobre él, 10 μ l de solución de cristal violeta al 0,1 %. Todas las cepas deben mostrar una zona de inhibición de crecimiento alrededor del disco después de 24 horas de incubación a 35 - 37 °C.

*e) Deleción *uvrB**

Se realiza un aislamiento del cultivo en una Placa MG-biotina/histidina o en una placa de agar nutritivo. Se irradia la placa con luz UV(C) durante un período de tiempo previamente estandarizado, se envuelve en papel de aluminio para evitar la fotorreparación en contacto con la luz y se incuba a 35 - 37 °C. Excepto la cepa TA102 el resto de las cepas de *Salmonella* no crecen después de la irradiación.

f) Presencia del plásmido pKM101 (resistencia a ampicilina)

Se realiza un aislamiento del cultivo en una Placa MG-biotina/histidina/Ampicilina o en una placa de agar nutritivo con ampicilina (24 μ g por ml). Se incuba a 35 - 37 °C y debe observarse crecimiento sólo con las cepas portadoras del plásmido pKM101.

g) Presencia del plásmido pAQ1 (resistencia a tetraciclina)

Se hace un aislamiento del cultivo en una Placa MG-biotina/histidina/Ampicilina/Tetraciclina o en una placa de agar nutritivo con tetraciclina (2 μ g por ml). Se incuba a 35 - 37 °C y debe observarse crecimiento sólo con la cepa TA102 que es la única portadora del plásmido pAQ1.

h) Frecuencia de mutación espontánea

Para determinar la frecuencia de mutación espontánea de las cepas de *Salmonella* se emplea el

método de incorporación en placa (ver más adelante). Los valores de reversión espontánea deben encontrarse dentro del rango de valores histórico del laboratorio para cada cepa o del informado por el proveedor.

ENSAYO DE SALMONELLA/FRACCIÓN MICROSOMAL (TEST DE AMES) PARA DETECCIÓN DE MUTAGENICIDAD

En esta sección se describirá la realización del Ensayo de *Salmonella*/Fracción microsomal (Test de Ames) para la detección de mutagenicidad de compuestos químicos y productos biológicos.

PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Solventes

Se utilizará preferentemente agua destilada estéril. Si la muestra a probar no es soluble en agua se utilizará dimetil sulfóxido.

Si se emplea otro solvente se realizará un ensayo preliminar de toxicidad del mismo para determinar la concentración máxima que no afecte el crecimiento y supervivencia bacterianos.

Determinación preliminar de la toxicidad de la muestra en estudio

Para esta etapa se empleará el procedimiento de incorporación en placa del Test de Ames que se describe más adelante.

Se realizará un ensayo preliminar de toxicidad para determinar la dosis máxima de la muestra que puede emplearse en el ensayo de mutagenicidad.

Esta prueba se realizará en ausencia y presencia de la mezcla de activación metabólica y deberán incluirse un control positivo y uno de solvente. Se probarán al menos tres concentraciones de la solución (acuosa u orgánica) de la muestra.

El ensayo de toxicidad puede llevarse a cabo con una sola cepa (TA100 o TA98, o las cepas que se emplearán en el ensayo definitivo).

La cepa se pondrá en presencia de su mutágeno específico (por ej. 2-nitro fluoreno para TA98) y se observará la disminución en el recuento de revertantes como resultado de la inhibición de crecimiento por la muestra.

Se empleará la menor dilución de la muestra que no inhiba el crecimiento bacteriano para la realización del ensayo definitivo.

En el caso de productos no tóxicos se propone una dosis máxima entre 5 y 10 mg por placa siempre que la solubilidad de los mismos lo permita.

PROCEDIMIENTOS

Ensayo de incorporación en placa

En este ensayo se exponen directamente las cepas de *Salmonella* a la acción de la muestra a

probar sobre *Placas de medio mínimo-glucosa (MG)* en presencia y ausencia de *Mezcla S-9*.

Procedimiento experimental

1) Preparar los cultivos de trabajo según lo descrito anteriormente.

2) Rotular las *Placas de medio mínimo-glucosa (MG)* y los tubos de vidrio estériles de 13 × 100 mm.

3) Preparar la *Mezcla S-9* y mantenerla sobre hielo hasta el momento de su uso.

4) Preparar las diluciones de la muestra a ser probadas. Se propone un mínimo de cinco diluciones de la muestra en estudio, que cubran un rango de tres órdenes de magnitud.

5) Preparar el *Agar blando suplementado con histidina/biotina* y mantenerlo a 43 - 45 °C.

6) Agregar a los tubos de vidrio estériles mantenidos a 43 - 45 °C, en el orden siguiente y mezclando después de cada agregado:

- Entre 2 y 3 ml de *Agar blando suplementado con histidina/biotina*.
- 0,50 ml de la *Mezcla S9* o de *Solución reguladora de fosfato de sodio 0,2 M pH 7,4* según corresponda
- 0,05 ml de la muestra en ensayo
- 0,1 ml del cultivo de trabajo de la cepa de *Salmonella* (entre 1 y 2 × 10⁸ ufc por tubo).

7) Volcar el contenido de cada tubo en una placa de agar *MG* y dejar solidificar el agar blando a temperatura ambiente.

8) Invertir las placas y colocarlas en la estufa de cultivo a 35 - 37 °C durante 48 horas.

9) Contar las colonias revertantes aparecidas en cada placa.

Sembrar cada condición por triplicado.

Ensayo de preincubación

En esta variante del método se preincuba la solución de la muestra con la cepa (aproximadamente 10⁸ ufc por tubo) en presencia y ausencia del sistema de activación metabólica durante 20 a 30 minutos a 35 - 37 °C antes de mezclar con el *Agar blando suplementado con histidina/biotina* y volcarlo sobre la superficie de la placa de medio mínimo con glucosa.

Los tubos deben ser preincubados con agitación.

Procedimiento experimental

1) Preparar los cultivos de trabajo según lo descrito anteriormente.

2) Rotular las placas *MG* y los tubos de vidrio estériles de 13 × 100 mm.

3) Preparar la *Mezcla S9* y mantenerla sobre hielo hasta el momento de usar.

4) Preparar las diluciones de la muestra a ser probada. Se propone un mínimo de cinco

diluciones de la muestra en estudio, que cubran un rango de tres órdenes de magnitud.

5) Agregar a los tubos de vidrio estériles mantenidos a 43 - 45 °C, en el orden siguiente y mezclando después de cada agregado:

- 0,50 ml de la *Mezcla S9* o de *Solución reguladora de fosfato de sodio 0,2 M pH 7,4* según corresponda.
- 0,05 ml de la muestra a probar
- 0,1 ml del cultivo de trabajo de la cepa de *Salmonella* (entre 1 y 2×10^8 ufc por tubo)

6) Incubar los tubos en baño con agitación a 35 - 37 °C durante 20-30 minutos. Concluida la incubación agregar a cada tubo entre 2 y 3 ml de *Agar blando suplementado con histidina/biotina* previamente fundido y mantenido a 43 - 45 °C.

7) Volcar el contenido de cada tubo en una placa

de agar *MG* y dejar solidificar el agar blando a temperatura ambiente.

8) Invertir las placas y colocarlas en la estufa de cultivo a 35 - 37 °C durante 48 horas.

9) Contar las colonias revertantes aparecidas en cada placa.

Sembrar cada condición por triplicado.

Controles positivos y negativos

En todas las pruebas deben incluirse controles positivos y negativos.

El *control negativo* es el solvente empleado para solubilizar y diluir la muestra en estudio y deberá ser probado en ausencia y presencia de la *Mezcla S-9*.

Los *controles positivos* se emplean en las cantidades por placa que se indican a continuación:

Tabla 2. Control positivo (con activación metabólica)

Cepa	Cantidad de mutágeno por placa
TA 97a, TA 98 y TA 100	2,5 µg de 2-Amino antraceno
TA 102	5 µg de 2-Amino antraceno

En el caso del 2-Amino antraceno es necesario ensayar en ausencia y presencia de la *Mezcla S-9* ya que adquiere actividad mutagénica al ser metabolizado.

Tabla 3. Control positivo (sin activación metabólica)

Cepa	Cantidad de mutágeno por placa
TA 97a	50 µg de 9-Aminoacridina (clorhidrato.hidrato)
TA 98 y TA 1538	5 µg de Nitrofurantoína
TA 100 y TA 1535	5 µg de Azida sódica
TA 102	0,5 µg de Mitomicina C

Los mutágenos que figuran en esta tabla tienen actividad mutagénica *per se*.

Se pueden emplear otros mutágenos de probada acción sobre la cepa de interés.

Registro de los resultados

Se completará una planilla por cada una de las cepas empleadas, con y sin activación metabólica. En las mismas deben figurar los resultados de las lecturas de cada una de las tres placas, el promedio y el desvío estándar en las cinco concentraciones de muestra y en los controles.

Evaluación de los resultados

Los datos se evalúan según los siguientes criterios:

Una muestra se considera *Positiva* (mutagénica) si el número promedio de revertantes, con cualquiera de las cepas y en cualquiera de las concentraciones probadas, es al menos dos veces

mayor que el número de revertantes detectadas en el control negativo y se observa un incremento relacionado con la concentración en las revertantes por placa con la misma cepa.

Una muestra se considera *Negativa* (no mutagénica) si no hay ninguna concentración en la que se produce un número promedio de revertantes por placa superior por lo menos en dos veces al número de revertantes detectadas en el control negativo y no muestra un incremento de revertantes relacionado con la concentración.

Deben realizarse dos ensayos independientes con cada muestra.

Cuando se obtengan resultados positivos es conveniente repetir el ensayo en condiciones

idénticas a las que dieron respuesta positiva para confirmarlos. Se recomienda utilizar sólo la cepa y las condiciones que dieron respuesta positiva.

Si se obtienen resultados negativos se recomienda repetir el ensayo completo utilizando una concentración diferente de fracción S-9 ó un procedimiento diferente (por ej. preincubación en lugar de incorporación en placa).

360. ENSAYO DE TOXICIDAD ANORMAL

El siguiente ensayo se emplea para determinar una reactividad biológica inaceptable o inesperada en productos farmacéuticos. Para productos de origen biológico realizar el ensayo según se indica en *Productos biológicos*.

Procedimiento - Seleccionar cinco ratones sanos que pesen 20 ± 3 g y que no hayan sido empleados en ningún ensayo previo.

Preparar la solución muestra según se especifica en la monografía correspondiente e inyectar a cada ratón 0,5 ml de la misma por vía intravenosa.

Observar los animales durante las 48 horas posteriores a la inyección. Si al cabo de 48 horas todos los animales sobreviven y no más de uno presenta signos externos de una reacción inesperada para el nivel de toxicidad del producto, el mismo cumple con los requisitos del ensayo. Si uno de los animales muere o si más de uno presenta signos de toxicidad anormal, repetir el ensayo empleando al menos diez ratones similares a los del ensayo original que pesen 20 ± 1 g. El producto cumple con los requisitos del ensayo si a las 48 horas todos los ratones sobreviven y no presentan signos de toxicidad anormal.

Productos biológicos - Este ensayo no está indicado para productos como sangre entera, glóbulos rojos, plaquetas o plasma.

Animales - Seleccionar no menos de dos cobayos que pesen 400 ± 40 g y no menos de dos ratones que pesen 22 ± 2 g, que no hayan sido empleados en ningún ensayo previo.

Procedimiento - La duración del ensayo será de 7 días para cada especie, a menos que se especifique un período más largo en la monografía correspondiente. Cada animal debe ser pesado antes de la primera inyección y al finalizar el ensayo, registrando los pesos individualmente. La observación de los animales debe realizarse diariamente.

Los productos deben ser administrados como se detalla a continuación:

Productos líquidos o liofilizados a ser reconstituidos según se indica en el rótulo - Inyectar por vía intraperitoneal 0,5 ml del producto en cada ratón y 5 ml del producto en cada cobayo.

Productos liofilizados sin indicación de volumen de reconstitución en el rótulo y productos sólidos no liofilizados - Inyectar por vía intraperitoneal una dosis humana que no supere 1 ml a los ratones y 5 ml a los cobayos.

Interpretación de los resultados - El producto cumple con los requisitos si todos los animales sobreviven al ensayo, no presentan respuestas inesperadas al producto y el peso de los animales al finalizar el período de ensayo no es menor al que tenían al comienzo del mismo.

Si el producto no cumple con los requisitos del ensayo, repetir según se indica en *Procedimiento* empleando las especies de animales en las cuales no se cumplieron los requisitos originales. El producto cumple con los requisitos del ensayo, si los animales satisfacen el criterio especificado para el ensayo original. Si el producto no cumple con los requisitos y si han sobrevivido por lo menos el 50% de los animales (incluyendo el ensayo original y la repetición), repetir nuevamente con el doble de animales de las especies que no cumplieron los requisitos. El producto cumple los requisitos del ensayo si los animales satisfacen el criterio especificado en el ensayo original.

370. ENSAYOS DE ESTERILIDAD

El siguiente ensayo se emplea para verificar la ausencia de contaminación por microorganismos en productos esterilizados o preparados asépticamente. Durante el desarrollo del ensayo, el área de trabajo no debe estar expuesta a la luz ultravioleta directa ni sometida a otros agentes esterilizantes. Deben realizarse monitoreos microbiológicos del área durante los ensayos.

La ausencia de contaminación microbiana, evidenciada por este procedimiento, confirma que el producto cumple con los requisitos del ensayo aunque el mismo no es suficiente para suponer la esterilidad de la totalidad del lote ensayado, dadas las limitaciones inherentes a la estadística del muestreo. La condición de estéril se asegura a través de la validación del proceso de esterilización o del procesamiento aséptico.

MEDIOS DE CULTIVO

Los medios de cultivo se preparan de acuerdo a las siguientes fórmulas. También se pueden emplear fórmulas deshidratadas que luego de reconstituidas cumplan con el *Ensayo de promoción del crecimiento* y el *Ensayo de esterilidad de los medios de cultivo*.

Medio Tioglicolato

(Para incubación en condiciones aeróbicas)

L-Cistina	0,50 g
Agar (con menos de 15 % de humedad)	0,75 g
Cloruro de sodio	2,50 g
Glucosa Monohidrato	5,50 g
Extracto de levadura (soluble en agua)	5,00 g
Digerido pancreático de caseína	15,0 g
Tioglicolato de sodio *	0,50 g
Solución de resazurina sódica (0,1 %) recién preparada.....	1,00 ml
Agua purificada c.s.p.	1.000 ml

pH después de la esterilización: $7,1 \pm 0,2$.

*En caso de reemplazarse por Ácido tioglicólico emplear 0,3 ml.

Mezclar y calentar hasta disolución completa.

Ajustar el pH del medio con hidróxido de sodio 1 N para obtener, después de la esterilización, un pH de $7,1 \pm 0,2$. Filtrar en caliente, si fuera necesario, a través de un papel de filtro

humedecido. Distribuir el medio en recipientes de vidrio que mantengan una relación entre la superficie expuesta y la profundidad de medio tal que no más de la mitad superior experimente un cambio de color, indicativo de la fijación de oxígeno, al final del período de incubación. Tapar para evitar la contaminación y la evaporación excesiva del medio durante el almacenamiento. Esterilizar empleando un procedimiento validado. Enfriar inmediatamente a 25 °C. Si más del tercio superior ha tomado una coloración rosada, el medio podrá regenerarse una sola vez, calentando los recipientes en un baño de agua o con vapor fluyente, hasta que desaparezca el color. Cuando el medio está listo para emplear, no más del décimo superior debe tener un color rosado.

Caldo Tioglicolato Alternativo

(Para incubación en condiciones anaeróbicas)

L-Cisteína	0,50 g
Cloruro de sodio	2,50 g
Glucosa monohidrato	5,50 g
Extracto de levadura (soluble en agua).....	5,00 g
Digerido pancreático de caseína.....	15,0 g
Tioglicolato de sodio*.....	0,50 g
Agua purificada c.s.p.	1.000 ml

pH después de la esterilización: $7,1 \pm 0,2$.

*En caso de reemplazarse por Acido tioglicólico emplear 0,3 ml

Disolver los componentes sólidos en el agua, calentando suavemente, si fuera necesario, hasta obtener una solución. Ajustar la misma con hidróxido de sodio 1 N para obtener, después de la esterilización, un pH de $7,1 \pm 0,2$. Filtrar, si fuera necesario, transferir a recipientes apropiados y esterilizar empleando un procedimiento validado. El medio debe ser recientemente preparado o calentado en un baño de vapor y enfriado rápidamente antes de su empleo. No se debe recalentar.

Caldo Digerido de Caseína-Soja

(Para incubación en condiciones aeróbicas)

Digerido pancreático de caseína.....	17,0 g
Digerido papáinico de harina de soja.....	3,00 g

Glucosa monohidrato.....	2,50 g
Fosfato dibásico de potasio.....	2,50 g
Cloruro de sodio.....	5,00 g
Agua purificada c.s.p.....	1.000 ml

pH después de la esterilización: $7,3 \pm 0,2$.

Disolver los componentes sólidos en el agua, calentando suavemente. Enfriar la solución a temperatura ambiente y ajustar con hidróxido de sodio 1 N para obtener, después de la esterilización, un pH de $7,3 \pm 0,2$. Filtrar, si fuera necesario, y envasar en recipientes apropiados. Esterilizar empleando un procedimiento validado.

Medios para penicilinas, cefalosporinas, cefamicinas y monobactámicos

Cuando se empleen Medio Tioglicolato y Caldo Digerido de Caseína-Soja en el *Método de transferencia directa* para penicilinas o cefalosporinas, suplementarlos mediante el agregado en forma aséptica de cantidad suficiente de una beta-lactamasa apropiada para inactivar totalmente la cantidad de antibiótico presente en la muestra.

Cuando se emplee el *Método por filtración*, también puede ser necesario el agregado de una beta-lactamasa apropiada a los medios de cultivo y/o a las soluciones de enjuague.

La cantidad y/o tiempo de contacto deben ser establecidas mediante la validación del procedimiento.

ESTERILIDAD DE LOS MEDIOS DE CULTIVO

Verificar la esterilidad de cada lote incubando una muestra del mismo a la temperatura correspondiente a cada medio, durante 14 días o incubando un recipiente con medio no inoculado como control negativo en paralelo al ensayo de esterilidad.

ENSAYO DE PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO

Examinar cada lote para determinar su capacidad de promover el crecimiento microbiano a través de su inoculación en envases separados, con no más de 100 ufc de cada una de las cepas descritas en la *Tabla 1* e incubando en las condiciones especificadas.

Los medios de cultivo son aceptables si existen evidencias de crecimiento en todos los envases inoculados dentro de los 3 días de incubación para bacterias y 5 días para hongos y levaduras. El ensayo de esterilidad no es válido si el medio de

cultivo presenta una respuesta inapropiada al crecimiento microbiano.

ALMACENAMIENTO

Si los medios se almacenan en envases sellados pueden ser empleados durante no más de 1 año, pero se deben llevar a cabo los ensayos de promoción del crecimiento cada 3 meses y confirmar si cumplen con los requisitos correspondientes al color del indicador.

Si los medios se almacenan en recipientes no sellados, pueden conservarse hasta 1 mes a menos que se haya validado un período mayor que no podrá exceder los 2 meses.

Se recomienda conservar los medios de cultivo entre 2 y 25 °C.

SOLUCIONES DE LAVADO Y DILUCION

Solución A - Disolver 1 g de peptona de carne en *Agua purificada* hasta obtener 1 litro. Filtrar o centrifugar, si fuera necesario, para obtener una solución transparente. Ajustar a pH $7,1 \pm 0,2$, envasar en recipientes apropiados y esterilizar utilizando un procedimiento validado. [NOTA: cuando la *Solución A* deba ser empleada para realizar el ensayo de esterilidad de una muestra de antibióticos del tipo penicilina, cefalosporina, cefamicina o monobactámico, agregar asépticamente a la misma, una cantidad de betalactamasa estéril suficiente para inactivar el antibiótico residual en las membranas después que la solución muestra haya sido filtrada].

Solución D - Agregar 1 ml de polisorbato 80 por cada litro de *Solución A* cuando la muestra contiene lecitina, aceite o en los ensayos para determinar la esterilidad de las partes internas de dispositivos estériles por filtración a través de membrana. Ajustar a pH $7,1 \pm 0,2$. Transferir a los envases y esterilizar.

Solución K -

Peptona de carne	5,00 g
Extracto de carne	3,00 g
Polisorbato 80	10,0 g
Agua purificada c.s.p.	1.000 ml

pH después de la esterilización: $6,9 \pm 0,2$.

Distribuir en recipientes apropiados y esterilizar.

ENSAYO DE APTITUD

Antes de efectuar un ensayo de esterilidad de un producto dado, se deberá demostrar la ausencia de actividad bacteriostática y fungistática del mismo. El ensayo de aptitud deberá efectuarse cada vez que se cambia alguna condición del ensayo o cuando

exista un cambio significativo en la composición del producto.

Los microorganismos de prueba para la realización de los ensayos de actitud son los indicados en la *Tabla 1*. Es recomendable incluir al menos una cepa aislada y caracterizada del ambiente de fabricación.

Método de filtración por membrana

Filtrar la cantidad de muestra especificada en las *Tablas 2, 3 y 4*. Lavar la membrana con hasta tres porciones de 100 ml de la solución de lavado inoculando el lavado final con no más de 100 UFC de los microorganismos de prueba. Repetir el lavado en otro filtro en el que no hubo pasaje de muestra (control positivo). Colocar cada membrana o mitad de la membrana en 100 ml del medio de cultivo especificado o agregar el medio especificado al dispositivo que contiene la membrana. Repetir el procedimiento para los microorganismos y los medios especificados en la *Tabla 1* e incubar a la temperatura apropiada y bajo las condiciones señaladas por no más de 5 días.

Si el crecimiento de los microorganismos en el medio de cultivo fuera visualmente comparable al observado en el control positivo, en adelante efectuar el ensayo de esterilidad en las mismas condiciones.

Si no fuera visualmente comparable al observado en el control positivo, el producto posee propiedades bacteriostáticas y/o fungistáticas. Repetir aumentando número y volumen de lavados hasta un máximo de 5 lavados de 200 ml cada uno, y/o cambiando el tipo de membrana, y/o empleando un agente neutralizante. Si no se logró el desarrollo de los microorganismos inoculados, proceder efectuando el ensayo de esterilidad empleando el método ensayado más exigente.

Método de transferencia directa

Inocular dos recipientes de cada medio de cultivo con aproximadamente 100 ufc de los microorganismos especificados en la *Tabla 1*. El volumen de producto no debe superar el 10 % del volumen de medio de cultivo. Agregar la cantidad de muestra especificada en las *Tablas 2, 3 y 4* a uno de los recipientes. El otro será el control positivo. Repetir el procedimiento para cada cepa e incubar durante no más de 5 días.

Si el crecimiento de los microorganismos en la mezcla de producto y medio de cultivo fuera visualmente comparable al observado en los frascos de control positivo, en adelante efectuar el ensayo de esterilidad en las mismas condiciones.

Si no fuera visualmente comparable al observado en el control positivo, el producto posee

propiedades bacteriostáticas y/o fungistáticas. Repetir el ensayo empleando agentes neutralizantes estériles, como polisorbato 80, lecitina o penicilinas, o incrementar el volumen de medio. Emplear el menor volumen en el cual el crecimiento de microorganismos en presencia del producto a ensayar no es adversamente afectado. Si se incrementó el volumen del medio a 2 litros y aún se manifiestan propiedades antimicrobianas, proceder con el ensayo de esterilidad utilizando dicho volumen. En caso de ser necesario el uso de grandes volúmenes, convendrá utilizar varios recipientes de menor volumen, o esterilizar medio de cultivo concentrado para diluir antes de usar.

PROCEDIMIENTO GENERAL

El ensayo debe realizarse en condiciones asépticas bajo un flujo laminar, cuya velocidad de aire homogénea sea aproximadamente $0,45 \text{ m/s} \pm 20 \%$ en la posición de trabajo, en un área de calidad no inferior a la empleada en la fabricación. Puede realizarse de dos maneras: por transferencia directa de la muestra al medio o mediante el método de filtración por membrana. A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, emplear el método de filtración por membrana.

Apertura de envases

Limpiar la superficie exterior de los envases con un agente descontaminante apropiado y acceder al contenido de los mismos en forma aséptica.

Si el contenido de los viales fuera envasado al vacío, se deben compensar las presiones en condiciones asépticas.

Los envases de algodón purificado, gasas, apósitos quirúrgicos, suturas y materiales similares, deben abrirse mediante técnicas asépticas.

Cantidad de muestra y condiciones de incubación

Emplear los números de unidades y cantidades indicados en las *Tablas 2, 3 y 4*.

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente o en una sección de este capítulo, incubar la mezcla de ensayo no menos de 14 días con Medio Tioglicolato o Caldo Tioglicolato Alternativo a una temperatura comprendida entre 30 y 35 °C y con Caldo Digerido de Caseína-Soja a una temperatura comprendida entre 20 y 25 °C.

METODO DE FILTRACION POR MEMBRANA

Membrana - Una membrana apropiada para los ensayos de esterilidad posee un tamaño de poro no

mayor de 0,45 µm. Para minimizar la inhibición microbiana de los residuos podrán utilizarse membranas con borde hidrófobo o de baja retención. Si el producto no tiene sustancias inhibidoras puede emplearse una membrana sin borde hidrófobo, pero debe humedecerse antes de agregar la solución con el producto. Cuando el producto a ser ensayado es un aceite, es conveniente que la membrana esté completamente seca antes de realizar el ensayo.

Unidad filtrante - Es un dispositivo que posibilita la manipulación aséptica de las muestras a ensayar, permitiendo la remoción aséptica de la membrana y su incorporación al medio de cultivo o un sistema donde el medio pueda ser agregado y la membrana incubada *in situ*. El dispositivo puede ser montado y esterilizado con la membrana colocada antes de su empleo.

Soluciones acuosas - Usar para cada medio las cantidades indicadas en las *Tablas 2 y 3*. Salvo que se indique en la monografía, transferir una pequeña porción del diluyente para humedecer la membrana. Luego transferir el contenido de la muestra a la unidad filtrante, efectuar una dilución previa, si fuera necesario, y filtrar. Salvo que el producto no tenga propiedades antimicrobianas, lavar la membrana con diluyente, con o sin agregado de antagonistas, según se indica en *Ensayo de aptitud*, al menos 3 veces con no menos de 100 ml cada vez y no más de 5 lavados de 200 ml cada uno. Transferir la membrana completa o cortarla en dos partes iguales y transferir a los medios adecuados, con o sin antagonistas, según se indica en *Ensayo de aptitud*. En caso de sistemas cerrados transferir los medios a las unidades filtrantes. Incubar los medios durante no menos de 14 días.

Sólidos solubles no antibióticos - Usar para cada medio no menos de la cantidad indicada en las *Tablas 2 y 4* disuelta en *Solución A*. Proceder según se indica en *Soluciones acuosas*.

Aceites y soluciones oleosas - Usar para cada medio las cantidades indicadas en las *Tablas 2 y 3*. Si la viscosidad es baja, filtrar sin diluir utilizando la membrana completamente seca. Si la viscosidad es alta puede ser necesario diluir en un solvente estéril adecuado, como miristato de isopropilo, que demuestre no tener propiedades antimicrobianas en las condiciones del ensayo. Lavar la membrana al menos 3 veces con aproximadamente 100 ml cada vez de una solución adecuada, que puede ser *Solución A* con una concentración predeterminada de emulsionante que haya demostrado ser apropiado durante la validación del ensayo, como por ejemplo *Solución K*. Transferir la membrana o membranas a

los medios de cultivo. En caso de sistemas cerrados transferir los medios a las unidades filtrantes. Incubar los medios según lo señalado en *Soluciones acuosas*.

Ungüentos y cremas - Usar para cada medio las cantidades indicadas en las *Tablas 2 y 3 ó 4*, según corresponda. Los ungüentos con base grasa y las emulsiones, pueden diluirse al 1 % en miristato de isopropilo que demuestre no tener propiedades antimicrobianas en las condiciones del ensayo. Calentar, si fuera necesario, hasta no más de 40 °C y excepcionalmente podrá admitirse el calentamiento hasta no más de 44 °C. Filtrar tan rápidamente como sea posible y proceder según se indica en *Aceites y soluciones oleosas*.

Jeringas prellenadas - Usar para cada medio las cantidades indicadas en las *Tablas 2 y 3*. Si las jeringas tienen las agujas acopladas, vaciar el líquido a través de la misma en la unidad filtrante o en la solución diluyente. Si la jeringa tiene aguja aparte para acoplar, vaciar directamente el líquido en la unidad filtrante o en la solución diluyente. Proceder según se indica en *Soluciones acuosas*. En este último caso evaluar la esterilidad de la aguja por separado según el procedimiento de *Transferencia directa*.

Inyectables distintos de antibióticos sólidos - Usar para cada medio las cantidades indicadas en las *Tablas 2 y 4*. Reconstituir la muestra según las instrucciones de uso del producto y proceder según se indica para *Soluciones acuosas* o *Aceites y Soluciones oleosas* según corresponda. Puede ser necesario el agregado de diluyente en exceso para ayudar en la filtración.

Antibióticos sólidos en graneles y mezclas - Retirar asépticamente una cantidad suficiente de sólido de la cantidad de envases según se indica en las *Tablas 2 y 4*. Disolver en *Solución A* y proceder según se indica en *Soluciones acuosas*.

Aerosoles - Extraer la muestra asépticamente utilizando el método conveniente, por congelamiento del envase o por uso de válvula continua. Agregar al menos 100 ml de *Solución D*, mezclar suavemente y proceder según se indica en *Soluciones acuosas*.

Dispositivos médicos con guías y jeringas vacías - Pasar un volumen de *Solución D* no inferior a 10 veces el volumen de las guías o jeringas. Recoger los líquidos en un recipiente adecuado y proceder según se indica en *Soluciones acuosas*. En el caso de jeringas, si no contienen agujas acopladas o para acoplar, utilizar una aguja sólo para el propósito del ensayo.

METODO DE TRANSFERENCIA DIRECTA

Transferir directamente al medio de cultivo la cantidad de muestra indicada en las *Tablas 2 y 3 ó 4* según corresponda, de modo que el volumen de producto no sea mayor del 10 % del volumen del medio, a menos que se indique de otro modo en la monografía correspondiente.

Examinar periódicamente el medio en forma visual para comprobar si hay crecimiento microbiano hasta no menos de 14 días de incubación.

Cuando el material ensayado produce turbidez en el medio y la observación visual del crecimiento de bacterias u hongos es dificultosa, al finalizar el período de incubación, transferir porciones de no menos de 1 ml de la mezcla que contiene la muestra y el medio a envases con medio de cultivo nuevo. Se debe continuar con la incubación de ambas muestras, la inicial y la transferida por no menos de 4 días adicionales.

Líquidos oleosos - Agregar un agente emulsionante apropiado a los medios de cultivo en concentración tal que durante el ensayo de aptitud haya demostrado ser adecuado, por ejemplo Polisorbato 80 en una concentración de 10 g por litro.

Ungüentos y cremas - Realizar una dilución aproximadamente 1 en 10, agregando un agente emulsionante por ejemplo *Solución D*. Transferir el producto diluido a los medios de cultivo. Agitar diariamente, cuidando de hacerlo con suavidad en el Medio Tioglicolato para mantener las condiciones anaeróbicas.

Catgut y otros materiales de sutura para uso veterinario - Abrir el envase asépticamente y retirar 3 secciones de la hebra para cada medio de cultivo de no menos de 30 cm cada una, cortadas del principio, del medio y del final de cada hebra. Utilizar cantidad de medios para cubrir adecuadamente el material a controlar.

Sólidos - Transferir una cantidad de producto en forma de sólido seco o preparar una suspensión del producto en diluyente estéril en el envase primario. Transferir el material obtenido a 200 ml de medios de cultivo, o el volumen establecido en el *Ensayo de aptitud* y mezclar.

Algodón purificado, gasa, apósitos quirúrgicos y dispositivos relacionados - De cada envase de algodón, gasa o apósitos, extraer asépticamente 2 o más porciones de 100 a 500 mg cada una, de la parte más interna del envase. Si se trata de artículos descartables envasados individualmente, usar todo el contenido del envase. Sumergir en cada uno de los medios de cultivo.

Dispositivos médicos estériles - Sumergir los dispositivos completamente, ensamblados o desmontados, en cantidad suficiente de medios de cultivo, asegurando que la parte interna de los tubos o conductos estén en contacto con el líquido. Si el dispositivo es demasiado grande, sumergir completamente las porciones que deben entrar en contacto directo con el paciente. Para catéteres en los que se requiere la esterilidad del lumen interno y de la parte externa, cortar en piezas para que todo esté en contacto con el medio.

OBSERVACIÓN E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

A intervalos, durante y al final del período de incubación, examinar los medios de cultivo en busca de evidencia macroscópica de desarrollo microbiano. Si no hay tal evidencia, la muestra cumple con el ensayo de esterilidad. Si en cambio hay evidencia de desarrollo microbiano, la muestra no cumple con el ensayo, a menos que pueda demostrarse claramente que el ensayo es inválido y que la causa de la contaminación no está relacionada con el producto. Sólo puede invalidarse el ensayo si: a) los resultados del monitoreo ambiental de las instalaciones donde se efectuó el ensayo demostraron falla, b) se demuestra que el procedimiento utilizado para el ensayo no fue el adecuado, c) hubo desarrollo microbiano en los controles negativos, d) la identificación del contaminante aislado revela inequívocamente que hubo fallas con respecto al material o a la técnica usados.

Si la prueba se declara inválida, se repetirá con el mismo número de unidades de la prueba original. Si no hay desarrollo microbiano en la repetición, el producto cumple con el ensayo de esterilidad. Si en cambio hay desarrollo microbiano, el producto no cumple con el ensayo.

Tabla 1

Medio	Microorganismos de prueba	Incubación	
		Temperatura	Condiciones
Medio Tioglicolato	(1) <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538) ⁽¹⁾	30 - 35 °C	Aeróbicas
	(2) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 9027) ⁽²⁾	30 - 35 °C	
	(3) <i>Clostridium sporogenes</i> (ATCC 11437) ⁽³⁾	30 - 35 °C	
Caldo Tioglicolato Alternativo ⁽⁴⁾	(1) <i>Clostridium sporogenes</i> (ATCC 11437)	30 - 35 °C	Anaeróbicas
Caldo Digerido de Caseína - Soja	(1) <i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)	20 - 25 °C	Aeróbicas
	(2) <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)	20 - 25 °C	
	(3) <i>Aspergillus niger</i> (ATCC 16404)	20 - 25 °C	

(1) Como alternativa al *Staphylococcus aureus*, puede emplearse *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

(2) Como alternativa a *Pseudomonas aeruginosa*, puede utilizarse *Kocuria rhizophila* ATCC 9341.

(3) Como alternativa a *Clostridium sporogenes* y en caso de no ser requerido un esporoformador, puede utilizarse *Bacteroides vulgatus* ATCC 8482.

(4) Utilizar para test de esterilidad de dispositivos médicos que contienen tubos de pequeño diámetro.

NOTA: PUEDEN UTILIZARSE CEPAS ATCC O CEPAS APTAS PARA TALES FINES PERTENECIENTES A COLECCIONES DE CULTIVOS MICROBIANOS RECONOCIDAS POR LA WFCC (WORLD FEDERATION OF CULTURE COLLECTIONS).

Tabla 2. Número mínimo de unidades a ensayar en relación al tamaño del lote

Tamaño del lote	Mínimo número de unidades muestreadas para cada medio *
<i>Productos inyectables</i>	
≤ 100 unidades	10% ó 4 (el que sea mayor)
> 100 - ≤ 500	10
> 500	2% ó 20 (el que sea menor)
Parenterales de gran volumen	2% ó 10 (el que sea menor)
<i>Antibióticos sólidos</i>	
Envases de < 5 g	20
Envases de ≥ 5 g	6
Graneles y mezclas	Ver <i>Granel de productos sólidos</i>
<i>Productos no inyectables</i>	
≤ 200	5% ó 2 (el que sea mayor)
> 200	10
<i>Dispositivos médicos</i>	
≤ 100	10% ó 4 (el que sea mayor)
> 100 - ≤ 500	10
> 500	2% ó 20 (el que sea menor)
<i>Granel de productos sólidos</i>	
≤ 4 envases	Todos
> 4 - ≤ 50	20% ó 4 (el que sea mayor)
> 50	2% ó 10 (el que sea mayor)

* Si el contenido de un envase es suficiente para inocular los dos medios, esta columna indica el número de envases

Tabla 3. Cantidades para productos líquidos

<i>Contenido del envase (ml)</i>	<i>Volumen mínimo de cada envase para cada medio</i>
< 1	Todo el contenido
1 - ≤ 40	La mitad del contenido de c/u, y no menos de 1ml
>40 - ≤ 100	20 ml
>100	10% del volumen y no menos de 20 ml
Antibióticos (líquidos)	1 ml

Tabla 4. Cantidades para productos sólidos

<i>Contenido del envase</i>	<i>Cantidad mínima de cada envase para cada medio</i>
< 50 mg	Contenido completo
50 mg - < 300 mg	Mitad del contenido pero no menos de 50 mg
300 mg - ≤ 5 g	150 mg
>5 g	500 mg
Antibióticos	150 mg
Algodón, gasa	100 mg
Suturas y otros materiales	Envase completo
Descartables	
Dispositivos médicos	Dispositivo completo

383. ENSAYOS DE SUTURAS

IDENTIFICACIÓN

Las suturas no absorbibles pueden identificarse con ensayos químicos. Los materiales de origen natural pueden identificarse también mediante examen microscópico de la morfología de estas fibras. Para materiales sintéticos, puede utilizarse también la identificación por espectrofotometría de absorción en el infrarrojo o calorimetría diferencial de barrido.

Lino

Definición - La sutura de lino estéril se compone de las fibras pericíclicas del tallo de *Linum usitatissimum* L. Las fibras básicas de 2,5 a 5 cm de largo se ensamblan en haces de 30 a 80 cm de longitud y se hilan en longitudes continuas de diámetro predeterminado.

Identificación

A - Cortar el extremo de una sutura. Separar algunas fibras con una aguja o una pinza fina. Cuando se examina al microscopio deben observarse fibras de 12 a 31 μm de ancho, y a lo largo de su longitud presentan paredes gruesas, marcadas algunas veces con finas estriaciones longitudinales y un lumen estrecho. Las fibras se estrechan gradualmente, terminando en una punta fina. Algunas veces se encuentran engrosamientos unilaterales con líneas transversales.

B - Impregnar las fibras aisladas con solución de cloruro de zinc iodado (SR). Las fibras deben tomar un color azul-violeta.

Poliamida-6*

Definición - La sutura quirúrgica estéril de poliamida-6 está constituida por monofilamentos cilíndricos lisos o filamentos trenzados lisos, o bien hilos ligeramente retorcidos revestidos en el mismo material. Se obtiene pasando a través de una matriz determinada un material plástico sintético proveniente de la polimerización de ϵ -caprolactama. Las suturas pueden teñirse con un colorante atóxico

Caracteres generales - Es prácticamente insoluble en solventes orgánicos. No es atacada por soluciones alcalinas diluidas (ej. solución de hidróxido de sodio al 10 %) pero es atacada por ácidos minerales diluidos (ej. solución de ácido sulfúrico al 2 %), ácido acético glacial caliente y solución 70 % p/p de ácido fórmico anhidro.

[NOTA: * el nombre Nylon -6 como sinónimo de poliamida-6 puede usarse en algunos países y no en otros por derechos de propiedad exclusivos.]

Identificación

A - Calentar 50 mg de sutura con 0,5 ml de ácido clorhídrico 25 % p/p en un tubo de ensayo cerrado a 110° C durante 18 horas, y luego dejar reposar durante 6 horas. No deben observarse cristales.

B - 50 mg de sutura se disuelven en 20 ml de una solución 70 % p/p de ácido fórmico anhidro.

Monómeros y oligómeros

La poliamida-6 cumple con un ensayo adicional: en un aparato de extracción continua tratar 1 g de sutura con 30 ml de metanol efectuando tres extracciones por hora durante 7 horas, evaporar a sequedad y secar el residuo a 110 °C durante 10 minutos, dejar enfriar en un desecador y pesar. El residuo no debe pesar más de 20 mg (2 %).

Poliamida- 6/6*

Definición - La sutura quirúrgica estéril de poliamida 6/6 está constituida por monofilamentos cilíndricos lisos o filamentos trenzados lisos, o bien hilos ligeramente retorcidos revestidos en el mismo material. Se obtiene por pasaje a través de una matriz determinada de un material plástico sintético proveniente de la policondensación de hexametilenediamina y ácido adípico. Las suturas pueden teñirse con un colorante atóxico

Caracteres generales - Es prácticamente insoluble en solventes orgánicos. No es atacada por soluciones alcalinas diluidas (ej. solución de hidróxido de sodio al 10 %) pero es atacada por ácidos minerales diluidos (ej. solución de ácido sulfúrico al 2 %), ácido acético glacial caliente y solución 80 % p/p de ácido fórmico anhidro.

Identificación

A - Al contacto con la llama se funde y arde formando un glóbulo residual duro y emite un olor característico parecido al apio.

B - Colocar 50 mg de sutura en un tubo de ignición sostenido en posición vertical y calentar suavemente hasta que se desprenda un humo espeso, cuando el humo llena el tubo retirar de la llama e introducir una tira de papel de nitrobenzaldehído (Sumergir la mitad inferior de una tira de papel de filtro de 10 cm de largo y de 0,8 a 1 cm de ancho, en una solución preparada una hora antes de su uso, disolviendo 0,2 g de nitrobenzaldehído en 10 ml de una solución de hidróxido de sodio 200 g en un litro. Absorber el exceso de reactivo entre dos hojas de papel de filtro y emplear inmediatamente). Aparece lentamente un

color pardo violeta en el papel que se esfuma lentamente en el aire. El color desaparece de inmediato por lavado con ácido sulfúrico 1 M.

C - A 50 mg de sutura agregar 10 ml de ácido clorhídrico 25 %p/p. El material se desintegra en frío y se disuelve en pocos minutos.

D - 50 mg no se disuelven en 20 ml de solución de ácido fórmico anhidro al 70 % p/p pero se disuelven en 20 ml de solución de ácido fórmico anhidro al 80 % p/p.

Polietilentereftalato (poliéster)

Definición - Se obtiene trenzando un número determinado de filamentos muy finos, obtenidos por pasaje de polietilentereftalato a través de una matriz predeterminada; pudiendo ser blanquecino o coloreado con colorantes o pigmentos autorizados

Caracteres generales - Es prácticamente insoluble en la mayoría de los solventes orgánicos, pero es atacado por soluciones alcalinas fuertes. Es incompatible con fenoles.

Identificación

A - 50 mg de sutura se disuelven con dificultad al calentar con 50 ml de dimetilformamida.

B - Añadir 10 ml de ácido clorhídrico 25 % p/p a 50 mg de sutura. El material debe permanecer intacto después de 6 hs de inmersión.

Polipropileno

Definición - La sutura de polipropileno se obtiene pasándola a través de una matriz predeterminada. Se presenta como monofilamentos cilíndricos.

Caracteres generales - El polipropileno es soluble en decahidronaftaleno, 1-cloronaftaleno y tricloroetileno. No es soluble en alcohol, éter y ciclohexanona.

Identificación

A - Se ablanda entre 160 y 170 °C. Arde con llama azul, emitiendo un olor de parafina quemada y de alcohol octílico.

B - Añadir 10 ml de tolueno a 0,25 g de sutura y calentar a reflujo durante 15 minutos. Llevar a ebullición con un condensador de reflujo durante aproximadamente 15 minutos. Colocar unas gotas de la solución sobre un disco de cloruro de sodio, correr y evaporar el solvente en estufa a 80 °C. Examinar por espectrofotometría infrarroja <460>. *Espectrofotometría infrarroja*), comparándolo con el espectro obtenido para el polipropileno.

C - Añadir 100 ml de agua a 2 g de sutura y hervir bajo condensador de reflujo durante 2 horas. Dejar enfriar. La densidad relativa de la muestra

determinada con una balanza hidrostática, debe estar comprendida entre 0,89 y 0,91 g/ml. <160>

Seda trenzada

Definición - La Sutura Seda Trenzada, se obtiene trenzando un número de hebras según el diámetro requerido de la seda desgomada obtenida de los capullos del gusano de seda *Bombix mori* L. La sutura puede colorearse con pigmentos o colorantes aprobados. Ver 50. *Colorantes de uso farmacéutico*.

Identificación

A - Cortar el extremo de una sutura. Aislar algunas hebras con una aguja o pinza fina. Cuando se examinan al microscopio las hebras pueden presentar estriaciones longitudinales muy finas, paralelas a su eje, la sección transversal es aproximadamente triangular o semicircular, con los extremos redondeados y sin lumen.

B - Impregnar algunas hebras aisladas con solución iodada de yoduro de potasio, preparada disolviendo 2 g de yodo y 4 g de yoduro de potasio en 10 ml de agua, completar a 100 ml con agua. Las mismas toman un color amarillo pálido.

Acero inoxidable

Definición - Las suturas quirúrgicas estériles de acero inoxidable mono y multifilamento tienen una composición química según normas internacionales vigentes. Están formadas por monofilamentos cilíndricos, o filamentos retorcidos o trenzados lisos.

Identificación

Se identifican verificando que su composición está de acuerdo con normas internacionales vigentes.

DIÁMETRO

Se utiliza calibrador del tipo de peso muerto, mecánico o eléctrico, equipado con un dial de lectura directa, un visor digital o una impresora. Emplear un calibre graduado de 0,002 mm o menor. El yunque es de aproximadamente 50 mm de diámetro, y el pie compresor es aproximadamente de 12,70 de diámetro. Graduar el pie compresor y las partes móviles conectadas a éste de manera que se aplique una carga total de 210 ± 3 g a la muestra. Las superficies del pie compresor y del yunque son planas, con desviaciones no mayores de 0,005 mm, y paralelas entre sí con una aproximación de 0,005 mm. Para medir el diámetro de las suturas de 0,4 mm y menor tamaño métrico, retirar el peso adicional del pie compresor para que la carga total sobre la sutura no exceda de 60 g.

Sutura de colágeno - Se mide el diámetro inmediatamente después de haberla retirado del envase primario y extendido sin irregularidades ni tensión. Colocar el hilo entre el centro del yunque y el pie compresor y bajar suavemente el pie hasta que todo su peso descansa sobre la sutura. Medir el diámetro de cada hilo en tres puntos correspondientes, aproximadamente a un cuarto, a la mitad y a tres cuartos de su longitud.

Sutura quirúrgica no absorbible - Colocar el hilo a través del centro del yunque y el pie compresor y bajar suavemente el pie hasta que todo su peso descansa sobre la sutura. Medir las suturas no absorbibles, ya sea que estén envasadas en seco o en líquido, inmediatamente después de haberlas retirado del envase, sin secado ni acondicionamiento previo. Se mide el diámetro de la sutura en tres puntos correspondientes, aproximadamente a un cuarto, a la mitad y a tres cuartos de su longitud. En el caso de suturas trenzadas de tamaños mayores de 000 (tamaño métrico 2), hacer dos mediciones en cada punto, una en ángulo recto respecto de la otra, y emplear el promedio como el diámetro observado en ese punto.

Sutura quirúrgica absorbible sintética - Se procede según se indica para *Sutura quirúrgica no absorbible*.

Suturas de multifilamento - Fijar una porción de la sección designada del hilo en una pinza fija, de manera que el hilo quede sobre el centro del yunque. Mientras se sostiene el hilo en el mismo plano que la superficie del yunque, someter el hilo a

tensión por medios adecuados, como por ejemplo, pasando el extremo libre del hilo alrededor de un cilindro o polea uniéndolo a una pesa de aproximadamente la mitad del valor mínimo de resistencia a la tensión para la sutura de Clase I del tamaño en cuestión, con cuidado de no dejar que el hilo, si fuera retorcido, pierda la torsión. Medir el diámetro en los puntos designados en el hilo y calcular el diámetro promedio según las indicaciones dadas.

ENGARZADO DE AGUJAS

Las suturas quirúrgicas absorbibles (de colágeno y sintéticas) y las no absorbibles pueden tener agujas sujetas firmemente.

Procedimiento - Tomar cinco suturas y colocar una por una en el tensilómetro, sujetando la aguja con la pinza fija, dejando toda la parte engarzada expuesta, y en la misma dirección de la fuerza que ejerce la pinza móvil sobre la sutura. Determinar la fuerza necesaria para desprender la sutura de la aguja. La sutura puede romperse sin desprenderse de la aguja. El engarzado cumple con los requisitos si el promedio de los cinco valores y ningún valor individual es inferior al límite fijado para el tamaño especificado en la *Tabla*.

Si no más de uno de los valores individuales se encuentra fuera de los límites establecidos, repetir la prueba con diez suturas adicionales. Cumple con los requisitos si ninguno de los diez valores adicionales se encuentra fuera de los requisitos del límite individual.

Tabla. Engarzado de aguja estándar para suturas absorbibles y no absorbibles

NÚMERO	Diámetro (mm)		Límites de engarzado de aguja				
	Sutura convencional	Sutura absorbible de colágeno	Sutura no absorbible y absorbible sintética	Promedio (mínimo) (kgf)	Individual (mínimo) (Newton)	Promedio (mínimo) (kgf)	Individual (mínimo) (Newton)
11/0			0,1	0,007	0,069	0,005	0,049
10/0			0,2	0,014	0,137	0,010	0,098
9/0		0,4	0,3	0,021	0,206	0,015	0,147
8/0		0,5	0,4	0,050	0,490	0,025	0,245
7/0		0,7	0,5	0,080	0,784	0,040	0,392
6/0		1	0,7	0,17	1,67	0,08	0,784
5/0		1,5	1	0,23	2,25	0,11	1,08
4/0		2	1,5	0,45	4,41	0,23	2,25
3/0		3	2	0,68	6,67	0,34	3,33
2/0		3,5	3	1,10	10,8	0,45	4,41
0		4	3,5	1,50	14,7	0,45	4,41
1		5	4	1,80	17,6	0,60	5,88
2 y superior		6 y superior	5 y superior	1,80	17,6	0,70	6,86

RESISTENCIA A LA TENSIÓN

Determinar la resistencia a la tensión de las suturas quirúrgicas en un instrumento que emplee el principio de velocidad de carga constante sobre la muestra o el principio de velocidad de elongación constante de la muestra, según se describe a continuación. El aparato tiene dos pinzas para sostener un hilo de la sutura. Una de estas pinzas es móvil. Las pinzas están diseñadas para que la sutura que se va a probar pueda ser fijada sin que se deslice. La longitud ensayada se define como la distancia interior entre las dos pinzas. Debe ser entre 125 a 200 mm y la pinza móvil ser accionada a una velocidad de elongación constante de 30 ± 5 cm por minuto. Medir la resistencia a la tensión de la sutura, ya sea que esté envasada en seco o con líquido, inmediatamente después de haberla retirado del envase, sin secado ni acondicionamientos previos. Sujetar uno de los extremos de la sutura a la pinza del extremo de carga de la máquina, pasar el otro extremo a través de la pinza opuesta, aplicando tensión suficiente para que la muestra quede tirante entre las pinzas, y cerrar la segunda pinza. Realizar tantas determinaciones como las especificadas en la monografía individual. Si la ruptura ocurre en cualquiera de las pinzas, descartar la lectura de la muestra.

Procedimiento para un instrumento que opera por el principio de velocidad de carga constante sobre la muestra - Esta descripción se aplica al instrumento conocido como Comprobador de Plano inclinado. El carro empleado en cualquier prueba es de un peso tal que al ocurrir la ruptura, la posición de la pluma registradora sobre la gráfica queda entre 20 y 80 % de la capacidad que pueda registrarse en la gráfica. La fricción en el carro es suficientemente baja como para permitir que la pluma registradora se aparte de la línea cero de la gráfica en un punto que no exceda el 2,5 % de la capacidad de la gráfica cuando no haya ninguna muestra sujeta entre las pinzas.

Para suturas quirúrgicas de tamaños intermedios y más gruesas, la pinza para sostener la muestra es del tipo rodillo, con una superficie de sujeción plana. El rodillo tiene un diámetro de 19 mm y la superficie de sujeción plana no es menor de 25 mm de longitud. La longitud de la muestra, una vez que se inserta en las pinzas, es de por lo menos 127 mm de un extremo a otro. La velocidad de inclinación del plano del comprobador es tal que alcanza su inclinación máxima de 30° sobre la horizontal en 20 ± 1 segundo desde el comienzo de la prueba.

Para suturas quirúrgicas de menor calibre, la pinza apropiada tiene una superficie de sujeción plana de no menos de 13 mm de longitud. La

velocidad de inclinación del plano es tal que alcanza su inclinación máxima de 30° sobre la horizontal en 60 ± 5 segundos desde el comienzo de la prueba.

Salvo cuando en la monografía individual se indica tracción recta, sin nudo, atar la sutura de prueba realizando un nudo de cirujano con una vuelta de sutura, alrededor de un tubo de goma flexible con un diámetro interno de 6,5 mm y un espesor de pared de 1,6 mm. El nudo de cirujano es un nudo en el cual el extremo libre se pasa primero dos veces por el lazo, en lugar de una vez, y se ajusta tirante, luego se pasa una vez por un segundo lazo y se tensan los extremos de manera que quede un nudo sencillo superpuesto a un nudo doble. Comenzar el primer nudo con el extremo izquierdo sobre el extremo derecho, ejerciendo tensión suficiente para atar el nudo con firmeza. Cuando la muestra de prueba incluya un nudo, colocar la muestra en el dispositivo de prueba con el nudo aproximadamente a media distancia entre las pinzas. Dejar el tubo de goma flexible en su lugar mientras dure la prueba.

Procedimiento para un instrumento que opera por el principio de velocidad de elongación constante de la muestra - Excepto cuando en la monografía individual se indique tracción recta, sin nudo, atar la sutura de prueba por medio de un nudo simple, colocando un extremo del hilo, sostenido con la mano derecha, por encima del otro extremo, sostenido con la mano izquierda, pasando un extremo sobre el hilo y a través del lazo que se formó y luego ajustando el nudo con firmeza. La muestra se coloca en el dispositivo de prueba con el nudo aproximadamente a media distancia entre las pinzas.

[NOTA: *Calibre*: se puede expresar en forma de calibre métrico que representa el grosor de la sutura en décimas de milímetro: métrico 0,1 (0,010-0,019 mm) a métrico 10 (1,00-1,09 mm), o bien, en calibre convencional, que expresa el grosor en forma convencional: 11/0 (0,010-0,019 mm) a calibre 6 (1,00-1,09 mm).]

385. ENSAYOS EN HEMODERIVADOS

VALORACIÓN DE ANTITROMBINA III HUMANA

Estimar la potencia del Concentrado de Antitrombina III Humana por comparación de su habilidad para inactivar trombina en presencia de un exceso de heparina con la misma habilidad de una sustancia de referencia de antitrombina III humana calibrada en UI. Mezclar cantidades variables de antitrombina III con una cantidad dada de trombina y determinar el remanente de trombina mediante un sustrato cromogénico apropiado.

La Unidad Internacional es la actividad de antitrombina III de una cantidad establecida de Patrón Internacional de antitrombina III. La equivalencia en Unidades Internacionales del Patrón Internacional la establece la Organización Mundial de la Salud.

Aplicar la siguiente técnica.

Soluciones reguladoras - Emplear Tris-EDTA pH 8,4 y Tris-EDTA BSA pH 8,4 (ver *Soluciones reguladoras en Reactivos y Soluciones*).

Solución reguladora para dilución - Preparar una solución de Tris-EDTA BSA pH 8,4 que contenga 15 UI de heparina por ml.

Solución de trombina bovina - Preparar una solución que contenga 2 UI de trombina bovina por ml de solución reguladora Tris-EDTA BSA pH 8,4.

Sustrato cromogénico - *D-fenilalanil-L-pipecolil-L-arginina-4-nitroanilida* reconstituido en agua para obtener una solución 4 mmol por litro.

Preparación estándar - Diluir la sustancia de referencia de antitrombina III humana calibrada en UI con *Solución reguladora para dilución* para obtener una solución que contenga una 1 UI de antitrombina III por ml. Realizar por duplicado y en forma independiente por lo menos tres diluciones en el rango de 1/75 a 1/200 en progresión geométrica o aritmética utilizando la misma *Solución reguladora*.

Preparación muestra - Diluir El Concentrado de Antitrombina III Humana con *Solución reguladora* para obtener una solución que contenga 1 UI de antitrombina III por ml. Realizar por duplicado y en forma independiente por lo menos tres diluciones en el rango de 1/75 a 1/200 en progresión geométrica o aritmética utilizando la misma *Solución reguladora*.

Procedimiento - Según el ensayo se realice en tubos o en microplacas, ajustar los volúmenes de manera que se mantengan las proporciones de la mezcla. Realizar dos reacciones de cada dilución.

Precalentar 200 μ l de cada dilución de la *Preparación muestra* y de la *Preparación estándar* a 37 °C durante 1 a 2 minutos. Agregar a cada dilución 200 μ l de *Solución de trombina bovina*, mezclar y mantener a 37 °C durante 1 minuto. Agregar 500 μ l de *Sustrato cromogénico* diluido hasta una concentración apropiada para el ensayo usando solución reguladora Tris-EDTA BSA pH 8,4 (sin albúmina). Medir inmediatamente el cambio de las absorbancias a 405 nm durante al menos 30 segundos. Calcular el valor de $\Delta A/\text{min}$. Alternativamente puede llevarse a cabo un ensayo de punto final deteniendo la reacción con ácido acético y midiendo la absorbancia a 405 nm o también es posible detener la reacción de hidrólisis tras un intervalo apropiado bajando el pH mediante el agregado de un reactivo apropiado, como ácido acético al 50 %v/v o una solución de citrato 1 M a pH 3. El valor de cambio de absorbancia ($\Delta A/\text{min}$) o A es inversamente proporcional a la actividad de antitrombina III. Calcular la potencia de la muestra a examinar y comprobar la validez del ensayo empleando los métodos estadísticos habituales (ver 10. *Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos*).

VALORACIÓN DE HEPARINA EN FACTORES DE COAGULACIÓN

El método para determinar la actividad de heparina en factores de coagulación es un ensayo cromogénico en el cual se estima su actividad por su efecto inhibitorio sobre el factor Xa (actividad anti-Xa). La potencia de heparina se estima comparando su actividad inhibitoria con un Patrón Internacional o Patrón Nacional calibrado en Unidades Internacionales.

La Unidad Internacional es la actividad de heparina en una cantidad establecida de patrón Internacional. La equivalencia en Unidades Internacionales del Patrón Internacional la establece la Organización Mundial de la Salud.

El método cromogénico de valoración consiste en los siguientes pasos: la formación del complejo heparina-antitrombina III, en el cual se debe asegurar un exceso de antitrombina III en el medio en el que se produce la reacción, la formación del complejo heparina antitrombina III-factor Xa, en el cual el factor Xa debe estar en exceso, y el clivaje enzimático de un sustrato cromogénico específico para factor Xa (residual) para dar un cromóforo que puede ser cuantificado espectrofotométricamente. Bajo condiciones adecuadas, existe una relación

inversamente proporcional entre la actividad de heparina y el clivaje del sustrato cromogénico.

Reactivos

Solución reguladora para diluciones - Solución de 6,05 g por litro de Tris(hidroximetil)aminometano, si es necesario, ajustar el pH a 8,4 con ácido clorhídrico.

Sustrato cromogénico del factor Xa - Un sustrato cromogénico específico para factor Xa tal como cloruro de *N*-benzoil-*L*-isoleucil-*L*-glutamil-glicil-*L*-arginina-4-nitroanilida. Reconstituir según se indica en el rótulo.

Solución de antitrombina III

Solución de factor Xa bovino

Plasma humano normal

Preparación estándar - Diluir con *Solución reguladora para diluciones* para obtener una solución de 0,1 UI por ml de heparina.

Preparación muestra - Diluir la preparación en ensayo con *Solución reguladora para diluciones* para obtener una solución de 0,1 UI de heparina por ml.

Procedimiento - Las siguientes condiciones de trabajo se aplican a placas de 96 pocillos. Si el ensayo es llevado a cabo en tubos, los volúmenes deben ser ajustados manteniendo la proporción en la mezcla. Inmediatamente antes de iniciar el ensayo, calentar todas las soluciones en un baño de agua a 37 °C. Distribuir en una serie de tubos o pocillos de la placa, preferentemente por duplicado, 20 µl de *Plasma humano normal* y 20 µl de *Solución de antitrombina III*. Agregar a los tubos o pocillos volúmenes crecientes en progresión aritmética (por ejemplo 20 µl, 60 µl, 100 µl y 140 µl) de la *Preparación muestra* o la *Preparación estándar* y completar a un volumen final de 200 µl empleando *Solución reguladora para diluciones* (0,02 a 0,08 UI por ml de heparina en la mezcla final de reacción). Las concentraciones se pueden modificar si con ellas se obtienen una mejor linealidad en la relación dosis-respuesta. Transferir 40 µl de cada tubo o pocillo a una segunda serie de los pocillos, agregar 20 µl de *Solución de factor Xa bovino* e incubar a 37 °C durante 30 segundos.

Método de punto final - Agregar 40 µl de una solución 1 mmol por litro de *Sustrato cromogénico del factor Xa* e incubar a 37 °C durante 3 minutos. Finalizar la reacción disminuyendo el pH por agregado de un reactivo adecuado tal como una solución al 20 % v/v de ácido acético glacial y medir la absorbancia (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) a 405 nm. En general, los tiempos de reacción están comprendidos entre 3 y 15 minutos, pero se admiten variaciones si así se obtiene una

mejora en la linealidad de la relación dosis-respuesta.

Método cinético - Agregar 40 µl de una solución 2 mmol por litro de *Sustrato cromogénico del factor Xa*, incubar a 37 °C y cuantificar la velocidad de liberación del sustrato, que debe ser inversamente proporcional a la concentración de heparina, midiendo en un espectrofotómetro el cambio de absorbancia a una longitud de onda apropiada por monitoreo continuo de la absorbancia. Determinar la velocidad de cambio de absorbancia a 405 nm continuamente por un período de tiempo y obtener la velocidad media del cambio de absorbancia ($\Delta A/\text{min}$).

Comprobar la validez del ensayo y calcular la actividad de heparina en la preparación a examinar por los métodos estadísticos habituales para un ensayo de relación de pendientes (ver 10. *Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos*).

FACTORES DE COAGULACIÓN ACTIVADOS

[NOTA: cuando corresponda, determinar la cantidad de heparina presente y neutralizarla por agregado de sulfato de protamina (10 µg de sulfato de protamina neutralizan 1 UI de heparina).]

Preparar diluciones 1 en 10 y 1 en 100 de la preparación en ensayo empleando una solución reguladora tris(hidroximetil)aminometano pH 7,5 (ver *Soluciones reguladoras* en *Reactivos y Soluciones*). Colocar en un baño de agua a 37 °C una serie de tubos de poliestireno y agregar a cada tubo 0,1 ml de plasma pobre en plaquetas y 0,1 ml de una dilución apropiada de cefalina o sustituto de plaquetas. Dejar en reposo durante 60 segundos. Agregar a cada tubo 0,1 ml de una de las diluciones o 0,1 ml de solución reguladora (tubo control). Inmediatamente agregar a cada tubo 0,1 ml de una solución de cloruro de calcio 3,7 g por litro (precalentada a 37 °C) y medir el tiempo que transcurre entre el agregado del cloruro de calcio y la formación de un coágulo. El ensayo debe realizarse en un tiempo no mayor a 30 minutos luego de haber realizado la dilución original. El ensayo solo es válido si el tiempo de coagulación medido para el tubo control esté entre 200 y 350 segundos.

VALORACIÓN DEL FACTOR II DE COAGULACIÓN SANGUÍNEA

El método para determinar la actividad de factor II de coagulación es un ensayo cromogénico en el cual se determina la actividad de factor II a través de su activación específica y formación de factor IIa. La potencia de la preparación de factor II se estima comparando su actividad con un Patrón

Internacional o una sustancia de referencia calibrada en Unidades Internacionales.

La Unidad Internacional es la actividad de factor II de una cantidad establecida de Patrón Internacional que consiste en un concentrado liofilizado de factor II humano. La equivalencia en Unidades Internacionales del Patrón Internacional la establece la Organización Mundial de la Salud.

El método cromogénico de valoración consiste en dos pasos: la activación del factor II a factor IIa dependiente de veneno de serpiente y el clivaje enzimático de un sustrato cromogénico específico para factor IIa, para dar un cromóforo que puede ser cuantificado espectrofotométricamente. Bajo condiciones adecuadas, existe una relación lineal entre la actividad del factor IIa y el clivaje del sustrato cromogénico.

Reactivos

Solución reguladora para dilución - Solución que contiene 6,06 g por litro de Tris(hidroximetil)aminometano, 17,53 por litro de cloruro de sodio, 2,79 g por litro de ácido (etilendinitrilo)tetracético y 1 g por litro de albúmina bovina o albúmina humana. Ajustar a pH 8,4 si fuera necesario, con ácido clorhídrico.

Veneno de víbora específico para activar factor II (Ecarina) - Se trata de una proteína derivada del veneno de víbora (*Echis carinatus*) que activa específicamente el factor II. Reconstituir y almacenar según se indica en el rótulo.

Sustrato cromogénico para Factor IIa - Sustratos cromogénicos específicos para factor IIa tales como: *H-D*-fenilalanil-*L*-pipecolil-*L*-arginina-4-nitroanilida clorhidrato, 4-toluensulfonil-glicilprolil-*L*-arginina-4-nitroanilida, *H-D*-ciclohexilglicil- α -aminobutiril-*L*-arginina-4-nitroanilida, diacetato de *D*-ciclohexilglicil-*L*-alanil-*L*-arginina-4-nitroanilida. Reconstituir según se indica en el rótulo.

Preparación estándar - Diluir con *Solución reguladora para dilución* para obtener una solución entre 0,015 y 0,16 UI por ml de factor II. Preparar, preferentemente por duplicado y en forma independiente, al menos tres diluciones en progresión geométrica o aritmética empleando el mismo solvente.

Preparación muestra - Diluir con *Solución reguladora para dilución* para obtener una solución entre 0,015 y 0,16 UI por ml de factor II. Preparar, preferentemente por duplicado y en forma independiente, al menos tres diluciones en progresión geométrica o aritmética empleando el mismo solvente.

Procedimiento - Precalentar todas las soluciones en un baño de agua a 37 °C inmediatamente antes de realizar el ensayo. Las siguientes condiciones de ensayo se utilizan para placas de

96 pocillos, si el ensayo se lleva a cabo en tubos, se deben ajustar los volúmenes de manera que se mantengan las proporciones de la mezcla; se deben realizar dos reacciones de cada dilución. En una placa de 96 pocillos mantenida a 37 °C, agregar por duplicado 25 μ l de cada dilución de la *Preparación muestra* o la *Preparación estándar* a cada uno de los pocillos. Agregar 125 μ l de solución reguladora a cada pocillo, luego 25 μ l de *Veneno de víbora específico para activar factor II* e incubar durante exactamente 2 minutos. A cada pocillo agregar 25 μ l de *Sustrato cromogénico para Factor IIa*. Se admiten modificaciones de volúmenes de los reactivos si con ellas se obtiene una mejor linealidad en la relación dosis-respuesta. Determinar la velocidad de cambio de absorbancia (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) a 405 nm de forma continua durante 3 minutos y obtener el promedio de velocidad de cambio de absorbancia ($\Delta A/\text{min}$). Si no se puede medir en forma continua, leer la absorbancia a 405 nm a intervalos consecutivos adecuados, durante 40 segundos, graficar la absorbancia en función del tiempo y calcular $\Delta A/\text{min}$ como la pendiente de la recta. El método se puede adaptar a una reacción de punto final deteniendo la reacción de hidrólisis tras un intervalo apropiado bajando el pH por adición de un reactivo apropiado como ácido acético (50 % v/v) o una solución de citrato 1M a pH 3. Ajustar el tiempo de hidrólisis para conseguir un incremento lineal del cromóforo a lo largo del tiempo. Con los valores de $\Delta A/\text{min}$ o de A de cada dilución tanto de muestra como de estándar, calcular la potencia de la muestra a examinar y comprobar la validez del ensayo empleando los métodos estadísticos habituales (ver 10. *Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos*).

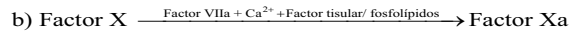
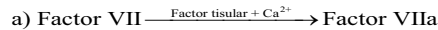
VALORACIÓN DEL FACTOR VII DE COAGULACIÓN SANGUÍNEA

El método para determinar la actividad de factor VII de coagulación es un ensayo cromogénico en el cual se determina su actividad biológica como complejo factor VIIa-factor tisular en la activación del factor X en presencia de iones calcio y fosfolípidos. La potencia de la preparación de factor VII se estima comparando la cantidad necesaria para alcanzar una cierta velocidad de formación del factor Xa en una mezcla que contiene las sustancias que intervienen en la activación del factor X y la cantidad de Patrón Internacional o de una preparación de referencia, calibrada en Unidades Internacionales, requerida para producir la misma velocidad de formación de factor Xa. La Unidad Internacional se define como la actividad del factor VII de una cantidad establecida de Patrón Internacional, que consiste en un concentrado de factor VII huma-

no liofilizado. La equivalencia en Unidades Internacionales del Patrón Internacional la establece la Organización Mundial de la Salud.

El método cromogénico consta de dos pasos consecutivos: la activación del factor VII a factor VIIa, por medio del factor tisular y calcio, la activación de factor X a factor Xa por la presencia de factor VIIa, calcio fosfolípidos y factor tisular y el

Etapas 1:



Etapas 2:



En ambas etapas se utilizan reactivos que pueden ser obtenidos comercialmente. La composición de cada reactivo puede estar sujeta a alguna variación, sus características esenciales se describen en las siguientes especificaciones: los reactivos contienen proteínas purificadas de origen humano o bovino. Éstas incluyen factor X, factor tisular y fosfolípidos como activador del factor VII. Estas proteínas están parcialmente purificadas y no deben contener impurezas que interfieran en la activación del factor VII o del factor X. El factor X está presente en cantidades cuya concentración final durante el primer paso del ensayo esta comprendida entre 10 y 350 nmol por litro (preferentemente de 14 a 70 nmol por litro). Tromboplastina de origen natural (cerebro bovino o de conejo) o de origen sintético, se puede usar como fuente de factor tisular y fosfolípidos. La Tromboplastina adecuada para uso en la determinación del tiempo de protrombina se diluye entre 1 en 5 y 1 en 50 en una solución reguladora tal que la concentración final de Ca^{2+} este comprendida entre 15 y 25 nmol por litro. La formación final de factor Xa es realizada en una solución que contiene albúmina humana o bovina con una concentración tal que no se produzca pérdida por adsorción y que está apropiadamente regulada a pH entre 7,3 y 8,0. En la mezcla de incubación final, el factor VII debe ser el único componente limitante de la velocidad y cada componente del reactivo no debe tener capacidad de generar el factor Xa por sí mismo.

La segunda etapa comprende la cuantificación del factor Xa por medio de un sustrato cromogénico específico para el factor Xa. Este sustrato generalmente consiste de un péptido corto que tiene entre 3 y 5 aminoácidos, unido a un grupo cromóforo. Cuando se cliva este grupo del péptido sustrato, se produce un cambio de absorbancia a una longitud de onda apropiada que permite su cuantificación

segundo paso es el clivaje enzimático de un sustrato cromogénico específico para el factor Xa, para dar un cromóforo que se puede cuantificar espectrofotométricamente. En las condiciones adecuadas, existe una relación lineal entre la velocidad de formación del factor Xa y la concentración del factor VII. El ensayo se resume en el siguiente esquema:

espectrofotométrica. El sustrato se disuelve normalmente en agua y se utiliza a una concentración final entre 0,2 y 2 mmol por litro. El sustrato puede contener también inhibidores para detener la formación adicional de factor Xa (adición de edetato).

Preparación estándar - Reconstituir el contenido completo de una ampolla de la preparación con el agregado de una cantidad apropiada de agua; emplear las preparaciones reconstituidas dentro de la hora de su preparación. Realizar una dilución con suficiente prediluyente para obtener una solución que contenga entre 0,5 UI y 2,0 UI de factor VII por mililitro. Preparar las diluciones posteriores empleando una solución reguladora isotónica y no quelante que contenga 1 % de albúmina humana o bovina, regulada entre pH 7,3 y 8,0. Preparar preferentemente por duplicado y en forma independiente por lo menos tres diluciones en progresión geométrica o aritmética. Las diluciones deben prepararse de forma tal que la concentración final de factor VII esté por debajo de 0,005 UI por ml.

Preparación muestra - Reconstituir el contenido completo de la ampolla según se indica en el rótulo. Emplear las preparaciones reconstituidas dentro de la hora de su preparación. Hacer una dilución con suficiente prediluyente para obtener una solución que contenga entre 0,5 UI y 2,0 UI de factor VII por mililitro. Preparar las diluciones posteriores empleando una solución reguladora isotónica y no quelante que contenga 1 % de albúmina humana o bovina, regulada entre pH 7,3 y 8,0. Preparar preferentemente por duplicado y en forma independiente por lo menos tres diluciones en progresión geométrica o aritmética. Las diluciones deben prepararse de forma tal que la concentración final de factor VII esté por debajo de 0,005 UI/ml.

Procedimiento - Preparar una solución control que incluya todos los componentes exceptuando el factor VII (blanco).

[NOTA: preparar todas las diluciones en tubos de plástico y usarlas dentro de la hora de su preparación; se deben realizar al menos dos reacciones de cada dilución.]

Etapas 1. Mezclar las diluciones de la preparación de referencia del factor VII y de la preparación a examinar con un volumen apropiado del reactivo de factor de coagulación precalentado o con una combinación de sus constituyentes separados, e incubar la mezcla en tubos de plástico o en pocillos de microplaca a 37 °C. Las concentraciones de los diversos componentes durante la formación del factor Xa deben ser las especificadas en la descripción de los reactivos. Dejar que la activación del factor X proceda durante un tiempo apropiado, terminando la reacción antes de que la concentración del factor Xa alcance su nivel máximo, con el fin de obtener una relación lineal satisfactoria entre dosis y respuesta. Los tiempos adecuados de activación están normalmente entre 2 y 5 minutos, pero se admiten desviaciones si con ellas se obtiene mejor linealidad de la relación dosis-respuesta.

Etapas 2. Determinar el factor Xa por adición de un reactivo precalentado que contenga el sustrato cromogénico. Cuantificar la velocidad de liberación del sustrato, que debe ser proporcional a la concentración del factor Xa formado, midiendo en un espectrofotómetro el cambio de absorbancia a una longitud de onda apropiada por monitoreo continuo de la absorbancia. Determinar la velocidad de cambio de absorbancia a 405 nm continuamente por un período de tiempo y obtener la velocidad media del cambio de absorbancia ($\Delta A/\text{min}$) o detener la reacción de hidrólisis por disminución del pH a 3, con un reactivo tal como ácido acético (500 g por litro) o solución de citrato 1 M tras un intervalo de tiempo apropiado (A). Ajustar el tiempo de hidrólisis de modo tal de alcanzar un desarrollo lineal del cromóforo con el tiempo. En general los tiempos de hidrólisis suelen estar entre 3 y 15 minutos, pero

se admiten variaciones si así se obtiene una mejora en la linealidad de la relación dosis-respuesta.

Comprobar la validez del ensayo y calcular la potencia de la preparación a examinar empleando los métodos estadísticos habituales (ver 10. *Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos*).

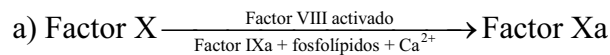
VALORACIÓN DEL FACTOR VIII DE COAGULACIÓN SANGUÍNEA

El método para determinar la actividad de factor VIII es un ensayo cromogénico en el cual se determina su actividad biológica como cofactor en la activación del factor X por el factor IX activado (factor IXa) en presencia de iones calcio y fosfolípidos. La potencia de la preparación del factor VIII se estima comparando la cantidad necesaria para alcanzar una cierta velocidad de formación del factor Xa en una mezcla de reacción que contiene las sustancias que intervienen en la activación del factor X y la cantidad de un Patrón Internacional o de una preparación de referencia calibrada en Unidades Internacionales, requerida para producir el mismo efecto.

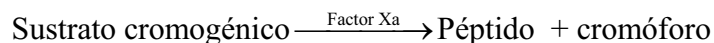
La Unidad Internacional es la actividad del factor VIII de una cantidad establecida de Patrón Internacional, que consiste en concentrado de factor VIII humano liofilizado. La equivalencia en Unidades Internacionales del Patrón Internacional la establece la Organización Mundial de la Salud.

El método cromogénico consta de dos pasos consecutivos: la activación del factor X a factor Xa que depende del factor VIII y el clivaje enzimático de un sustrato cromogénico específico para el factor Xa, produciendo un cromóforo que se puede cuantificar espectrofotométricamente. En las condiciones adecuadas, existe una relación lineal entre la velocidad de formación del factor Xa y la concentración del factor VIII. El resumen del ensayo se indica en el siguiente esquema:

Etapas 1:



Etapas 2:



En ambas etapas se utilizan reactivos que pueden ser obtenidos comercialmente. La composición de cada reactivo puede estar sujeta a alguna variación, sus características esenciales se describen en la siguiente especificación: pueden permitirse cier-

tas desviaciones de esta descripción únicamente si se ha comprobado, usando el Patrón Internacional de factor VIII, que los resultados obtenidos no difieren significativamente.

[NOTA: es importante demostrar por la validación, la adecuabilidad del kit usado, chequeando el tiempo de generación de factor X para determinar el tiempo necesario para alcanzar el 50 % de la generación máxima de factor X.]

Reactivo factor de coagulación - Contiene proteínas purificadas de origen humano o bovino. Estas incluyen el factor X, factor IXa, y un activador del factor VIII usualmente trombina. Estas proteínas parcialmente purificadas, al menos hasta el 50 %, no contienen impurezas que interfieren con la activación del factor VIII o del factor X. La trombina puede estar presente en su forma precursora protrombina, siempre que su activación en el reactivo sea suficientemente rápida para provocar la activación completa y prácticamente instantánea del factor VIII durante el ensayo. Los fosfolípidos se pueden obtener de un sustrato natural o pueden prepararse por síntesis, pero deben contener una proporción importante, de fosfatidilserina. Los componentes del reactivo completo suelen encontrarse separados en al menos dos reactivos distintos, carentes de la capacidad de formar el factor Xa por sí solos. Uno de los reactivos contiene iones calcio. Después de la reconstitución, éstos se pueden combinar, siempre que se pruebe que no se generan cantidades significativas de factor Xa en ausencia del factor VIII. En la mezcla de incubación final, el factor VIII debe ser el único componente limitante de la velocidad.

El segundo paso comprende la cuantificación del factor Xa formado, empleando un sustrato cromogénico específico para el factor Xa. Generalmente consiste en un péptido corto derivatizado, de entre 3 y 5 aminoácidos, unido a un grupo cromóforo. Cuando se cliva este grupo a partir del péptido sustrato, se produce un cambio de absorbancia a una longitud de onda apropiada que permite su cuantificación espectrofotométrica. El sustrato debe contener también inhibidores apropiados para detener la formación adicional del factor Xa (por ejemplo agentes quelantes) y suprimir la actividad de la trombina.

Prediluyente - Consiste de plasma de un paciente con hemofilia A grave, o de un reactivo preparado artificialmente que contenga suficiente factor von Willebrand y que de resultados que no difieren significativamente de los obtenidos empleando plasma hemofílico en las preparaciones patrón y problema. Los materiales prediluidos deben ser estables durante un tiempo superior al requerido para el ensayo.

Preparación estándar - Reconstituir el contenido de la ampolla mediante el agregado de una cantidad apropiada de agua; usar inmediatamente.

Realizar una dilución con suficiente cantidad de *Prediluyente* para obtener una solución que contenga entre 0,5 y 2,0 Unidades Internacionales por mililitro. Preparar las siguientes diluciones de la preparación estándar empleando una solución isotónica regulada, no quelante que contenga 1 % de albúmina humana o bovina, por ejemplo, tris(hidroximetil)aminometano o imidazol. Preparar preferentemente por duplicado y en forma independiente por lo menos tres diluciones en progresión geométrica o aritmética. La concentración final del factor VIII deberá ser inferior a 0,01 UI por ml durante el paso de formación del factor Xa.

Preparación muestra - Reconstituir el contenido de la ampolla según se indica en el rótulo y emplear inmediatamente. Realizar una dilución con suficiente cantidad de *Prediluyente* para obtener una solución que contenga entre 0,5 y 2,0 UI por mililitro. Preparar las siguientes diluciones empleando una solución isotónica regulada, no quelante que contenga 1 % de albúmina humana o bovina, por ejemplo, tris(hidroximetil)aminometano o imidazol. Preparar preferentemente por duplicado y en forma independiente por lo menos tres diluciones en progresión geométrica o aritmética. La concentración final del factor VIII en la mezcla reacción deberá ser inferior a 0,01 UI por ml durante el paso de formación del factor Xa.

Procedimiento - Preparar una solución blanco que incluya todos los componentes excepto el factor VIII. [NOTA: preparar todas las diluciones en tubos de plástico y emplearlas inmediatamente. Se debe realizar al menos dos replicas de cada dilución.]

Etapas 1. Mezclar las diluciones precalentadas de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra* con un volumen apropiado de *Reactivo factor de coagulación*, también precalentado, o con la combinación de sus constituyentes separados. Incubar en tubos de plástico o en pocillos de microplaca a 37 °C. Las concentraciones de los distintos componentes durante la formación del factor Xa deben ser las especificadas anteriormente en la descripción de los reactivos. Permitir que la activación del factor X proceda durante un tiempo apropiado, terminando la reacción (Etapa 2) cuando la concentración del factor Xa alcance aproximadamente el 50 % del nivel máximo. Los tiempos de activación están normalmente entre 2 y 5 min.

Etapas 2. Determinar el factor Xa por agregado del sustrato cromogénico precalentado. Cuantificar la proporción de sustrato escindido, que debe ser lineal con respecto a la concentración del factor Xa formado, midiendo en un espectrofotómetro el cambio de absorbancia a una longitud de onda apropiada. Puede registrarse la absorbancia de

modo continuo, por medio de la lectura de la velocidad de cambio de absorbancia a 405 nm continuamente por un período de tiempo y obtener la velocidad media del cambio de absorbancia ($\Delta A/\text{min}$) o también es posible detener la reacción de hidrólisis tras un intervalo apropiado bajando el pH por adición de un reactivo apropiado, como ácido acético al 50 % v/v o una solución de citrato (1 mol por litro), a pH 3. Ajustar el tiempo de hidrólisis para conseguir un incremento lineal del cromóforo a lo largo del tiempo. Los tiempos adecuados de hidrólisis suelen estar entre 3 y 15 min, pero se admiten variaciones si con ellas se obtiene una mejor linealidad en la reacción dosis-respuesta.

Comprobar la validez del ensayo y calcular la potencia de la preparación a examinar empleando los métodos estadísticos usuales (ver 10. *Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos*).

VALORACIÓN DEL FACTOR IX DE COAGULACIÓN SANGUÍNEA

El método para determinar la actividad de factor IX es un ensayo de coagulación basado en la capacidad del factor IX de reducir el tiempo de coagulación de un plasma carente de factor IX. La reacción es acelerada por el agregado de un reactivo que contenga fosfolípidos y un activador de contacto como por ejemplo caolín, sílica o ácido ellágico. La potencia es determinada por comparación de la curva dosis-respuesta de la preparación muestra, con la de una preparación de referencia calibrada en Unidades Internacionales.

La Unidad Internacional es la actividad de una cantidad establecida de Patrón Internacional, que consiste en un concentrado liofilizado de factor IX de coagulación. La equivalencia en Unidades Internacionales del Patrón Internacional la establece la Organización Mundial de la Salud.

Reactivos

Plasma carente de factor IX

Reactivo que contenga fosfolípidos (Cefalina) y un Activador de contacto (Caolín liviano (Sílica o Ácido ellágico)).

Cloruro de calcio

Solución Reguladora Imidazol pH 7,3

Albumina bovina o humana

Preparación estándar - Reconstituir la preparación según las indicaciones de la preparación estándar. Cuando corresponda, determinar la actividad de heparina presente y neutralizarla mediante la adición de por ejemplo sulfato de protamina (10 μg de sulfato de protamina neutralizan 1 UI de heparina). Diluir la preparación estándar con plasma carente de factor IX para obtener una solución que contenga entre 0,5 y 2,0 UI por mililitro. A partir

de esta dilución preparar, preferentemente por duplicado y en forma independiente, al menos tres diluciones, en progresión geométrica utilizando solución reguladora adecuada (por ejemplo solución reguladora de imidazol a pH 7,3 conteniendo 10 g por litro de albumina bovina o humana). Preparar estas diluciones con precisión y utilizarlas inmediatamente.

Preparación muestra - Reconstituir la preparación en ensayo según se indica en el rótulo y utilizar inmediatamente. Cuando corresponda, determinar la actividad de heparina presente y neutralizarla mediante la adición de por ejemplo sulfato de protamina (10 μg de sulfato de protamina neutralizan 1 UI de heparina). Diluir la preparación en ensayo con plasma carente de factor IX para obtener una solución que contenga entre 0,5 y 2,0 UI por mililitro. Preparar diluciones en progresión geométrica de igual manera que la preparación estándar.

Procedimiento - Usar un aparato apropiado para medir tiempos de coagulación o realizar el ensayo colocando los tubos en baño de agua a 37 °C. Realizar la reacción por duplicado en el siguiente orden E1, E2, E3, M1, M2, M3 y con el otro juego de diluciones continuar en el siguiente orden M1, M2, M3, E1, E2 y E3. Colocar en cada tubo 0,1 ml plasma carente de factor IX y 0,1 ml de una de las diluciones de la *Preparación estándar* o de la *Preparación muestra*. Añadir a cada tubo 0,1 ml de un reactivo que contenga fosfolípidos y un activador de contacto apropiado para Tiempo de Tromboplastina Parcial Activado (TTPA) e incubar el tiempo recomendado a 37 °C. A cada tubo añadir 0,1 ml de una solución 3,7 g por litro de cloruro de calcio previamente calentado a 37 °C. Utilizando un cronómetro, medir el tiempo de coagulación, es decir, el intervalo entre el momento de agregado del cloruro de calcio y la primera indicación de formación de fibrina. [NOTA: se recomienda utilizar material plástico; los volúmenes se pueden modificar al igual que los tiempos de incubación; se pueden emplear reactivos comerciales siempre que se compruebe que los resultados son iguales.] Calcular la potencia empleando los métodos estadísticos habituales (ver 10. *Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos*).

VALORACIÓN DEL FACTOR X DE COAGULACIÓN SANGUÍNEA

El método para determinar la actividad de factor X de coagulación es un ensayo cromogénico en el cual se determina su actividad por su activación específica para formar factor Xa. La potencia de la preparación de factor X se estima comparando su actividad con un Patrón Internacional o una sustan-

cia de referencia calibrada en Unidades Internacionales por un método cromogénico.

La Unidad Internacional es la actividad de factor X de una cantidad establecida de patrón Internacional que consiste en un concentrado liofilizado de factor X humano. La equivalencia en Unidades Internacionales del Patrón Internacional la establece la Organización Mundial de la Salud. El método cromogénico de valoración consiste en dos pasos: la activación del factor X a factor Xa que depende de veneno de serpiente y el clivaje enzimático de un sustrato cromogénico específico para factor Xa, para dar un cromóforo que puede ser cuantificado espectrofotométricamente. En las condiciones apropiadas, existe una relación lineal entre la actividad del factor Xa y el clivaje del sustrato cromogénico.

Reactivos

Solución reguladora para diluciones - Solución de 3,7 g por litro de tris(hidroximetil)aminometano, 18,0 g por litro de cloruro de sodio, 2,1 g por litro de imidazol, 0,02 g por litro de bromuro de hexadimetrina y 1 g por litro de albúmina bovina o albúmina humana. Ajustar a pH 8,4, si fuera necesario, con ácido clorhídrico.

Veneno de víbora Russell específico para activar factor X - Se trata de una proteína derivada del veneno de víbora Russell's (*Vipera russelli*) que activa específicamente el factor X. Reconstituir y almacenar según se indica en el rótulo.

Sustrato cromogénico para factor Xa - Sustratos cromogénicos específicos para factor Xa tales como: *N*- α -benziloxycarbonil-*D*-arginil-*L*-glicil-*L*-arginina-4-nitroanilida diclorhidrato, *N*-benzoil-*L*-isoleucil-*L*-glutamil-glicil-*L*-arginin-4-nitroanilida clorhidrato, metanosulfonil-*D*-leucil-glicil-*L*-arginin-4-nitroanilida, metoxicarbonil-*D*-ciclohexilalanil-glicil-*L*-arginin-4-nitroanilida acetato. Reconstituir según se indica en el rótulo.

Preparación estándar - Diluir con *Solución reguladora para diluciones* para obtener una solución de 0,18 UI de factor X por mililitro. Preparar, preferentemente por duplicado y en forma independiente, al menos tres diluciones en progresión geométrica o aritmética empleando el mismo solvente.

Preparación muestra - Diluir con *Solución reguladora para diluciones* para obtener una solución de 0,18 UI de factor X por mililitro. Preparar, preferentemente por duplicado y en forma independiente, al menos tres diluciones en progresión geométrica o aritmética empleando el mismo solvente.

Procedimiento - Precalear todas las soluciones en un baño de agua a 37 °C inmediatamente antes de realizar el ensayo. Las siguientes condiciones de ensayo se utilizan para placas de

96 pocillos. Si el ensayo se lleva a cabo en tubos, se deben ajustar los volúmenes de manera que se mantengan las proporciones de la mezcla. Se deben realizar dos reacciones de cada dilución. En una placa de 96 pocillos mantenida a 37 °C, agregar por duplicado 12,5 μ l de cada dilución de la *Preparación muestra* o la *Preparación estándar* a cada uno de los pocillos. Mezclar volúmenes iguales de *Veneno de víbora Russell específico para activar factor X* y cloruro de calcio 0,1M, transferir 25 μ l a cada pocillo e incubar durante exactamente 90 segundos. A cada pocillo agregar 150 μ l de *Sustrato cromogénico para factor Xa* diluido 1 en 6 con *Solución reguladora para diluciones*. [NOTA: se admiten modificaciones de volúmenes de la reacción si con ellas se obtiene una mejor linealidad]. Determinar la velocidad de cambio de absorbancia (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) a 405 nm de forma continua durante 3 minutos y obtener el promedio de velocidad de cambio de absorbancia ($\Delta A/\text{min}$). Si no se puede medir en forma continua, leer la absorbancia a 405 nm a intervalos consecutivos adecuados, durante 40 segundos, o también es posible detener la reacción de hidrólisis tras un intervalo apropiado bajando el pH por adición de un reactivo conveniente, como ácido acético al 50 % v/v o una solución de citrato 1 M. Ajustar el tiempo de hidrólisis para conseguir un incremento lineal del cromóforo a lo largo del tiempo. Con los valores $\Delta A/\text{min}$ o *A* de cada dilución tanto de muestra como el estándar. Comprobar la validez del ensayo y calcular la potencia de la preparación a examinar empleando los métodos estadísticos habituales (ver 10. *Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos*).

VALORACIÓN DEL FACTOR DE VON WILLEBRAND

La potencia del factor de von Willebrand humano se determina comparando su actividad en la unión a colágeno o como cofactor ristocetina con la misma actividad de una preparación de referencia calibrada en Unidades Internacionales contra el estándar internacional.

La Unidad Internacional se define como la actividad de una cantidad establecida de Patrón Internacional para factor de von Willebrand en concentrado de factor VIII de coagulación humana. La equivalencia en Unidades Internacionales del Patrón Internacional la establece la Organización Mundial de la Salud.

Ensayo de unión a colágeno

La unión a colágeno se determina por un Enzoinmunoensayo sobre placas cubiertas con colágeno. El método se basa en la unión específica del

factor de von Willebrand a las fibras de colágeno y la posterior unión a un anticuerpo policlonal anti-factor de von Willebrand conjugado a una enzima, la cual, al agregar un sustrato cromogénico, genera un producto que puede ser cuantificado espectrofotométricamente. Bajo condiciones apropiadas existe una relación lineal entre el factor de von Willebrand unido a colágeno y la absorbancia.

Reactivos

Colágeno - Emplear fibras de colágeno humano o equino nativas tipo I o III. Pueden emplearse soluciones de colágeno.

Diluyente de Colágeno - Disolver 50 g de glucosa en agua, ajustar a pH entre 2,7 y 2,9 con ácido clorhídrico 1 M y diluir a 1 litro con agua.

Solución reguladora salina fosfatada (PBS) - Disolver 8 g de cloruro de sodio, 1,05 g de fosfato dibásico de sodio, 0,2 g de fosfato monobásico de sodio y 0,2 g de cloruro de potasio en agua. Ajustar a pH 7,2 con hidróxido de sodio 1 M o ácido clorhídrico 1 M y diluir a 1 litro con agua.

Solución reguladora de lavado - *Solución reguladora salina fosfatada* conteniendo 1 g por litro de polisorbato 20.

Reactivo bloqueante - *Solución reguladora salina fosfatada* conteniendo 1 g por litro de polisorbato 20 y 10 g por litro de albúmina sérica bovina.

Solución reguladora de dilución - *Solución reguladora salina fosfatada* conteniendo 1 g por litro de polisorbato 20 y 50 g por litro de albúmina sérica bovina.

Conjugado - Suero de conejo anti-factor de von Willebrand humano conjugado con peroxidasa. Emplear de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

Solución sustrato - Inmediatamente antes de emplear disolver una tableta de dicloruro de o-fenilendiamina y una tableta de peróxido de hidrógeno en 20 ml de agua o un volumen adecuado de peróxido de hidrógeno. [NOTA: proteger de la luz.]

Placas de microtitulación - Placas de poliestireno de fondo plano con superficies optimizadas para enzimo-inmunoensayo y alta capacidad de unión a proteínas.

Preparación estándar - Reconstituir la preparación de referencia según se indica en el rótulo. Diluir con *Solución reguladora de dilución* para obtener una solución de aproximadamente 1 UI de factor de von Willebrand. Preparar dos series independientes de no menos de tres diluciones cada una con *Solución reguladora de dilución*.

Preparación muestra - Reconstituir la preparación en ensayo según se indica en el rótulo. Diluir con *Solución reguladora de dilución* para obtener

una solución de aproximadamente 1 UI de factor de von Willebrand. Preparar dos series independientes de no menos de tres diluciones cada una con *Solución reguladora de dilución*.

Procedimiento - Llevar la solución de *Colágeno* a temperatura ambiente. Diluir con *Diluyente de colágeno* para obtener una solución entre 30 y 75 µg por ml de colágeno, mezclar para obtener una suspensión uniforme de fibras de colágeno. Colocar 100 µl en cada orificio de la placa de titulación. Cubrir la placa con un film plástico e incubar a 37 °C durante toda la noche. Vaciar los orificios de la placa cubierta con colágeno invirtiéndola y dejar secar sobre papel absorbente. Agregar 250 µl de *Solución de lavado*. Vaciar los orificios de la placa invirtiéndola y dejar secar sobre papel absorbente. Repetir la operación tres veces. Agregar 250 µl de *Reactivo bloqueante* a cada orificio, cubrir la placa con un film plástico e incubar a 37 °C por una hora. Vaciar los orificios de la placa invirtiéndola y dejar secar sobre papel absorbente. Agregar 250 µl de *Solución de lavado*. Vaciar los orificios de la placa invirtiéndola y dejar secar sobre papel absorbente. Repetir la operación tres veces. Agregar 100 µl de *Preparación muestra* o de *Preparación estándar* en los orificios. Agregar 100 µl de *Solución reguladora de dilución* a una serie de orificios que actúan como control negativo. Cubrir la placa con un film plástico e incubar a 37 °C por dos horas. Vaciar los orificios de la placa invirtiéndola y dejando secar sobre papel absorbente. Agregar 250 µl de *Solución de lavado*. Vaciar los orificios de la placa invirtiéndola y dejar secar sobre papel absorbente. Repetir la operación tres veces. Preparar una dilución apropiada del conjugado con *Solución reguladora salina fosfatada* conteniendo albúmina sérica bovina 5 g por litro y agregar 100 µl a cada orificio. Cubrir la placa con un film plástico e incubar a 37 °C durante dos horas. Vaciar los orificios de la placa invirtiéndola y dejar secar sobre papel absorbente. Agregar 250 µl de *Solución de lavado*. Vaciar los orificios de la placa invirtiéndola y dejar secar sobre papel absorbente. Repetir la operación tres veces. Agregar 100 µl de *Solución sustrato* a cada orificio e incubar a temperatura ambiente durante 20 minutos en la oscuridad. Agregar 100 µl de ácido clorhídrico a cada orificio. Medir las absorbancias a 492 nm. Emplear los valores de absorbancia para estimar la potencia de la preparación con los métodos estadísticos habituales. El ensayo solo es válido si los valores de absorbancia para los controles negativos son mayores que 0,05.

Actividad de cofactor ristocetina

Preparar diluciones apropiadas de la preparación en ensayo y de la preparación de referencia emple-

ando como diluyente una solución de 9 g por litro de cloruro de sodio y albúmina humana 10 a 50 g por litro. Añadir a cada dilución cantidades adecuadas de un reactivo von Willebrand conteniendo plaquetas humanas estabilizadas y ristocetina A. Mezclar sobre una placa de vidrio con movimientos circulares durante 1 minuto. Dejar reposar durante 1 minuto y observar sobre fondo oscuro con iluminación lateral. La última dilución que presenta aglutinación claramente visible indica el título de cofactor de ristocetina en la muestra. Emplear el diluyente como control negativo.

ACTIVIDAD ANTICOMPLEMENTARIA

Llevar a cabo la determinación de la actividad anticomplemento (AAC) de la inmunoglobulina por incubación de una determinada cantidad de sustancia a examinar (10 mg de inmunoglobulina) con una determinada cantidad de complemento de cobayo (20 CH₅₀), seguida de la titulación del complemento residual. Expresar la actividad anticomplemento como el porcentaje de complemento consumido respecto al complemento control considerado como 100 %. La unidad hemolítica de actividad del complemento (CH₅₀) es la cantidad de complemento que, en las condiciones de la reacción, provoca la lisis de $2,5 \times 10^8$ eritrocitos sobre un total de 5×10^8 eritrocitos sensibilizados de forma óptima.

Reactivos

Solución concentrada de magnesio y calcio - Disolver 1,103 g de cloruro de calcio y 5,083 g de cloruro de magnesio en agua y diluir hasta 25 ml con el mismo solvente.

Solución reguladora concentrada de barbital - Disolver 207,5 g de cloruro de sodio y 25,48 g de barbital sódico en 4 litros de agua y ajustar a pH 7,3 con ácido clorhídrico 1 M. Agregar 12,5 ml de *Solución concentrada de magnesio y calcio* y diluir hasta 5 litros con agua. Filtrar a través de una membrana filtrante de 0,22 µm y conservar a 4 °C en envases de vidrio.

Solución de gelatina - Disolver 12,5 g de gelatina en aproximadamente 800 ml de agua y calentar a ebullición en un baño de agua. Enfriar a 20 °C y completar hasta 10 litros con agua. Filtrar a través de una membrana filtrante de 0,22 µm y conservar a 4 °C. [NOTA: emplear únicamente soluciones lípidas.]

Solución citratada - Disolver 8,0 g de citrato de sodio, 4,2 g de cloruro de sodio y 20,5 g de glucosa en 750 ml de agua. Ajustar a pH 6,1 con una solución de ácido cítrico 100 g por litro y diluir hasta 1 litro con agua.

Solución reguladora gelatina-barbital - Agregar 4 volúmenes de *Solución de gelatina* a 1 volumen de *Solución reguladora concentrada de barbital* y mezclar. Ajustar a pH 7,3, si fuera necesario, con ácido clorhídrico 1 M o hidróxido de sodio 1 M y mantener a 4 °C. [NOTA: preparar en el día de su uso.]

Sangre de carnero estabilizada - Recolectar 1 volumen de sangre de carnero sobre 1 volumen de *Solución citratada* y mezclar. Conservar la sangre estabilizada a 4 °C durante un mínimo de 7 días y un máximo de 28 días. [NOTA: la sangre de carnero o los eritrocitos de carnero estabilizados se pueden obtener comercialmente.]

Hemolisina - Antisuero frente a los eritrocitos de carnero, preparado en conejo [NOTA: dichos antisueros se pueden obtener comercialmente.]

Complemento de cobayo - Mezclar los sueros obtenidos a partir de la sangre de al menos diez cobayos. Separar el suero de la sangre coagulada por centrifugación a 4 °C aproximadamente. Conservar el suero en pequeñas cantidades a una temperatura inferior a -70 °C.

Método

Preparación de la suspensión patrón de eritrocitos de carnero al 5 %

Separar los eritrocitos de carnero por centrifugación de un volumen adecuado de sangre de carnero estabilizada. Lavar las células tres veces como mínimo con *Solución reguladora gelatina-barbital* y preparar una suspensión al 5 % v/v en *Solución reguladora gelatina-barbital*. Determinar la concentración celular según se indica a continuación. Agregar 0,2 ml de la suspensión a 2,8 ml de agua y centrifugar el lisado durante 5 minutos a 1.000 g. La concentración celular es adecuada si la absorbancia del líquido sobrenadante, determinada a 541 nm, es de $0,62 \pm 0,01$. Corregir la concentración celular por adición de un volumen de *Solución reguladora gelatina-barbital* hasta un V_f , calculado por la fórmula siguiente:

$$AV_o/0,62$$

en la cual V_o es el volumen inicial de la suspensión original y A es la absorbancia de la suspensión original a 541 nm. La suspensión ajustada contiene aproximadamente 10^9 células por ml.

Titulación de la hemolisina

Preparar las diluciones de hemolisina según el siguiente esquema:

<i>na requerida</i>	<i>Solución reguladora barbitol - gelatina</i>		<i>Hemolisina</i>
	Volumen (ml)	Dilución (1:....)	Volumen (ml)
7,5	0,65	no diluido	0,1
10	0,90	no diluido	0,1
75	1,80	7,5	0,2
100	1,80	10	0,2
150	1,00	75	1,0
200	1,00	100	1,0
300	1,00	150	1,0
400	1,00	200	1,0
600	1,00	300	1,0
800	1,00	400	1,0
1.200	1,00	600	1,0
1.600	1,00	800	1,0
2.400	1,00	1.200	1,0
3.200*	1,00	1.600	1,0
4.800*	1,00	2.400	1,0

* Descartar 1,0 ml de la mezcla.

Agregar 1,0 ml de *Suspensión patrón de eritrocitos de carnero al 5 %* a cada tubo de la serie de *Diluciones de hemolisina*, comenzando con la dilución 1:75 y mezclar. Incubar a 37 °C durante 30 minutos.

Transferir 0,2 ml de cada mezcla de *Dilución de hemolisina* a tubos nuevos y agregar 1,10 ml de *Solución reguladora gelatina-barbitol* y 0,2 ml de una dilución de *Complemento de cobayo* (por ejemplo 1:150). Realizar estas operaciones por duplicado.

Como control de células sin hemólisis preparar tres tubos con 1,4 ml de *Solución reguladora gelatina-barbitol* y 0,1 ml de *Suspensión de eritrocitos de carnero al 5 %*.

Como control de células hemolisadas preparar tres tubos con 1,4 ml de agua y 0,1 ml de *Suspensión de eritrocitos de carnero al 5 %*.

Incubar todos estos tubos a 37 °C durante 60 minutos y centrifugar a 1.000 g durante 5 minutos. Medir la absorbancia de cada líquido sobrenadante a 541 nm y calcular el grado de hemólisis de cada tubo por la fórmula siguiente:

$$(A_a - A_l) / (A_b - A_l)$$

en la cual A_a es la absorbancia de los tubos que contienen las *Diluciones de hemolisina*, A_b es la absorbancia media de los tres tubos con hemólisis total y A_l es la absorbancia media de los tres tubos sin hemólisis.

Graficar el grado de hemólisis obtenido, en porcentaje, en función de la inversa de la *Dilución de*

hemolisina. Determinar la dilución óptima de hemolisina a partir del gráfico. Elegir una dilución en la que un aumento de la cantidad de hemolisina ya no produzca una variación sensible del grado de hemólisis. Esta dilución se considera que contiene 1 unidad mínima de hemólisis (1 UMH) en 1,0 ml. La dilución óptima hemolítica de hemolisina para la preparación de eritrocitos de carnero sensibilizados contiene 2 UMH por ml.

La titulación de hemolisina no es válida si la hemólisis máxima no esta comprendida entre el 50 y el 70 %. Si el máximo grado de hemólisis no está en este intervalo, repetir la titulación utilizando una disolución de complemento más o menos diluida según corresponda.

Preparación de eritrocitos de carnero sensibilizados (sistema hemolítico)

Preparar una cantidad adecuada de hemolisina diluida conteniendo 2 UHM por ml y un volumen igual de *Suspensión patrón de eritrocitos de carnero al 5 %*. Añadir la dilución de hemolisina a la suspensión patrón de células y mezclar. Incubar a 37 °C durante 15 minutos; conservar entre 2 y 8 °C y emplear dentro de las 6 horas de preparada.

Titulación del complemento

Preparar una dilución apropiada de complemento (por ejemplo 1:250) con *Solución reguladora gelatina-barbitol* y realizar la titulación por duplicado según se indica en la siguiente tabla:

<i>Tubo</i> <i>N°</i>	<i>Volumen de complemento diluido (ml)</i> <i>(por ej. 1:250)</i>	<i>Volumen de Solución reguladora de gelatina-barbitol (ml)</i>
1	0,1	1,2

2	0,2	1,1
3	0,3	1,0
4	0,4	0,9
5	0,5	0,8
6	0,6	0,7
7	0,7	0,6
8	0,8	0,5
9	0,9	0,4
10	1,0	0,3
11	1,1	0,2
12	1,2	0,1
Tres tubos Control de células con 0 % de hemólisis	-	1,3
Tres tubos al 100 % de hemólisis	-	1,3 ml de agua

Agregar 0,2 ml de *Eritrocitos de carnero sensibilizados* a cada tubo, mezclar e incubar a 37 °C durante 60 minutos. Enfriar los tubos en un baño de hielo y centrifugar a 1.000 g durante 5 minutos. Medir la absorbancia del sobrenadante a 541 nm y calcular el grado de hemólisis (Y) por la fórmula siguiente:

$$(A_c - A_l) / (A_b - A_l)$$

en la cual A_c es la absorbancia de los *Tubos 1 a 12*, A_b es la absorbancia media de los tres tubos con hemólisis al 100 % y A_l es la absorbancia media de los tres tubos sin hemólisis.

Representar una curva sobre papel doble logarítmico con los valores de $Y/(1-Y)$ en función al volumen de complemento diluido en mililitros. Hallar la ecuación de la recta que mejor ajuste al conjunto de puntos y determinar el valor en ordenadas que corresponda al 50 % de dosis hemolítica del complemento donde $Y/(1-Y) = 1,0$. Calcular la acti-

vidad en unidades hemolíticas (CH_{50}/ml) de acuerdo con la fórmula siguiente:

$$C_d/5C_a$$

en la cual C_d es el valor inverso de la dilución del complemento, C_a es el volumen en mililitros del complemento diluido que produce un 50 % de hemólisis y 5 el factor de escala para tener en cuenta el número de eritrocitos.

El ensayo no será válido a menos que el gráfico sea lineal entre el 15 % y el 85 % de hemólisis y que el valor de la pendiente esté comprendido entre 0,15 y 0,40 (preferentemente entre 0,18 y 0,30).

Ensayo de la actividad anticomplemento

Preparar una dilución del *Complemento de cobayo* ya titulado con *Solución reguladora gelatina-barbital* para obtener 100 CH_{50}/ml . Agregar la inmunoglobulina a examinar, ajustada a pH 7 si fuera necesario. Preparar las mezclas siguientes de incubación para una inmunoglobulina que contenga 50 mg por ml:

	<i>Inmunoglobulina a ser examinada (ml)</i>	<i>Control de complemento (por duplicado) (ml)</i>
Inmunoglobulina (50 mg por ml)	0,2	—
Solución reguladora gelatina barbital	0,6	0,8
Complemento	0,2	0,2

Realizar en paralelo los ensayos sobre la inmunoglobulina a examinar y sobre controles negativos y positivos de AAC, preparados con inmunoglobulina humana según las indicaciones del prospecto que acompaña a la preparación de referencia. Si la sustancia a examinar contiene más o menos de 50 mg por ml de inmunoglobulina, ajustar adecuadamente los volúmenes de la preparación y de la *Solución reguladora gelatina-barbital*, por ejemplo, utilizar 0,33 ml de una

preparación que contenga 30 mg por ml de inmunoglobulina y 0,47 ml de *Solución reguladora gelatina-barbital* para conseguir un volumen total de 0,8 ml. Tapar los tubos e incubar a 37 °C durante 60 minutos. Agregar 0,2 ml de cada mezcla de incubación a 9,8 ml de *Solución reguladora gelatina-barbital* para diluir el complemento. Para determinar la actividad del complemento residual, realizar la *Titulación del complemento* en cada tubo según se ha descrito anteriormente.

Calcular la actividad anticomplementaria (AAC) de la sustancia a examinar empleando como referencia el complemento control considerado como 100 %, a partir de la fórmula siguiente:

$$100(a-b)/a$$

en la cual a es la media de la actividad del complemento (CH_{50}/ml) del complemento control y b es la actividad del complemento (CH_{50}/ml) de la sustancia a examinar.

El ensayo no es válido a menos que; las actividades anticomplementarias encontradas para los controles AAC negativos y los controles AAC positivos se sitúen en los límites indicados en el prospecto que acompaña la preparación de referencia; la actividad del complemento control (a) esté comprendida entre 80 y 120 CH_{50} por mililitro.

ACTIVADOR DE PRECALICREÍNA

El activador de precalicreína (PCA) transforma la precalicreína en calicreína y ésta puede valorarse por su capacidad de escindir un cromóforo a partir de un sustrato peptídico sintético. El grado de clivaje se puede medir por espectrofotometría y la concentración de PCA se calcula por comparación con una preparación patrón calibrada en Unidades Internacionales. La Unidad Internacional corresponde a la actividad de una determinada cantidad del Patrón Internacional, que está constituido por activador de la precalicreína liofilizado. La equivalencia en Unidades Internacionales de la muestra patrón internacional la establece la Organización Mundial de la Salud.

Reactivos

Solución reguladora A - Disolver 6,055 g de tris(hidroximetil)aminometano, 1,17 g de cloruro de sodio, 50 mg de bromuro de hexadimetrina y 100 mg de azida de sodio en agua. Ajustar a pH 8,0 con ácido clorhídrico 2 M y diluir hasta 1 litro con agua.

Solución reguladora B - Disolver 6,055 g de tris(hidroximetil)aminometano y 8,77 g de cloruro de sodio en agua. Ajustar a pH 8,0 con ácido clorhídrico 2 M y diluir hasta 1 litro con agua.

Preparación del sustrato de la precalicreína - [NOTA: para evitar que se active la coagulación, la sangre o el plasma utilizados para la preparación de la precalicreína deben ponerse en contacto sólo con material plástico o de vidrio tratado con silicona.] Añadir 9 volúmenes de sangre humana sobre un volumen de una solución de anticoagulante (ACD, CPD o una solución de citrato de sodio 38 g por litro) a la que se le ha agregado 1 mg por mililitro de bromuro de hexadimetrina.

Centrifugar la mezcla a 3.600 g durante 5 minutos. Separar el plasma y centrifugar de nuevo a 6.000 g durante 20 minutos para que sedimenten las plaquetas. Separar el plasma pobre en plaquetas y dializar frente a 10 volúmenes de *Solución reguladora A* durante 20 horas. Después de la diálisis, aplicar el plasma sobre una columna de cromatografía que contiene agarosa-DEAE para cromatografía de intercambio iónico, que haya sido equilibrada con *Solución reguladora A* y cuyo volumen sea igual a dos veces el volumen del plasma. Eluir con *Solución reguladora A* a un flujo de 20 $ml/cm^2/h$. Recolectar el eluido en fracciones y medir la absorbancia a 280 nm. Reunir las fracciones que contengan el primer pico de proteínas para obtener aproximadamente un volumen de 1,2 veces el volumen del plasma pobre en plaquetas.

Para verificar que el sustrato está exento de actividad de calicreína, mezclar 1 volumen del mismo con 20 volúmenes de solución del sustrato cromogénico que será utilizado durante el ensayo precalentada e incubar a 37 °C durante 2 minutos. El sustrato es adecuado si la absorbancia no aumenta más de 0,001 por minuto. Agregar a la solución de sustrato 7 g por litro de cloruro de sodio y filtrar utilizando un filtro de membrana de 0,45 μm . Congelar el filtrado en alícuotas y conservar a -25 °C; el sustrato también puede liofilizarse para su conservación. [NOTA: efectuar todas las operaciones, desde el inicio de la cromatografía hasta la congelación en partes alícuotas, durante una misma jornada de trabajo.]

Valoración

Es preferible realizar la valoración utilizando un analizador enzimático automatizado a 37 °C, con volúmenes, concentraciones de sustrato y tiempos de incubación ajustados para que la velocidad de reacción sea lineal al menos hasta 35 UI/ml. Los patrones, las muestras y el sustrato de la precalicreína pueden diluirse, si fuese necesario, con *Solución reguladora B*.

Incubar los patrones o las muestras diluidos durante 10 minutos con sustrato de precalicreína, de forma que el volumen del patrón o de la muestra sin diluir no sobrepase 1/10 del volumen total de la mezcla de incubación, para evitar errores producidos por la variación de la fuerza iónica y el pH. Incubar la mezcla o una parte de ella con un volumen igual de una solución de un sustrato cromogénico sintético que sea específico para la calicreína (por ejemplo, acetato de *N*-benzoyl-*L*-prolil-*L*-fenilalanil-*L*-arginina 4-nitroanilida o dihidrocloruro de *D*-prolil-*L*-fenilalanil-*L*-arginina 4-nitroanilida), disuelto en *Solución reguladora B*.

Medir la variación de la absorbancia por minuto $\Delta A/\text{min}$ desde el minuto 2 al minuto 10, a la longitud de onda específica para el sustrato utilizado. Preparar un blanco para cada mezcla de muestra o de patrón utilizando la *Solución reguladora B* en lugar del sustrato de precalicreína. Corregir $\Delta A/\text{min}$ sustrayendo el valor obtenido para el blanco correspondiente. Realizar una curva de calibración utilizando los valores obtenidos con los patrones y sus respectivas concentraciones; utilizar la curva para determinar la actividad de PCA de la sustancia a examinar.

415. ENSAYO PARA AGENTES EXTRAÑOS EN VACUNAS VIRALES

En aquellos ensayos que se requiere una neutralización previa del virus, utilizar anticuerpos específicos de origen no humano y no simio. Si el virus ha sido propagado en tejidos de aves los anticuerpos deben ser también de origen no aviar. Para preparar el antisuero utilizando un antígeno inmunizante producido en cultivo celular de una especie diferente de la utilizada para la producción de la vacuna y libre de agentes extraños. Cuando se indica el uso de huevos LPE, los huevos deben ser obtenidos de un criadero libre de patógenos específicos.

LOTE SEMILLA DEL VIRUS

Tomar muestras de los lotes semilla del virus en el momento de la cosecha, si no son utilizadas inmediatamente conservar a una temperatura menor de -40°C .

Ratones adultos

Inocular por lo menos diez ratones adultos entre 15 y 20 g de peso, intracerebralmente con 0,03 ml e intraperitonealmente con 0,5 ml del lote semilla del virus. Observar los ratones por lo menos durante 21 días. Realizar una autopsia a todos los ratones que murieron después de las primeras 24 horas del ensayo o que muestren signos de enfermedad y examinar para evidencia de infección viral, tanto por observación macroscópica directa como por subinoculación de una suspensión de tejido apropiada por rutas intracerebral e intraperitoneal en por lo menos cinco ratones adicionales que son observados durante 21 días. El lote semilla del virus cumple con el ensayo si ningún ratón muestra evidencia de infección atribuible al lote semilla. El ensayo sólo es válido si por lo menos el 80 % de los ratones inoculados originalmente sobreviven el período de observación.

Ratones lactantes

Inocular por lo menos veinte ratones lactantes de menos de 24 horas de edad, intracerebralmente con 0,01 ml e intraperitonealmente con no menos de 0,1 ml del lote semilla del virus. Observar los ratones diariamente por lo menos durante 14 días. Realizar una autopsia a todos los ratones que murieron después de las primeras 24 horas del ensayo o que muestren signos de enfermedad y examinar para evidencia de infección viral, tanto por observación macroscópica directa como por subinoculación de una suspensión de tejido apropiada por rutas intracerebral e intraperitoneal en por lo menos cinco ratones lactantes adicionales

que son observados diariamente por 14 días. El lote semilla del virus cumple con el ensayo si ningún ratón muestra evidencia de infección atribuible al lote semilla. El ensayo sólo es válido si por lo menos el 80 % de los ratones inoculados originalmente sobreviven el período de observación.

Cobayos

Inocular intraperitonealmente, a por lo menos cinco cobayos entre 350 a 450 g de peso, 5,0 ml del lote semilla del virus. Observar los animales por lo menos durante 42 días para ver signos de enfermedad. Realizar una autopsia a todos los cobayos que murieron después de las primeras 24 horas del ensayo o que muestren signos de enfermedad y examinar macroscópicamente y por cultivo para ver evidencia de infección. Matar los animales que sobrevivan al período de observación y examinar de manera similar. El lote semilla del virus cumple con el ensayo si ningún cobayo muestra evidencia de infección atribuible al lote semilla. El ensayo sólo es válido si por lo menos el 80 % de los cobayos sobreviven el período de observación.

LOTE SEMILLA DEL VIRUS Y COSECHAS DEL VIRUS

Tomar muestras en el momento de la cosecha y si no son utilizadas inmediatamente conservar a una temperatura menor de -40°C .

Esterilidad fúngica y bacteriana

Una muestra de 10 ml debe cumplir con los requisitos de 370. *Ensayo de esterilidad*.

Ensayo de micoplasmas <336>

Una muestra de 10 ml debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de micobacterias <335>

Emplear 5 ml de la muestra en ensayo para verificar la ausencia de *Mycobacterium ssp.* por métodos de cultivos que sean sensibles a la detección de estos organismos.

Cultivo celular para otros agentes extraños

Inocular muestras neutralizadas equivalentes a 500 dosis humanas de vacuna o 50 ml, en cultivos continuos de riñón de simio y células humanas. Si el virus crece en células diploides humanas, la cosecha viral neutralizada se debe inocular en un cultivo separado de células diploides. Si el virus de la vacuna es desarrollado en otro sistema celular diferente a simio o humano, debe también

inocularse células de esa especie. Las células son incubadas a 36 ± 1 °C y observadas durante 14 días. El lote de semilla viral o la cosecha cumplen con los requisitos si ninguno de los cultivos celulares muestra evidencia de algún agente extraño no atribuible a una contaminación accidental. El ensayo sólo es válido si por lo menos el 80 % de los cultivos celulares permanecen viables.

Virus aviares

[NOTA: realizar este ensayo solo en virus propagados en tejidos aviares].

Neutralizar una mezcla equivalente a 100 dosis humanas o 10 ml. Inocular 0,5 ml de la muestra en ensayo a sendos huevos de un primer grupo de huevos LPE fertilizados de 9 y 11 días de edad por vía alantoica y un segundo grupo de 5 a 7 días de edad dentro del saco de la yema. Incubar durante 7 días. El lote de semilla viral o la cosecha cumplen el ensayo si los fluidos alantoicos y el saco de la yema no muestran signos de presencia de cualquier agente hemaglutinante y si todos los embriones y las membranas coreoalantoicas examinadas son normales. El ensayo sólo es válido si por lo menos el 80 % de los huevos inoculados sobreviven durante 7 días.

CULTIVO CELULAR DE PRODUCCIÓN

Examinar microscópicamente las células control para verificar la ausencia de cualquier virus causante de efecto citopático a lo largo del tiempo de incubación de los cultivos celulares de producción inoculados o como mínimo 14 días después del momento de inoculación de los frascos de producción. El ensayo sólo es válido si por lo menos el 80 % de los cultivos celulares control sobreviven hasta el final del período de observación. A los 14 días o en el momento de la última cosecha del virus, si el tiempo es mayor, proceder según se indica en *Virus hemadsorbentes*.

Virus hemadsorbentes

Examinar no menos de 25 % de los cultivos control para detectar la presencia de virus hemadsorbentes por adición de glóbulos rojos de cobayo. Las células rojas sanguíneas de cobayo se deben almacenar a 5 ± 3 °C durante no más de 7 días. Examinar la mitad de los cultivos después de la incubación a 5 ± 3 °C durante 30 minutos y la otra mitad después de la incubación entre 20 y 25 °C durante 30 minutos. La muestra cumple con los requisitos si no se encuentra evidencia de la presencia de agentes hemadsorbentes.

Cultivo celular para otros agentes extraños

Mezclar los sobrenadantes fluidos de las células control y examinar para detectar la presencia de agentes extraños por inoculación de cultivos de

células de riñón de simio o humanas. Si el virus de la vacuna desarrolla en un sistema celular deferente al humano o simio, inocular células de esas especies pero de lotes diferentes. En cada sistema celular se deben ensayar al menos 5 ml. Incubar los cultivos inoculados a una temperatura de 36 ± 1 °C y observar por un período de 14 días. La muestra cumple el ensayo si no se encuentra evidencia de la presencia de agentes extraños.

Si la producción de cultivos celulares se mantiene a una temperatura diferente de 36 ± 1 °C realizar un ensayo suplementario para agentes extraños a la temperatura de producción utilizando el mismo tipo de células que la usada para el desarrollo del virus.

Virus de la leucosis aviar

[NOTA: realizar este ensayo solo en virus propagados en tejidos aviares].

Realizar un ensayo para leucosis aviar utilizando 5 ml del fluido sobrenadante de las células control.

HUEVOS CONTROL

Agentes hemaglutinantes

Examinar 0,25 ml del fluido alantoideos de cada huevo para agentes hemaglutinantes por mezcla directa con glóbulos rojos de pollo y después de un pasaje en huevos LPE, realizado por inoculación de una muestra de 5 ml de la mezcla de fluidos alantoideos de los huevos en volúmenes de 0,5ml dentro de la cavidad alantoidea y dentro de la cavidad amniótica de los huevos SPF. Los huevos control cumplen con el ensayo si no se encuentra evidencia de la presencia de agentes hemaglutinantes en ninguno de los ensayos.

Virus de la leucosis aviar

Utilizar una muestra de 10 ml de la mezcla de fluidos amnióticos de los huevos control. Realizar una amplificación mediante cinco pasajes en cultivos celulares de embriones de pollo libres de leucosis. Realizar el ensayo para leucosis aviar utilizando células del quinto pasaje. Los huevos control cumplen con el ensayo si no se encuentra evidencia de la presencia de virus de la leucosis aviar.

Otros agentes extraños

Inocular 5 ml de muestra de las mezclas de fluidos amnióticos de los huevos control en cultivos celulares humanos y de simios. Observar los cultivos celulares durante 14 días. Los huevos control cumplen con el ensayo si no se encuentra evidencia de agentes extraños. El ensayo sólo es válido si por lo menos el 80 % de los cultivos inoculados sobreviven durante 7 días.

420. ENVASES PRIMARIOS DE PLÁSTICO

En este capítulo se describen los ensayos que deben cumplir los envases plásticos de uso farmacéutico, incluyendo los envases destinados a sangre y hemoderivados, así como también las materias primas con las cuales se fabrican.

Los polímeros generalmente empleados para la fabricación de envases son el polietileno (de baja y alta densidad), el polipropileno, el poli(cloruro de vinilo), el terftalato de polietileno y copolímeros de etileno y acetato de vinilo.

La naturaleza y la cantidad de los aditivos está determinada por el tipo de polímero, el proceso empleado para la construcción del envase y el uso para el cual el mismo está destinado. Los aditivos pueden ser antioxidantes, estabilizantes, plastificantes, lubricantes, colorantes, modificadores de impacto, etc. Los agentes antiestáticos y desmoldantes pueden emplearse únicamente en aquellos envases que serán destinados a preparaciones de uso oral o externo. Para cada tipo de material descrito en este capítulo se indican los aditivos aceptados.

El envase plástico elegido para cualquier preparación debe ser tal que, los componentes del producto, que están en contacto con el material plástico no sean significativamente adsorbidos sobre su superficie y no se produzcan migraciones desde las paredes del envase. De la misma manera, el material del envase no debe ceder cantidades apreciables de ninguna sustancia que pueda afectar la estabilidad de la preparación o presentar un riesgo de toxicidad. A fin de confirmar la compatibilidad del envase con el contenido y para asegurar que no se

produzcan cambios perjudiciales en cuanto a la calidad de la preparación, se describen diversos ensayos tales como la comprobación de la ausencia de cambios en las características físicas; la evaluación de cualquier pérdida o ganancia de materia debido a la permeabilidad del envase; la detección de cambios de pH; la evaluación de cambios ocasionados por la luz; ensayos químicos y, si así se requiere, ensayos biológicos.

MATERIALES EMPLEADOS PARA FABRICACIÓN DE ENVASES PLÁSTICOS

Los materiales que se describen a continuación se emplean para la fabricación de envases para uso farmacéutico.

Poli(cloruro de vinilo) plastificado para envases destinados a sangre humana y hemoderivados y para envases destinados a soluciones acuosas para perfusión intravenosa

Los materiales a base de poli(cloruro de vinilo) plastificado contienen diversos aditivos, además del polímero de alto peso molecular obtenido por polimerización de cloruro de vinilo.

Los materiales a base de poli(cloruro de vinilo) plastificado para envases destinados a contener sangre humana y hemoderivados y envases para soluciones acuosas para perfusión intravenosa se definen por la naturaleza y las proporciones de las sustancias empleadas en su fabricación.

Contienen no menos de 55 % de poli(cloruro de vinilo) y pueden contener los siguientes aditivos:

LÍMITES DE ADITIVOS

ADITIVOS	LÍMITES (%)
ftalato de bis(2-etilhexilo)	40
octanoato de cinc (2-etilhexanoato de cinc)	1
estearato de calcio o estearato de cinc o una mezcla de ambos	1
<i>N,N'</i> -diaciletilendiaminas (acil significa en particular palmitil y estearil)	1
no más de uno de los siguientes aceites epoxidados o una mezcla de ambos:	10
<ul style="list-style-type: none"> • aceite de soja epoxidado en el cual el contenido de oxígeno oxiránico es 6 a 8 % y el índice de yodo no es mayor a 6. • Aceite de semilla de lino epoxidado en el cual el contenido de oxígeno oxiránico no es mayor de 10 % y el índice de yodo no es mayor de 7 	

Ningún aditivo antioxidante debe agregarse al polímero. Cuando se agregan colorantes, sólo se puede agregar azul ultramarino. No se debe agregar

ningún colorante al poli(cloruro de vinilo) destinado a la fabricación de envases para sangre y hemoderivados.

CARACTERÍSTICAS

Polvo, perlas, gránulos o láminas translúcidas de espesor variable, incoloras o de color amarillo pálido.

IDENTIFICACIÓN - [NOTA: si es necesario, cortar el material a ensayar en trozos de tamaño apropiado.]

A 2,0 g del material a ensayar agregar 200 ml de éter libre de peróxidos y calentar a reflujo durante 8 horas. Separar el residuo (*B*) y la solución (*Solución A*) por filtración.

Evaporar la *Solución A* a sequedad bajo presión reducida en un baño de agua a 30 °C. Disolver el residuo en 10 ml de tolueno (*Solución A₁*). Disolver el residuo *B* en 60 ml de dicloruro de etileno, calentando en un baño de agua a reflujo y filtrar. Agregar la solución gota a gota y con agitación enérgica a 600 ml de heptano calentando a una temperatura menor a la temperatura de ebullición. Filtrar la mezcla en caliente a través de un filtro caliente para separar el material insolubilizado (*B₁*) de la solución orgánica. Dejar enfriar, separar el precipitado (*B₂*) formado y filtrar a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media, previamente pesado.

A - Absorción infrarroja <460>. Disolver el material insolubilizado *B₁* en 30 ml de tetrahidrofurano y agregar, en pequeñas porciones con agitación, 40 ml de etanol. Separar el precipitado (*B₃*) por filtración y secar al vacío a una temperatura no mayor de 50 °C sobre pentóxido de fósforo o cloruro de calcio anhidro. Disolver unos pocos mg del precipitado *B₃* en 1 ml de tetrahidrofurano. Colocar algunas gotas de la solución obtenida sobre una placa de cloruro de sodio y evaporar a sequedad entre 100 y 105 °C. Registrar el espectro de absorción infrarroja y comparar con el espectro obtenido con poli(cloruro de vinilo) SR-FA.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno.

Solución estándar - Disolver 0,8 g de ftalato de bis(2-etilhexilo) SR-FA en tolueno y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución muestra - *Solución A₁*.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de cada solución. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartos de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejarla secar. Examinar bajo luz ultravioleta a

254 nm. El valor de R_f e intensidad de la mancha obtenida a partir de la *Solución muestra* debe ser similar a la obtenida a partir de la *Solución estándar*.

C - Absorción infrarroja <460> - Examinar el residuo obtenido en el ensayo para *Ftalato de bis(2-etilhexilo)* comparando con el espectro obtenido con Ftalato de bis(2-etilhexil) SR-FA.

ENSAYOS -

Solución indicadora - Disolver en alcohol 100 mg de azul de bromotimol, 20 mg de rojo de metilo y 200 mg de fenolftaleína. Diluir a 100 ml con el mismo solvente y filtrar.

Solución S₁ - Transferir 5,0 g del material a ensayar a una cápsula. Agregar 30 ml de ácido sulfúrico y calentar hasta obtener una masa viscosa negra. Enfriar y agregar con precaución 10 ml de solución de peróxido de hidrógeno al 30 % y calentar suavemente. Dejar enfriar y agregar 1 ml de solución de peróxido de hidrógeno al 30 %, repetir el agregado y evaporación de la solución de peróxido de hidrógeno al 30 % hasta obtener un líquido incoloro. Reducir el volumen hasta 10 ml. Enfriar y diluir a 50,0 ml con agua.

Solución S₂ - Transferir 25 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato. Agregar 500 ml de *Agua para Inyectables* y cubrir la boca del erlenmeyer con un vaso de precipitados de vidrio al borosilicato. Calentar en autoclave a 121 ± 2 °C durante 20 minutos. Dejar enfriar y decantar la solución. Diluir la solución a 500 ml.

Aspecto de la solución S₂ - Debe ser transparente e incolora.

Acidez o alcalinidad - A 100 ml de *Solución S₂*, agregar 0,15 ml de *Solución indicadora*. No se deben requerir más de 1,5 ml de hidróxido de sodio 0,01 N para cambiar el color del indicador a azul. A 100 ml de *Solución S₂*, agregar 0,2 ml de naranja de metilo (SR). No se debe requerir más de 1,0 ml de ácido clorhídrico 0,01 N para iniciar el cambio de color del indicador de amarillo a anaranjado.

Absorbancia - Evaporar 100 ml de *Solución S₂* a sequedad. Disolver el residuo en 5 ml de hexano. Entre 250 y 310 nm la absorbancia no debe ser mayor de 0,25.

Sustancias reductoras - Efectuar el ensayo dentro de las 4 horas de preparada la *Solución S₂*. A 20,0 ml de *Solución S₂* agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido y 20,0 ml de permanganato de potasio 0,002 M. Calentar a reflujo durante 3 minutos y enfriar inmediatamente. Agregar 1 g de ioduro de potasio y titular inmediatamente con tiosulfato de sodio 0,01 N, empleando 0,25 ml de almidón (SR)

como indicador. Realizar una determinación con un blanco empleando 20 ml de *Agua para Inyectables* y hacer las correcciones necesarias. La diferencia entre los volúmenes consumidos no debe ser mayor de 2,0 ml.

Aminas aromáticas primarias –

Solución muestra - A 2,5 ml de *Solución A₁* obtenida en la *Identificación*, agregar 6 ml de agua y 4 ml de ácido clorhídrico 0,1 M. Agitar vigorosamente y descartar la fase orgánica. A la fase acuosa agregar 0,4 ml de una solución de nitrito de sodio al 1 % recientemente preparada. Mezclar y dejar en reposo durante 1 minuto. Agregar 0,8 ml de una solución de sulfamato de amonio al 2,5 %, dejar en reposo durante 1 minuto y agregar 2 ml de una solución de diclorhidrato de *N*-(1-Naftil)etilendiamina al 0,5 %. [NOTA: realizar el ensayo a bajas temperaturas.]

Solución estándar - Proceder según se indica para la *Solución muestra*, reemplazando la fase acuosa por una mezcla de 1 ml de una solución de naftilamina 0,001 % en ácido clorhídrico 0,1 M, 5 ml de agua y 4 ml de ácido clorhídrico 0,1 M (20 ppm).

Después de 30 minutos, el color de la *Solución muestra* no debe ser más intenso que el de la *Solución estándar* preparada al mismo tiempo.

***N,N'*-diaciletilendiaminas** - Lavar con etanol el precipitado *B₂* obtenido en la *Identificación* y contenido en el filtro de vidrio sinterizado previamente pesado. Secar hasta peso constante sobre pentóxido de fósforo y pesar el filtro. El precipitado no debe pesar más de 20 mg.

Aceites epoxidados –

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía de 1 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa, en forma de banda de 30 mm por 3 mm, 0,5 ml de *Solución A₁* obtenida en la *Identificación*. Dejar secar la aplicación y desarrollar el cromatograma hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartos de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente. Secar la placa cuidadosamente. Exponer la placa a vapores de yodo durante 5 minutos. Examinar el cromatograma y localizar la banda con un *R_f* de 0 y, si estuviera presente, la banda secundaria con un *R_f* de aproximadamente 0,7, ambas correspondientes a aceites epoxidados. Remover el área del gel de sílice que corresponde a la banda o bandas. En forma similar remover un área de gel de sílice para preparar un blanco. Separadamente

agitar ambas muestras durante 15 minutos con 40 ml de metanol. Filtrar y evaporar a sequedad. Pesar los dos residuos. La diferencia entre los pesos no debe ser mayor de 10 mg.

Ftalato de bis(2-etilhexilo) - Examinar el cromatograma obtenido en el ensayo para *Aceites epoxidados* bajo luz ultravioleta a 254 nm y localizar la zona que corresponde a ftalato de bis(2-etilhexilo). Remover el área del gel de sílice que corresponde a esta zona y agitarla con 40 ml de éter. Filtrar sin pérdidas y evaporar a sequedad. El residuo obtenido no debe pesar más de 40 mg.

Cloruro de vinilo -

Sistema cromatográfico (ver 100. *Cromatografía*) - Emplear un cromatógrafo de gases equipado con un detector de ionización a la llama, y una columna de 3 m x 3 mm rellena con tierra de diatomea silanizada para cromatografía impregnada con 5 % p/p de dimetil estearilamida y 5 % p/p de polietilenglicol 400. Mantener la columna, el inyector y el detector a aproximadamente 45, 100 y 150 °C, respectivamente. Se emplea nitrógeno como gas transportador con un caudal de aproximadamente 30 ml por minuto.

Solución del estándar interno - Empleando una microjeringa, transferir 10 µl de éter en 20,0 ml de *N,N*-Dimetilacetamida, sumergiendo la punta de la aguja en el solvente. Inmediatamente antes de usar, diluir la solución 1 en 1.000 con *N,N*-Dimetilacetamida.

Solución madre del estándar de cloruro de vinilo - Preparar bajo una campana extractora. Transferir 50,0 ml de *N,N*-Dimetilacetamida a un recipiente de 50 ml, tapar el recipiente y pesar a la décima de mg. Llenar una jeringa de 50 ml de polietileno o polipropileno con cloruro de vinilo gaseoso, dejar que el gas este en contacto con la jeringa aproximadamente 3 minutos, vaciar la jeringa y llenar nuevamente con 50 ml de cloruro de vinilo gaseoso. Adaptar una aguja hipodérmica a la jeringa y reducir el volumen de gas en la jeringa hasta 25 ml. Inyectar estos 25 ml de cloruro de vinilo lentamente en el recipiente y agitarlo suavemente evitando el contacto entre el líquido y la aguja. Pesar el recipiente nuevamente, el aumento de peso es de aproximadamente 60 mg (1 µl de la solución así obtenida contiene aproximadamente 1,2 µg de cloruro de vinilo).

Solución estándar de cloruro de vinilo - A 1 volumen de *Solución madre del estándar de cloruro de vinilo* agregar 3 volúmenes de *N,N*-Dimetilacetamida.

Soluciones estándar - Transferir 10,0 ml de *Solución del estándar interno* a cada uno de seis recipientes de 50 ml. Cerrar los recipientes. Inyectar 1;

2; 3; 5 y 10 µl, respectivamente, de *Solución estándar de cloruro de vinilo* en cinco de los recipientes. Las seis soluciones así obtenidas contienen respectivamente, 0 µg; aproximadamente 0,3; 0,6; 0,9; 1,5 y 3 µg de cloruro de vinilo. Agitar, evitando el contacto entre el tapón y el líquido. Colocar los recipientes en un baño de agua a 60 ± 1 °C durante 2 horas.

Solución muestra - Transferir 1,0 g del material a ensayar a un recipiente de 50 ml y agregar 10,0 ml de *Solución del estándar interno*. Cerrar el recipiente. Agitar, evitando el contacto entre el tapón y el líquido. Colocar el recipiente en un baño de agua a 60 ± 1 °C durante 2 horas.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo 1 ml del espacio libre superior de cada recipiente, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el contenido de cloruro de vinilo. No debe estar presente más de 1 ppm de cloruro de vinilo.

Fósforo total -

Solución estándar - Mezclar 0,5 ml de una solución de fosfato monobásico de potasio que contiene 0,219 g por litro, 10 ml de agua y 25 ml de molibdovanádico (SR) y diluir a 50,0 ml con agua (100 ppm).

Solución muestra - Calcinar 0,25 g del material a ensayar en un crisol de platino con 0,2 g de carbonato de sodio anhidro y 50 mg de nitrato de potasio. Después de enfriar tomar el residuo con agua, y transferir a un matraz aforado de 50 ml. Lavar el crisol con agua, agregar los lavados al matraz, acidificar con ácido sulfúrico al 60 % p/p hasta que cese la efervescencia. Agregar 25 ml de molibdovanádico (SR) y diluir a 50,0 ml con agua.

El ensayo es válido si la coloración amarilla producida en la *Solución muestra* no es más intensa que la de la *Solución estándar*.

Bario -

Solución estándar - Mezclar 1,2 ml de una solución, preparada disolviendo 0,178 g de cloruro de bario dihidratado en 100,0 ml, diluida 1 en 20 (50 ppm de Ba); 0,8 ml de agua y 3 ml de solución de sulfato de calcio, preparada agitando 5 g de sulfato de calcio con 100 ml de agua durante 1 hora, y filtrar.

Solución muestra - Calcinar 2,0 g del material a ensayar en un crisol de sílice. Mezclar el residuo con 10 ml de ácido clorhídrico y evaporar a sequedad en un baño de agua. Tomar este residuo con dos porciones de 1 ml de agua. Filtrar y agregar 3 ml de solución de sulfato de calcio preparada agitando 5 g de sulfato de calcio con 100 ml de agua durante 1 hora y filtrar.

El ensayo es válido si la opalescencia de la *Solución muestra* no es más intensa que la de la *Solución estándar*.

Cadmio - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución madre del estándar - Disolver 0,100 g de cadmio en el menor volumen posible de una mezcla de ácido clorhídrico y agua (50:50). Diluir a 100,0 ml con ácido clorhídrico al 1 % v/v para obtener una solución de concentración conocida de 0,1 % de Cd.

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar empleando la *Solución madre del estándar* diluida con ácido clorhídrico al 1 % v/v.

Solución muestra - Evaporar 10 ml de la *Solución S₁* a sequedad. Tomar el residuo con 5 ml de ácido clorhídrico al 1 % v/v, filtrar y diluir el filtrado a 10,0 ml con el mismo ácido.

Procedimiento - Medir la absorbancia a 228,8 nm empleando una lámpara de cadmio de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama de aire-acetileno. No debe estar presente más de 0,6 ppm de Cd.

Calcio - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución madre del estándar - Inmediatamente antes de usar, diluir 1 en 10 con agua una solución preparada con 1,000 g de carbonato de calcio y 23 ml de ácido clorhídrico 1 M y diluida a 100,0 ml con agua (400 ppm de Ca).

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar empleando la *Solución madre del estándar*, diluida con agua.

Solución muestra - Calcinar 2,0 g del material a ensayar en un crisol de sílice. Mezclar el residuo con 10 ml de ácido clorhídrico y evaporar a sequedad en un baño de agua. Tomar este residuo con 5 ml de agua, filtrar y diluir a 25,0 ml con el mismo solvente.

Procedimiento - Medir la absorbancia a 422,7 nm empleando una lámpara de calcio de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama de aire-acetileno. No debe estar presente más de 0,07 % de Ca.

Metales pesados -

Solución reguladora de acetato pH 3,5 - Disolver 25,0 g de acetato de amonio en 25,0 ml de agua y agregar 38,0 ml de ácido clorhídrico al 25 %. Ajustar a pH 3,5 si fuera necesario, con ácido clorhídrico 2 M o con amoníaco diluido y diluir a 100 ml con agua.

Solución estándar - Proceder según se indica para la *Solución muestra* empleando una mezcla de 10 ml de *Solución estándar de plomo* diluida 1:5

(ver 590. *Límite de metales pesados*) y 2 ml de la *Solución muestra*.

Solución muestra - A 10 ml de *Solución S₁* agregar 0,5 ml de fenolftaleína (SR) y luego solución concentrada de hidróxido de sodio al 42 % hasta obtener un color rosa pálido. Diluir a 25 ml con agua. A 12 ml de la solución así obtenida agregar 2 ml de *Solución reguladora de acetato pH 3,5* y mezclar. A continuación agregar 1,2 ml de tioacetamida-glicerina básica (SR) y mezclar inmediatamente.

Solución blanco - Proceder según se indica para la *Solución muestra* empleando una mezcla de 10 ml de agua y 2 ml de la *Solución muestra*.

Después de 2 minutos, la coloración parda de la *Solución muestra* no debe ser más intensa que la de la *Solución estándar*.

Estaño –

Solución muestra - A 10 ml de *Solución S₁* agregar 0,3 ml de ácido tioglicólico y 30 ml de agua. Mezclar y agregar 2 ml de una solución de lauril sulfato de sodio al 1 % y 1 ml de una solución de ditiol, recientemente preparada, que contiene 5 g/l en etanol y diluir a 50 ml con agua.

Solución madre del estándar - Disolver 0,500 g de estaño en una mezcla de 5 ml de agua y 25 ml de ácido clorhídrico, y diluir a 1 litro. Inmediatamente antes de usar transferir 1 ml de esta solución a una matraz aforado de 100 ml y diluir a volumen con ácido clorhídrico al 2,5 %v/v (5 ppm de Sn).

Solución estándar - Proceder según se indica para la *Solución muestra*, empleando 10 ml de ácido sulfúrico al 20 % v/v y 6 ml de *Solución madre del estándar*.

Después de 15 minutos, el color de la *Solución muestra* no debe ser más intenso que el de la *Solución estándar*.

Cinc - [NOTA: preparar un blanco empleando 10 ml de agua. El ensayo no es válido a menos que la fase inferior obtenida con el blanco sea de color verde.]

Solución reguladora de acetato de pH 4,4 - Disolver 136 g de acetato de sodio y 77 g de acetato de amonio en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Agregar 250,0 ml de ácido acético glacial y mezclar.

Solución muestra - Diluir 1 ml de *Solución S₁* a 100 ml con agua. A 10 ml de la solución resultante agregar 5 ml de *Solución reguladora de acetato de pH 4,4*; 1 ml de tiosulfato de sodio 0,1 M y 5,0 ml de una solución de ditizona en cloroformo que contiene 0,01 g/l y agitar.

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad de sulfato de cinc, equivalente a 0,440 g de ZnSO₄ · 7H₂O, en agua. Agregar 1 ml de ácido

acético y diluir a 100 ml con agua. Diluir 1 ml de esta solución a 10 ml con agua. Antes de usar diluir 1 ml de esta solución a 10 ml con agua (10 ppm de Zn).

Solución estándar - Proceder según se indica para la *Solución muestra*, empleando una mezcla de 2 ml de una *Solución madre del estándar* y 8 ml de agua (0,2 %).

Después de 2 minutos, el color violeta de la fase inferior de la *Solución muestra* no debe ser más intenso que el de la fase inferior de la *Solución estándar*.

Residuo de evaporación - Evaporar a sequedad 50 ml de *Solución S₂* en un baño de agua y secar entre 100 y 150 °C. El residuo no debe pesar más de 7,5 mg (0,3 %).

VALORACIÓN

Llevar a cabo el método de combustión (ver 60. *Combustión en erlenmeyer con oxígeno*), empleando 50,0 mg del material a ensayar. Absorber los productos de combustión en 20 ml de hidróxido de sodio 1 N. A la solución obtenida agregar 2,5 ml de ácido nítrico, 10,0 ml de nitrato de plata 0,1 N, 5 ml de sulfato férrico amónico (SR) y 1 ml de ftalato de dibutilo. Titular con tiocianato de amonio 0,05 N hasta obtener un color amarillo-rojizo. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 6,25 mg de poli(cloruro de vinilo).

Poliolefinas

Las poliolefinas se obtienen por polimerización de etileno o propileno o por copolimerización de estas sustancias con no más de 25 % de homólogos mayores (C₄ a C₁₀) o de ácidos carboxílicos o ésteres. Ciertos materiales pueden ser mezclas de poliolefinas.

Pueden contener hasta tres antioxidantes, uno o varios lubricantes o antibloqueantes. Cuando el material debe proveer protección de la luz se le agregan agentes opacantes como el dióxido de titanio.

Este texto es aplicable a todas las poliolefinas empleadas para propósitos médico-farmacéuticos con la excepción de los otros materiales poliolefinicos descritos en este capítulo.

CARACTERÍSTICAS

Polvo, perlas, gránulos o, después de su transformación, láminas de espesor variable o envases. Prácticamente insolubles en agua, etanol, hexano y metanol; solubles en hidrocarburos aromáticos calientes. Se ablandan a temperaturas entre 65 y 165 °C. Se queman con una llama azul.

IDENTIFICACIÓN

A - Absorción infrarroja <460>. A 0,25 g del material a ensayar agregar 10 ml de tolueno y calentar a reflujo durante 15 minutos. Colocar algunas gotas de la solución obtenida sobre una placa de cloruro de sodio y evaporar el solvente en una estufa a 80 °C. El espectro del material presenta máximos de absorción a 2.920; 2.850; 1.475; 1.465; 1.380; 1.170; 735 y 720 cm^{-1} , el espectro obtenido debe ser idéntico al espectro obtenido con el material seleccionado como referencia. [NOTA: si el material a ensayar se presenta en forma de láminas, el espectro puede determinarse directamente sobre un trozo de tamaño apropiado.]

B - Debe cumplir con los *Ensayos suplementarios* para los aditivos presentes.

C - En un crisol de platino, mezclar aproximadamente 20 mg del material a ensayar con 1 g de sulfato ácido de potasio y calentar hasta fundir completamente. Dejar enfriar y agregar 20 ml de ácido sulfúrico diluido. Calentar suavemente y filtrar la solución resultante. Al filtrado agregar 1 ml de ácido fosfórico y 1 ml de solución de peróxido de hidrógeno al 30 %. Si la sustancia contiene dióxido de titanio como opacante, se desarrolla un color anaranjado-amarillento.

ENSAYOS - [NOTA: si es necesario, cortar las muestras del material a ensayar en trozos de tamaño apropiado.]

Solución S₁ - Transferir 25 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 500 ml de *Agua para Inyectables* y calentar a reflujo durante 5 horas. Dejar enfriar y decantar. Reservar una porción de la solución para el ensayo de *Aspecto de la solución S₁* y filtrar el resto a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media. Emplear la *Solución S₁* dentro de las 4 horas de su preparación.

Solución S₂ - Transferir 2,0 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 80 ml de tolueno y calentar a reflujo con agitación constante durante 90 minutos. Enfriar a 60 °C y agregar, con agitación constante, 120 ml de metanol. Filtrar la solución a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media. Lavar el erlenmeyer y el filtro con 25 ml de una mezcla de 40 ml de tolueno y 60 ml de metanol, agregar el lavado al filtrado y diluir a 250 ml con la misma mezcla. Preparar un blanco.

Solución S₃ - Transferir 100 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 250 ml de ácido clorhídrico 0,1 M y calentar a reflujo con agitación constante durante 1 hora. Dejar enfriar y decantar la solución.

Solución indicadora - Disolver en alcohol 0,1 g de azul de bromotimol, 20 mg de rojo de metilo y 0,2 g de fenoltaleína. Diluir a 100 ml con el mismo solvente y filtrar.

Aspecto de la solución S₁ - La *Solución S₁* debe ser transparente e incolora.

Acidez o alcalinidad - A 100 ml de la *Solución S₁* agregar 0,15 ml de *Solución indicadora*. No se deben requerir más de 1,5 ml de hidróxido de sodio 0,01 N para cambiar el color del indicador a azul. A 100 ml de *Solución S₁* agregar 0,2 ml de naranja de metilo (SR). No se debe requerir más de 1 ml de ácido clorhídrico 0,01 N para iniciar el cambio de color del indicador de amarillo a anaranjado.

Absorbancia - Entre 220 y 340 nm, la absorbancia de la *Solución S₁* no debe ser mayor de 0,2.

Sustancias reductoras - A 20 ml de la *Solución S₁* agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido y 20 ml de permanganato de potasio 0,002 M. Calentar a reflujo durante 3 minutos y enfriar inmediatamente. Agregar 1 g de ioduro de potasio y titular inmediatamente con tiosulfato de sodio 0,01 N, empleando 0,25 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. La diferencia entre los volúmenes no debe ser mayor de 3,0 ml.

Metales pesados extraíbles -

Solución reguladora de acetato pH 3,5 - Disolver 25,0 g de acetato de amonio en 25,0 ml de agua y agregar 38,0 ml de ácido clorhídrico al 25 %. Ajustar a pH 3,5 si fuera necesario, con ácido clorhídrico 2 M o con amoníaco diluido y diluir a 100 ml con agua.

Solución muestra - Concentrar 50 ml de *Solución S₃* hasta aproximadamente 5 ml en baño de agua y diluir a 20 ml con agua. A 12 ml de la solución así obtenida agregar 2 ml de *Solución reguladora de acetato pH 3,5* y mezclar. A continuación agregar 1,2 ml de tioacetamida-glicerina básica (SR) y mezclar inmediatamente.

Solución estándar - Proceder según se indica para la *Solución muestra* empleando una mezcla de 2,5 ml de *Solución estándar de plomo* (ver 590. *Límite de metales pesados*) y 2 ml de la *Solución muestra*.

Solución blanco - Proceder según se indica para la *Solución muestra* empleando una mezcla de 10 ml de agua y 2 ml de la *Solución muestra*.

Después de 2 minutos, la coloración parda de la *Solución muestra* no debe ser más intensa que la de la *Solución estándar*. No deben encontrarse más de 2,5 ppm.

Residuo de ignición <270> - No más de 1,0 %, determinado sobre 5,0 g. Este límite no se aplica a los materiales que contienen dióxido de titanio como opacante.

ENSAYOS SUPLEMENTARIOS - [NOTA: estos ensayos se realizan totalmente o en parte sólo si son requeridos de acuerdo a la composición o el uso del material.]

Antioxidantes fenólicos -

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 25 cm × 4,6mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice porosa de 5 µm de diámetro.

Fase móvil - Se puede emplear una de las cuatro mezclas siguientes:

Fase móvil 1 - Acetonitrilo y agua (70:30) con un caudal de aproximadamente 2 ml por minuto.

Fase móvil 2 - Acetonitrilo, tetrahydrofurano y agua (60:30:10) con un caudal de aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil 3 - Metanol, 2-propanol y agua (50:45:5) con un caudal de aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil 4 - Acetonitrilo y tetrahydrofurano (80:20) con un caudal de aproximadamente 1,5 ml por minuto.

[NOTA: de las siguientes *Soluciones estándar*, preparar únicamente las necesarias para el ensayo de los antioxidantes fenólicos declarados en la composición del material a ensayar.]

Solución estándar A - Disolver 25 mg de butilhidroxitolueno y 60 mg de 3,3-bis(3-*ter*-butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno en 10 ml de una mezcla acetonitrilo y tetrahydrofurano (50:50). Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 60 mg de tetrakis [3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)-propionato] de pentaeritritilo y 60 mg de 2,2',2'',6,6',6''-hexa-*ter*-butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-benceno-triil)trismetileno]trifenol en 10 ml de una mezcla de acetonitrilo y tetrahydrofurano (50:50). Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar C - Disolver 60 mg de 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo y 60 mg de fosfito tris(2,4-di-*ter*-butilfenilo) en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar D - Disolver 25 mg de butilhidroxitolueno en 10 ml de una mezcla de acetoni-

trilo y tetrahydrofurano (50:50). Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar E - Disolver 60 mg de 3,3-bis(3-*ter*-butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno en 10 ml de una mezcla de acetonitrilo y tetrahydrofurano (50:50). Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar F - Disolver 60 mg de 1,3,5-tris[3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxibencil]-s-triazina-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona en 10 ml de una mezcla de acetonitrilo y tetrahydrofurano (50:50). Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar G - Disolver 60 mg de tetrakis [3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)pro-pionato] de pentaeritritilo en 10 ml de una mezcla de acetonitrilo y tetrahydrofurano (50:50). Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar H - Disolver 60 mg de 2,2',2'',6,6',6''-hexa-*ter*-butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-benceno-triil)trismetileno]trifenol en 10 ml de una mezcla de acetonitrilo y tetrahydrofurano (50:50). Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar I - Disolver 60 mg de 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar J - Disolver 60 mg de fosfito de tris (2,4-di-*ter*-butilfenilo) en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar K - Disolver 20 mg de P-EPQ en 10 ml de una mezcla de volúmenes iguales de acetonitrilo y una solución de hidroperóxido de terbutilo en tetrahydrofurano con una concentración de 10 g/l. Dejar reposar en un recipiente cerrado durante 1 hora. Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con una mezcla de acetonitrilo y tetrahydrofurano (50:50).

Solución muestra S₂₁ - Evaporar 50 ml de la *Solución S₂* a sequedad al vacío a 45 °C. Disolver el residuo en 5 ml de acetonitrilo y tetrahydrofurano (50:50). Preparar una solución blanco a partir del blanco correspondiente a la *Solución S₂*.

Solución muestra S₂₂ - Evaporar 50 ml de la *Solución S₂* a sequedad al vacío a 45 °C. Disolver el residuo con 5 ml de cloruro de metileno. Preparar una solución blanco a partir de la solución blanco que corresponde a la *Solución S₂*.

Solución muestra S₂₃ - Evaporar 50 ml de la *Solución S₂* a sequedad al vacío a 45 °C. Disolver el residuo con 5 ml de una mezcla de volúmenes iguales de acetonitrilo y una solución de hidroperóxido de terbutilo en tetrahydrofurano con una concentración de 10 g/l. Cerrar el matraz y dejar reposar durante 1 hora. Preparar una solución blanco a

partir de la solución blanco que corresponde a la Solución S_2 .

Aptitud del sistema - (ver 100. *Cromatografía*)

- Cromatografiar la Solución estándar A, empleando Fase móvil 1, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución, R , entre los picos de butilhidroxitolueno y 3,3-bis(3-*ter*-butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno no debe ser menor de 8. Cromatografiar la Solución estándar B, empleando Fase móvil 2, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución R entre los picos de tetrakis [3-(3,5-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato] de pentaeritritilo y 2,2',2'',6,6',6''-hexa-*ter*-butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil)tris-metileno]trifenol no debe ser menor de 2. Cromatografiar la Solución estándar C, empleando Fase móvil 3, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución R entre los picos de 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo y fosfito de tris(2,4-di-*ter*-butilfenilo) no debe ser menor de 2. Cromatografiar la Solución estándar E, empleando Fase móvil 4, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución R entre los picos principales (con tiempos de retención de aproximadamente 3,5 y 5,8) no debe ser menor de 6.

Procedimiento -

Emplear Fase móvil 1 si el material a ensayar contiene butilhidroxitolueno y/o 3,3-bis(3-*ter*-butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno. Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la Solución muestra S_{21} , el blanco correspondiente, la Solución estándar A, y las Soluciones estándar D o E o 20 μ l de las Soluciones estándar D y E.

Emplear Fase móvil 2 si el material a ensayar contiene uno o varios de los siguientes antioxidantes:

- 1,3,5-tris(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxibencil)-s-triazina-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona,
- tetrakis [3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato] de pentaeritritilo,
- 2,2',2'',6,6',6''-hexa-*ter*-butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil) trismetileno] trifenol,
- 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo,
- fosfito de tris(2,4-di-*ter*-butilfenilo),

Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la Solución muestra S_{21} , el blanco correspondiente, la Solución estándar B y cada una de las Soluciones

estándar de antioxidantes de la lista anterior que son declarados en la composición.

Emplear Fase móvil 3 si el material a ensayar contiene 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil) propionato de octadecilo y/o fosfito de tris(2,4-di-*ter*-butilfenilo). Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la Solución muestra S_{22} , el blanco correspondiente, la Solución estándar C, y la Solución estándar I o J o 20 μ l de las Soluciones estándar I y J.

Emplear Fase móvil 4 si la sustancia a ensayar contiene P-EPQ. Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la Solución muestra S_{23} , el blanco correspondiente y la Solución, estándar K.

En todos los casos registrar los cromatogramas durante 30 minutos. Los cromatogramas correspondientes a las Soluciones muestra S_{21} , S_{22} y S_{23} deben presentar únicamente picos debidos a los antioxidantes declarados en la composición y otros picos menores que también aparecen en los cromatogramas correspondientes a los blancos. Las respuestas de los picos de las Soluciones muestra S_{21} , S_{22} y S_{23} deben ser menores que las respuestas correspondientes a los picos obtenidos a partir de las Soluciones estándar D a K.

Antioxidantes no-fenólicos -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil 1 - Hexano.

Fase móvil 2 - Cloruro de metileno.

Solución estándar L - Disolver 60 mg de 2,2'-bis(octadeciloxi)-5,5'-espirobi [1,3,2-dioxafosforinano] en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 2 ml de esta solución a 10 ml con cloruro de metileno acidificado (SR).

Solución estándar M - Disolver 60 mg de disulfuro de dioctadecilo en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 2 ml de esta solución a 10 ml con cloruro de metileno acidificado (SR).

Solución estándar N - Disolver 60 mg de 3,3'-tiodipropionato de didodecilo en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 2 ml de esta solución a 10 ml con cloruro de metileno acidificado (SR).

Solución estándar O - Disolver 60 mg de 3,3'-tiodipropionato de dioctadecilo en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 2 ml de esta solución a 10 ml con cloruro de metileno acidificado (SR).

Solución estándar P - Disolver 60 mg de 3,3'-tiodipropionato de didodecilo y 60 mg de 3,3'-tiodipropionato de dioctadecilo en 10 ml de cloruro

de metileno. Diluir 2 ml de esta solución a 10 ml con cloruro de metileno acidificado (SR).

Solución muestra S₂₄ - Evaporar 100 ml de la *Solución S₂* a sequedad en vacío a 45 °C. Disolver el residuo en 2 ml de cloruro de metileno acidificado (SR).

Revelador - Preparar una solución de iodo al 1 % en etanol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 20 µl de la *Solución muestra S₂₄*, 20 µl de la *Solución estándar P* y 20 µl de cada una de las *Soluciones estándar* que corresponden a todos los antioxidantes fenólicos y no-fenólicos presentes en la composición del material a ensayar. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 18 cm empleando *Fase móvil 1*. Retirar la placa de la cámara y dejar secar. Desarrollar nuevamente los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 17 cm empleando *Fase móvil 2*. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*, dejar secar durante 10 a 15 minutos y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm. Cualquier mancha en el cromatograma de la *Solución muestra S₂₄* no debe ser más intensa que las manchas correspondientes obtenidas a partir de las *Soluciones estándar*. El ensayo no es válido a menos que el cromatograma de la *Solución estándar P* presente dos manchas claramente separadas.

Amidas y estearatos –

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil 1 - 2,2,4-Trimetilpentano y etanol (75:25).

Fase móvil 2 - Hexano.

Fase móvil 3 - Cloruro de metileno y metanol (95:5).

Solución estándar Q - Disolver 20 mg de ácido esteárico en 10 ml de cloruro de metileno.

Solución estándar R - Disolver 40 mg de oleamida en 20 ml de cloruro de metileno.

Solución estándar S - Disolver 40 mg de erucamida en 20 ml de cloruro de metileno.

Solución muestra - *Solución S₂₄* preparada en *Antioxidantes no fenólicos*.

Revelador 1 - Solución de 2,6-Dicloro-fenolindofenol sódico al 0,2 % en etanol.

Revelador 2 - Solución de ácido fosfomolibdico al 4 % en etanol.

Procedimiento - Aplicar sobre dos placas 10 µl de la *Solución S₂₄*. Aplicar sobre la primera placa 10 µl de la *Solución estándar Q* y aplicar sobre la segunda placa 10 µl de las *Soluciones estándar R* y *S*. Dejar secar las aplicaciones. Desarrollar la primera placa, hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm empleando *Fase móvil 1*. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejarla secar al aire. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 1*. Calentar en una estufa a 120 °C durante unos minutos para intensificar las manchas. Cualquier mancha que corresponda a ácido esteárico en el cromatograma de la *Solución muestra S₂₄* debe ser idéntica en posición (*R_f* aproximadamente de 0,5) pero no más intensa que la mancha obtenida a partir de la *Solución estándar Q*.

Desarrollar la segunda placa hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 13 cm empleando *Fase móvil 2*. Retirar la placa de la cámara y dejar secar al aire. Desarrollar nuevamente hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm empleando *Fase móvil 3*. Retirar la placa de la cámara y marcar el frente del solvente. Dejar secar la placa. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 2*. Calentar en una estufa a 120 °C hasta que aparezcan las manchas. Las manchas que corresponden a erucamida u oleamida en el cromatograma de la *Solución muestra S₂₄* deben ser idénticas en posición (*R_f* aproximadamente de 0,2) pero no más intensas que las manchas obtenidas a partir de las *Soluciones estándar R* y *S*.

Sustancias solubles en hexano - Transferir 10 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de 250 ml con boca esmerilada. Agregar 100 ml de hexano y calentar a reflujo durante 4 horas, agitando constantemente. Enfriar en un baño de hielo y filtrar rápidamente (el tiempo de filtración debe ser menor de 5 minutos, si es necesario la filtración puede ser acelerada aplicando presión sobre la solución) a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media manteniendo la solución a aproximadamente 0 °C. Evaporar 20 ml del filtrado en un cristizador previamente pesado en un baño de agua. Secar el residuo en una estufa entre 100 y 105 °C durante 1 hora. El peso del residuo obtenido debe ser igual al del residuo obtenido a partir del material de referencia, con una desviación máxima de ± 10 % y dicho peso no debe ser mayor de 5 %.

Aluminio extraíble - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción, y emisión atómica*).

Solución madre del estándar - Disolver en agua una cantidad de sulfato de potasio y aluminio, equivalente a 352 mg de $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$. Agregar

10 ml de ácido sulfúrico diluido y diluir a 100 ml con agua (200 ppm de Al).

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar empleando la *Solución madre del estándar* diluida con ácido clorhídrico 0,1 M.

Solución muestra - Evaporar a sequedad 100 ml de *Solución S₃* en un baño de agua. Disolver el residuo en 2 ml de ácido clorhídrico y diluir a 10 ml con ácido clorhídrico 0,1 M.

Procedimiento - Medir la absorbancia a 309,3 nm empleando una lámpara de aluminio de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama de óxido nitroso-acetileno. No debe contener más de 1 ppm de Al extraíble.

Titanio extraíble - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución muestra - Evaporar a sequedad 100 ml de *Solución S₃* en un baño de agua. Disolver el residuo en 2 ml de ácido clorhídrico y diluir a 10,0 ml con ácido clorhídrico 0,1 M.

Solución madre del estándar - Disolver 100,0 mg de titanio en 100 ml de ácido clorhídrico diluido hasta 150 ml con agua, calentando si fuera necesario. Dejar enfriar y diluir a 1 litro con agua (100 ppm de Ti).

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar empleando la *Solución madre del estándar* diluida con ácido clorhídrico 0,1 M.

Procedimiento - Medir la absorbancia a 364,3 nm empleando una lámpara de titanio de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama de óxido nitroso-acetileno. No debe contener más de 1 ppm de Ti extraíble.

Cinc extraíble - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad de sulfato de cinc, equivalente a 440 mg de ZnSO₄ · 7H₂O, en agua. Agregar 1 ml de ácido acético y diluir a 100 ml con agua. Diluir 1 ml de esta solución a 10 ml con agua. Antes de usar, diluir 1 ml de esta solución a 10 ml con agua (10 ppm de Zn).

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar empleando una *Solución madre del estándar* diluida con ácido clorhídrico 0,1 M.

Solución muestra - *Solución S₃*.

Procedimiento - Medir la absorbancia a 213,9 nm empleando una lámpara de cinc de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama de acetileno-aire. No debe contener más de 1 ppm de Zn extraíble.

LÍMITES DE ADITIVOS

ADITIVOS	LÍMITES (%)
<i>Aditivos antioxidantes</i> -	
butilhidroxitolueno	0,125
tetrakis [3-(3,5-di- <i>ter</i> -butil-4 hidroxifenil)propionato] de pentaeritritilo	0,3
1,3,5-tris(3,5-di- <i>ter</i> -butil-4-hidroxibencil)-s-triazina-2,4,6-(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> ,5 <i>H</i>)triona	0,3
3-(3,5-di- <i>ter</i> -butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo	0,3
3,3-bis(3- <i>ter</i> - butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno	0,3
disulfuro de dioctadecilo	0,3
2,2',2'',6,6',6''-hexa- <i>ter</i> -butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil)trismetileno]trifenol	0,3
2,2'-bis(octadeciloxi)-5,5'-espirobi(1,3,2-dioxafosforinano)	0,3
3,3'-tiodopropionato de didodecilo	0,3
3,3'- tiodipropionato de dioctadecilo	0,3
fosfito de tris(2,4-di- <i>ter</i> -butilfenilo)	0,3
P-EPQ	0,1
copolímero de succinato de dimetilo y (4-hidroxi-2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-il)etanol	0,3
El total de de aditivos antioxidante enumerados anteriormente	0,3
<i>Otros aditivos</i> -	
hidrocalcita	0,5
alcanoamidas	0,5

LÍMITES DE ADITIVOS – continuación

ADITIVOS	LÍMITES (%)
alquenoamidas	0,5
silicio-aluminato de sodio	0,5
silice	0,5
benzoato de sodio	0,5
ésteres o sales de ácidos grasos	0,5
fosfato trisódico	0,5
vaselina líquida	0,5
óxido de cinc	0,5
talco	0,5
estearato de calcio o cinc o una mezcla de ambos	0,5
dióxido de titanio	4
óxido de magnesio	0,2

Polietileno de baja densidad para envases destinados a preparaciones para uso parenteral y para preparaciones oftálmicas

El polietileno de baja densidad que cumple con los siguientes requisitos se emplea en la fabricación de envases para preparaciones de uso parenteral y oftálmico.

El polietileno de baja densidad se obtiene por polimerización de etileno a altas presiones en presencia de oxígeno o catalizadores. El material no debe poseer aditivos.

CARACTERISTICAS

Perlas, gránulos, láminas translúcidas de espesor variable, prácticamente insoluble en agua, etanol y metanol. Se ablanda por encima de los 80 °C. Se quema con una llama azul.

IDENTIFICACION

A - Absorción infrarroja <460>. A 250 mg del material a ensayar, agregar 10 ml de tolueno y calentar a reflujo durante 15 minutos. Colocar unas gotas de la solución sobre un disco de cloruro de sodio y evaporar el solvente a 80 °C. El espectro del material a ensayar debe presentar máximos en particular a 2.920; 2.850; 1.465; 731 y; 722 cm⁻¹; y el espectro debe ser idéntico al obtenido con el material seleccionado como referencia. [NOTA: si el material a ensayar se presenta en forma de láminas, el espectro puede determinarse directamente sobre un trozo de tamaño apropiado.]

B - A 2 g de material a ensayar agregar 100 ml de agua y calentar a reflujo durante 2 horas. Dejar enfriar. La densidad relativa del material (ver 160. *Determinación de la densidad relativa*) debe estar entre 0,910 y 0,935.

ENSAYOS - [NOTA: si es necesario, cortar el material en trozos de tamaño apropiado.]

Solución indicadora - Disolver en alcohol 100 mg de azul de bromotimol, 20 mg de rojo de metilo y 0,2 g de fenolftaleína. Diluir a 100 ml con el mismo solvente y filtrar.

Solución S - Transferir 25 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 500 ml de agua y calentar a reflujo durante 5 horas. Dejar enfriar y decantar.

Aspecto de la solución - La *Solución S* debe ser transparente, incolora y prácticamente inodora.

Acidez o alcalinidad - A 100 ml de *Solución S* agregar 0,15 ml de *Solución indicadora*. No se deben requerir más de 1,5 ml de hidróxido de sodio 0,01 N para cambiar el color del indicador a azul. A 100 ml de la *Solución S* agregar 0,2 ml de naranja de metilo (SR). No se debe requerir más de 1,0 ml de ácido clorhídrico 0,01 N para iniciar el cambio de color del indicador de amarillo a anaranjado.

Sustancias solubles en hexano - Transferir 5 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 50 ml de hexano, adaptar un refrigerante y calentar en un baño de agua con agitación constante durante 4 horas. Enfriar en un baño de hielo, se puede formar un gel. Adaptar una camisa de enfriamiento, llena de agua helada, a un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media adaptado con un dispositivo que permite aplicar presión durante la filtración.

Dejar enfriar el filtro durante 15 minutos. Filtrar la solución de hexano aplicando una presión de 27 kPa sin lavar el residuo; el tiempo de filtración no debe exceder 5 minutos. Evaporar 20 ml de la solución hasta sequedad. Secar el residuo a 100 °C durante 1 hora. El residuo no debe pesar más de 60 mg (3 %).

Sustancias reductoras - A 20 ml de *Solución S* agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido y 20 ml de permanganato de potasio 0,002 M. Calentar a reflujo durante 3 minutos y enfriar inmediatamente. Agregar 1 g de ioduro de potasio y titular inmediatamente con tiosulfato de sodio 0,01 N, empleando 0,25 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. La diferencia entre los volúmenes no debe ser mayor de 0,5 ml.

Aditivos –

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil 1 - Hexano.

Fase móvil 2 - Cloruro de metileno y metanol (95:5).

Solución muestra - Transferir 2,0 g del material a ensayar y 5 ml de cloroformo a un recipiente de 10 ml de paredes gruesas de vidrio tipo I ó II (ver 430. *Envases de vidrio*). Cerrar el mismo con un tapón de goma recubierto con politetrafluoretileno. Colocar el recipiente en un baño de agua a 85 °C durante 2 horas. Retirarlo, invertirlo y dejarlo enfriar. Decantar la solución clorofórmica transparente.

Solución estándar - Disolver 20 mg de disulfuro de dioctadecilo y 20 mg de bis[3,3-bis(3-*ter*-butil-4-hidroxifenil)butirato] de etileno en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Revelador - Solución de ácido fosfomolibdico al 4 % en alcohol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de cada solución. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 13 cm empleando *Fase móvil 1*. Retirar la placa de la cámara y dejarla secar al aire. Desarrollar nuevamente los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm empleando *Fase móvil 2*. Retirar la placa de la cámara y dejarla secar al aire. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar a 120 °C hasta que las manchas aparezcan en el cromatograma de la *Solución estándar*. No debe aparecer ninguna mancha en el cromatograma de la *Solución muestra*, a excepción de una mancha que puede estar en el frente del solvente del primer desarrollo y que corresponde a oligómeros. El cromatograma de la *Solución estándar* debe presentar dos manchas separadas.

Residuo de ignición - <270>. No debe ser mayor de 200 ppm, determinado sobre 10 g.

Polietileno de alta densidad para envases destinados a preparaciones de uso parenteral

El polietileno de alta densidad que cumple con los siguientes requisitos es apropiado para la fabricación de envases y tapones destinados a preparaciones de uso parenteral.

El polietileno de alta densidad (también llamado de "baja presión") es obtenido por polimerización de etileno a baja presión en presencia de catalizadores.

LÍMITES DE ADITIVOS Y ESTABILIZANTES

ADITIVOS	LÍMITES (%)
<i>Estabilizantes – puede contener no mas de tres de los siguientes estabilizantes:</i>	
butilhidroxitolueno	0,125
Tetrakis [3-(3,5-di- <i>ter</i> -butil-4-hidroxifenil)propionato de pentaeritritilo	0,2
3-(3,5-di- <i>ter</i> -butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo	0,2
3,3-bis(3- <i>ter</i> -butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno	0,2
2,2',2'',6,6',6''-hexa- <i>ter</i> -butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil)trismetileno] trifenol	0,2
2,2'-bis(octadeciloxi)-5,5'-espirobi [1,3,2-dioxafosforinano]	0,2
3,3'-tiodipropionato de didodecilo	0,2
3,3'-tiodipropionato de dioctadecilo	0,2
<i>Aditivos</i>	
estearato de calcio o estearato de cinc o una mezcla de ambos	0,5

CARACTERISTICAS

Polvo, perlas, gránulos o láminas translúcidas de espesor variable. Es prácticamente insoluble en agua, etanol, hexano y metanol; soluble en caliente en hidrocarburos aromáticos. Se ablanda a tempe-

raturas mayores de 120 °C. Se quema con una llama azul.

IDENTIFICACION

A - Absorción infrarroja <460>. A 250 mg del material a ensayar agregar 10 ml de tolueno y ca-

lentar a reflujo durante aproximadamente 15 minutos. Colocar unas gotas de la solución sobre una placa de cloruro de sodio y evaporar el solvente a 80 °C. Los máximos de absorción en el espectro obtenido con el material ensayado deben corresponder en posición e intensidad relativa a los del espectro obtenido con el polietileno de alta densidad SR-FA. [NOTA: si el material a ensayar se presenta en forma de láminas, el espectro puede determinarse directamente sobre un trozo de tamaño apropiado.]

B - A 2 g del material a ensayar agregar 100 ml de agua, calentar a reflujo durante 2 horas y dejar enfriar. La densidad relativa del material (ver 160. *Determinación de la densidad relativa*) debe estar entre 0,935 y 0,965.

ENSAYOS

[NOTA: si es necesario, cortar el material en trozos de tamaño apropiado.]

Solución indicadora - Disolver en alcohol 100 mg de azul de bromotimol, 20 mg de rojo de metilo y 200 mg de fenolftaleína. Diluir a 100 ml con el mismo solvente y filtrar.

Solución S₁ - Transferir 2,0 g de material a ensayar y 5 ml de cloroformo acidificado (SR) a un recipiente de 10 ml de paredes gruesas de vidrio tipo I ó II (ver 430. *Envases de vidrio*). Cerrar el recipiente con un tapón de goma cubierto con politetrafluoroetileno. Colocar el mismo en un baño de agua a 85 °C durante 2 horas. Invertirlo y enfriarlo. Decantar la solución clorofórmica transparente.

Solución S₂ - Transferir 25 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 500 ml de agua y calentar a reflujo durante 5 horas. Dejar enfriar y decantar la solución. Reservar una porción de la solución para el ensayo *Aspecto de la solución S₂* y filtrar el resto a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media. Emplear dentro de las 4 horas de preparación.

Solución S₃ - Transferir 100 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 200 ml de ácido clorhídrico 0,1 M y calentar a reflujo con agitación constante durante 1 hora. Enfriar, filtrar y evaporar el filtrado a sequedad. Disolver el residuo en 2 ml de ácido clorhídrico y diluir a 10,0 ml con ácido clorhídrico 0,1 M.

Aspecto de la solución S₂ - Debe ser transparente e incolora.

Acidez o alcalinidad - A 100 ml de *Solución S₂* agregar 0,15 ml de *Solución indicadora*. No se deben requerir más de 1,5 ml de hidróxido de sodio 0,01 N para cambiar el color del indicador a azul. A 100 ml de *Solución S₂*, agregar 0,2 ml de naranja

de metilo (SR). No se deben requerir más de 1 ml de ácido clorhídrico 0,01 N para iniciar el cambio de color del indicador de amarillo a anaranjado.

Absorbancia - A longitudes de onda entre 220 y 340 nm, la absorbancia de la *Solución S₂*, no debe ser mayor de 0,2.

Sustancias reductoras - A 20 ml de *Solución S₂* agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido y 20 ml de permanganato de potasio 0,002 M. Dejar reposar a temperatura ambiente durante 15 minutos. Agregar 1 g de ioduro de potasio y titular inmediatamente con tiosulfato de sodio 0,01 N, empleando 0,25 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. La diferencia entre los volúmenes no debe ser mayor de 0,5 ml.

Aditivos -

Fase estacionaria - Emplear tres placas para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil 1 - Hexano.

Fase móvil 2 - Cloruro de metileno y hexano (80:20).

Fase móvil 3 - Cloruro de metileno y metanol (95:5).

Solución estándar A - Disolver 5 mg de butilhidroxitolueno en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 8 mg de tetraakis [3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxi-fenil)propionato] de pentaeritrito en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar C - Disolver 8 mg de 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar D - Disolver 8 mg de 3,3-bis(3-*ter*-butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar E - Disolver 8 mg de 2,2',2'',6,6',6''-hexa-*ter*-butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil)trismetilen]trifenol en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar F - Disolver 8 mg de 2,2'-bis(octadeciloxi)-5,5'-espirobi [1,3,2-dioxafosforinano] en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar G - Disolver 8 mg de 3,3'-tiodipropionato de didodecilo en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar H - Disolver 8 mg de 3,3'-tiodipropionato de dioctadecilo en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar I - Disolver 20 mg de ácido esteárico en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución muestra - Solución S₁

Revelador 1 - Solución de cloruro férrico al 5 % recientemente preparada.

Revelador 2 - Solución de ferricianuro de potasio al 5 %.

Revelador 3 - Acido sulfúrico.

Revelador 4 - Solución de ácido fósfolomóbdico al 4 % en alcohol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre cada placa 10 µl de cada solución. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 13 cm empleando *Fase móvil 1*. Retirar las placas de la cámara y dejar secar al aire.

Para la segunda placa, desarrollar nuevamente los cromatogramas en la misma dirección hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm empleando *Fase móvil 2*. Retirar la placa de la cámara y dejar secar al aire.

Para la tercera placa, desarrollar nuevamente los cromatogramas en la misma dirección hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm empleando *Fase móvil 3*. Retirar la placa de la cámara y dejar secar al aire.

Examinar la primera placa bajo luz ultravioleta a 254 nm. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar una mancha que corresponde a la mancha en el cromatograma de la *Solución estándar A*. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 1* y luego con *Revelador 2*. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar una mancha que corresponde a la mancha en el cromatograma de la *Solución estándar A*.

Pulverizar sobre la segunda placa con *Revelador 1* y luego con *Revelador 2*. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar las manchas que corresponden a las manchas en los cromatogramas de las *Soluciones estándar A, B y D*. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 3* y calentar a 120 °C hasta que las manchas aparezcan en los cromatogramas de las *Soluciones estándar F, G y H*. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar las manchas que corresponden a esas soluciones en los cromatogramas de las *Soluciones estándar*.

Pulverizar sobre la tercera placa con *Revelador 4* y calentar a 120 °C hasta que aparezcan las manchas en los cromatogramas de las *Soluciones estándar*. Las manchas aparecen rápidamente en los cromatogramas de las *Soluciones estándar A, B, C, D, E, F, G y H*. La mancha en el cromatograma

de la *Solución estándar I* debe aparecer más lentamente. El cromatograma de la *Solución muestra* no debe presentar más de tres manchas y éstas corresponden a las manchas en los cromatogramas de las *Soluciones estándar A, B, C, D, E, F, G o H*; debe presentar también una mancha que corresponde a la mancha en el cromatograma de la *Solución estándar I*. Las manchas en el cromatograma de la *Solución muestra* no deben ser más intensas que las manchas correspondientes en los cromatogramas de las *Soluciones estándar*.

[NOTA: en el cromatograma de la *Solución muestra* cualquier mancha cercana al frente del solvente desde el primer desarrollo no debe tenerse en cuenta (polímeros de bajo peso molecular-relativo).]

Circonio - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad de nitrato de circonio, equivalente a 293 mg de $[\text{ZrO}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$, en una mezcla de agua y ácido clorhídrico (8:2). Diluir a 100 ml con la misma mezcla de solventes para obtener una solución con una concentración conocida de 0,1 % de Zr.

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar empleando la *Solución madre del estándar* diluida con una mezcla de agua y ácido clorhídrico (8:2).

Solución muestra - Solución S₃

Procedimiento - Medir la absorbancia a 360,1 nm empleando una lámpara de circonio de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama de óxido nitroso-acetileno. No debe estar presente más de 100 ppm de Zr.

Cromo - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad de dicromato de potasio, equivalente a 283 mg de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, en agua y diluir a 1 litro con el mismo solvente para obtener una solución que contenga 100 ppm de Cr.

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar empleando la *Solución madre del estándar* diluida con una mezcla de agua y ácido clorhídrico (8:2).

Solución muestra - Solución S₃

Procedimiento - Medir la absorbancia a 358,0 nm empleando una lámpara de cromo de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama de aire-acetileno. No debe estar presente más de 0,05 ppm de Cr.

Vanadio - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad de vanadato de amonio, equivalente a 230 mg de NH_4VO_3 , en agua y diluir a 100,0 ml con el mismo solvente (0,1 % de V).

Solución estándar - Preparar las soluciones estándar empleando la *Solución madre del estándar* diluida con una mezcla de agua y ácido clorhídrico (8:2).

Solución muestra - Solución S₃

Procedimiento - Medir la absorbancia a 318,3 nm empleando una lámpara de vanadio de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama

de acetileno-óxido nítrico. No debe estar presente más de 10 ppm de V.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,2 %, determinado sobre 5 g.

Polipropileno para envases y tapones destinados a preparaciones de uso parenteral

El polipropileno consiste en un homopolímero de propileno o de un copolímero de propileno con hasta 20 % de etileno o de una mezcla de polipropileno con hasta un 20 % de polietileno.

LIMITES DE ADITIVOS Y ESTABILIZANTES

ADITIVOS	LÍMITES (%)
<i>Estabilizantes – puede contener no más de tres de los siguientes estabilizantes:</i>	
Tetrakis [3-(3,5-di- <i>ter</i> -butil-4-hidroxifenil)propionato de pentaeritritilo	0,3
3-(3,5-di- <i>ter</i> -butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo	0,3
3,3-bis(3- <i>ter</i> -butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno	0,3
2,2',2'',6,6',6''-hexa- <i>ter</i> -butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil)trismetilen] trifenol	0,3
2,2'-bis(octadeciloxi)-5,5'-espirobi [1,3,2-dioxafosforinano]	0,3
3,3'-tiodipropionato de didodecilo	0,3
3,3'-tiodipropionato de dioctadecilo	0,3
disulfuro de dioctadecilo	0,3
butilhidroxitolueno	0,125
<i>Aditivos</i>	
estearato de calcio o estearato de cinc o una mezcla de ambos	0,2

CARACTERÍSTICAS

Polvo, perlas, gránulos o láminas translúcidas de espesor variable. El polipropileno es prácticamente insoluble en agua, etanol y metanol; es también prácticamente insoluble en hexano el cual disuelve polímeros residuales de bajo peso molecular; ligeramente soluble en decalina, tetralina, tolueno y xileno a ebullición. Se ablanda a temperaturas por encima de 150 °C. Se quema con una llama azul.

IDENTIFICACIÓN

Absorción infrarroja <460>. A 250 mg del material a ensayar agregar 10 ml de tolueno y calentar a reflujo durante aproximadamente 15 minutos. Colocar unas gotas de la solución caliente sobre una placa de cloruro de sodio y evaporar el solvente a 80 °C. Los máximos de absorción en el espectro obtenido corresponden en posición e intensidad relativa a los del espectro obtenido con polipropileno SR-FA. Los espectros de copolímeros y mezclas deben presentar un máximo adicional aproximadamente a 720 cm^{-1} . [NOTA: si el material a ensayar se presenta en forma de láminas, el espectro puede determinarse directamente sobre un trozo de tamaño apropiado].

ENSAYOS - [NOTA: si es necesario, cortar el material en trozos de tamaño apropiado].

Solución indicadora - Disolver en alcohol 100 mg de azul de bromotimol, 20 mg de rojo de metilo y 200 mg de fenolftaleína. Diluir a 100 ml con el mismo solvente y filtrar.

Solución S₁ - Transferir 2,0 g del material a ensayar y 5 ml de cloroformo acidificado (SR) a un recipiente de 10 ml de paredes gruesas de vidrio tipo I ó II (ver 430. *Envases de vidrio*). Cerrar el recipiente con un tapón elastomérico con una cubierta de politetrafluoroetileno y asegurar el tapón. Colocar el recipiente en un baño de agua a 85 °C durante 2 horas. Retirarlo, invertirlo y dejarlo enfriar. Decantar la solución clorofórmica transparente.

Solución S₂ - Transferir 25 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 500 ml de agua y calentar a reflujo durante 5 horas. Dejar enfriar y decantar la solución. Reservar una porción de la solución para el ensayo *Aspecto de la solución S₂* y filtrar el resto a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media.

Solución S₃ - Transferir 100 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca

esmerilada. Agregar 200 ml de ácido clorhídrico 0,1 M y calentar a reflujo con agitación constante durante 1 hora. Enfriar, filtrar y evaporar el filtrado a sequedad. Disolver el residuo en 2 ml de ácido clorhídrico y diluir a 10,0 ml con ácido clorhídrico 0,1 M.

Acidez o alcalinidad - A 100 ml de *Solución S₂*, agregar 0,15 ml de *Solución indicadora*. No se deben requerir más de 1,5 ml de hidróxido de sodio 0,01 N para cambiar el color del indicador a azul. A 100 ml de *Solución S₂* agregar 0,2 ml de naranja de metilo (SR). No se debe requerir más de 1,0 ml de ácido clorhídrico 0,01 N para iniciar el cambio de color del indicador de amarillo a anaranjado.

Absorbancia - A longitudes de onda entre 220 y 340 nm, la absorbancia de la *Solución S₂* no debe ser mayor de 0,5.

Sustancias reductoras - A 20 ml de la *Solución S₂* agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido y 20 ml de permanganato de potasio 0,002 M. Calentar a reflujo durante 3 minutos y enfriar inmediatamente. Agregar 1 g de ioduro de potasio y titular inmediatamente con tiosulfato de sodio 0,01 N, empleando 0,25 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. La diferencia entre los volúmenes no debe ser mayor de 0,5 ml.

Sustancias solubles en hexano - Transferir 10 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 50 ml de hexano, adaptar un refrigerante y calentar en un baño de agua a 75 °C con agitación constante durante 4 horas. Enfriar en agua helada y filtrar rápidamente a través de un filtro de vidrio sinterizado. Evaporar 10 ml del filtrado a sequedad en un recipiente, previamente pesado y secar el residuo entre 100 y 105 °C durante 1 hora. El residuo no debe pesar más de 0,1 g (5 %).

Aditivos -

Fase estacionaria - Emplear tres placas para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubiertas con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil 1 - Hexano.

Fase móvil 2 - Cloruro de metileno y éter de petróleo (80:20).

Fase móvil 3 - Cloruro de metileno y metanol (95:5).

Solución estándar A - Disolver 5 mg de butilhidroxitolueno en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 12 mg de tetrakis [3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato] de pentaeritritilo en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar C - Disolver 12 mg de 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar D - Disolver 12 mg de 3,3-bis(3-*ter*-butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar E - Disolver 12 mg de 2,2',2'',6,6',6''-hexa-*ter*-butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil) trismetilen] trifenol en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar F - Disolver 12 mg de 2,2'-bis(octadeciloxi)-5,5'-espirobi [1,3,2-dioxafosforinano] en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar G - Disolver 12 mg de 3,3'-tiodipropionato de didodecilo en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar H - Disolver 12 mg de 3,3'-tiodipropionato de dioctadecilo en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar I - Disolver 8 mg de ácido esteárico en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar J - Disolver 12 mg de disulfuro de dioctadecilo en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución muestra - Solución S₁

Revelador 1 - Solución de cloruro férrico al 5 % recientemente preparada.

Revelador 2 - Solución de ferricianuro de potasio al 5 %.

Revelador 3 - Acido sulfúrico.

Revelador 4 - Solución de ácido fosfomolibdico al 4 % en alcohol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre cada placa 10 µl de cada solución. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 13 cm empleando *Fase móvil 1*. Retirar las placas de la cámara y dejarlas secar al aire.

Para la segunda placa, desarrollar nuevamente los cromatogramas en la misma dirección hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm empleando *Fase móvil 2*.

Para la tercera placa, desarrollar nuevamente los cromatogramas en la misma dirección hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm empleando *Fase móvil 3*.

Retirar las placas de las cámaras y dejarlas secar al aire. Examinar la primera placa bajo luz ultravioleta a 254 nm. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar una mancha que corresponde a la mancha en el cromatograma de la *Solución estándar A* y *J*. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 1* y luego con *Revelador 2*. El cromatograma de la *Solución muestra*

debe presentar una mancha que corresponde a la mancha en el cromatograma de la *Solución estándar A*.

Pulverizar sobre la segunda placa con *Revelador 1* y luego con *Revelador 2*. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar las manchas que corresponden a las manchas en los cromatogramas de las *Soluciones estándar A, B, D y J*. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 3* y calentar la placa a 120 °C hasta que las manchas aparezcan en los cromatogramas de estas *Soluciones estándar F, G y H*. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar manchas que corresponden a las presentes en los cromatogramas de estas *Soluciones estándar*.

Pulverizar sobre la tercera placa con *Revelador 4* y calentar a 120 °C hasta que las manchas aparezcan en los cromatogramas de las *Soluciones estándar*. Las manchas aparecen rápidamente en los cromatogramas de las *Soluciones estándar A, B, C, D, E, F, G y H*. La mancha en el cromatograma de la *Solución estándar I* aparece más lentamente. El cromatograma de la *Solución muestra* no debe presentar más de tres manchas y éstas corresponden a las manchas en los cromatogramas de las *Soluciones estándar A, B, C, D, E, F, G o H*; puede mostrar también una mancha que corresponde a la mancha en el cromatograma de la *Solución estándar 1*. Las manchas en el cromatograma de la *Solución muestra* no deben ser más intensas que las manchas correspondientes en los cromatogramas de las *Soluciones estándar*.

[NOTA: en el cromatograma de la *Solución muestra*, cualquier mancha cercana al frente del solvente empleado para el primer desarrollo no debe tenerse en cuenta (polímeros de bajo peso molecular relativo)].

Cromo - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad de dicromato de potasio, equivalente a 0,283 g de $K_2Cr_2O_7$, en agua y diluir a 1 litro con el mismo solvente (100 ppm de Cr).

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar empleando la *Solución madre del estándar* diluida con una mezcla de agua y ácido clorhídrico (8:2).

Solución muestra - Solución S₃

Procedimiento - Medir la absorbancia a 358,0 nm empleando una lámpara de cromo de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama de aire-acetileno. No debe contener más de 0,05 ppm de Cr.

Vanadio - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad de vanadato de amonio, equivalente a 0,230 g de NH_4VO_3 , en agua y diluir a 100,0 ml con el mismo solvente (0,1 % de V).

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar empleando la *Solución madre del estándar* diluida con una mezcla de agua y ácido clorhídrico (8:2).

Solución muestra - Solución S₃

Procedimiento - Medir la absorbancia a 318,3 nm empleando una lámpara de vanadio de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama de acetileno-óxido nítrico. No debe contener más de 10 ppm de V.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,2 %, determinado sobre 5 g.

Copolímero de etileno-acetato de vinilo para envases y tubos destinados a preparaciones para nutrición parenteral

El copolímero de etileno-acetato de vinilo se obtiene por copolimerización de mezclas de etileno y acetato de vinilo. Contiene una cantidad definida de acetato de vinilo no superior a un 25 % en los materiales que se emplean para fabricar envases y no superior a un 30 % en los materiales que se emplean para fabricar tubos.

LÍMITE DE ADITIVOS Y ESTABILIZANTES

ADITIVOS	LÍMITES (%)
<i>Estabilizantes – puede contener no más de tres de los siguientes estabilizantes:</i>	
butilhidroxitolueno	0,125
tetrakis [3-(3,5-di- <i>ter</i> -butil-4-hidroxifenil)propionato de pentaeritritilo	0,2
3-(3,5-di- <i>ter</i> -butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo	0,2
fosfito de tris(2,4-di- <i>ter</i> -butilfenilo)	0,2
2,2',2'',6,6',6''-hexa- <i>ter</i> -butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil)trismetileno] trifenol	0,2
<i>Aditivos -</i>	
oleamida o erucamida	0,2
estearato de calcio o estearato de cinc o una mezcla de ambos	0,5
carbonato de calcio o hidróxido de potasio	0,5
dióxido de silicio	0,2

CARACTERÍSTICAS

Perlas, gránulos o, luego de ser transformado, láminas translúcidas o tubos de espesor variable. Es prácticamente insoluble en agua, etanol, metanol y hexano. Sin embargo el hexano disuelve los polímeros residuales de bajo peso molecular. Soluble en hidrocarburos aromáticos calientes. Se quema con una llama azul. La temperatura a la cual el material se ablanda varía con el contenido de acetato de vinilo; siendo aproximadamente de 100 °C para materiales de bajo contenido y de aproximadamente 70 °C para materiales cuyo contenido es de 30 %.

IDENTIFICACIÓN - [NOTA: si es necesario, cortar el material en trozos de tamaño apropiado].

Absorción infrarroja <460>. A 250 mg del material a ensayar agregar 10 ml de tolueno y calentar a reflujo durante aproximadamente 15 minutos. Colocar unas gotas de la solución obtenida sobre una placa de cloruro de sodio y evaporar el solvente a 80 °C. El espectro obtenido debe presentar los siguientes máximos de absorción que corresponden al acetato de vinilo: 1.740; 1.375; 1.240; 1.020 y 610 cm^{-1} y máximos que corresponden al etileno en las posiciones siguientes: 2.920 a 2.850; 1.470; 1.460; 1.375; 730 y 720 cm^{-1} . El espectro obtenido debe ser, además, idéntico al obtenido con la sustancia de referencia. [NOTA: si el material a ensayar está en forma de láminas, el espectro puede determinarse directamente sobre un trozo de tamaño apropiado.]

ENSAYOS - [NOTA: si es necesario, cortar el material en trozos de tamaño apropiado.]

Solución indicadora - Disolver en alcohol 100 mg de azul de bromotimol, 20 mg de rojo de metilo y 200 mg de fenoltaleína. Diluir a 100 ml con el mismo solvente y filtrar.

Solución S₁ - Transferir 2,0 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 80 ml de tolueno y calentar a reflujo con agitación constante durante 90 minutos. Dejar enfriar a 60 °C y agregar 120 ml de metanol con agitación constante. Filtrar la solución a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media. Lavar el erlenmeyer y el filtro con 25 ml de una mezcla de 40 ml de tolueno y 60 ml de metanol, agregar el lavado al filtrado y diluir a 250 ml con la misma mezcla de solventes.

Solución S₂ - Transferir 25 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 500 ml de *Agua para Inyectables* y calentar a reflujo durante 5 horas. Dejar enfriar y decantar la solución. Reservar una porción de la solución para el ensayo *Aspecto de la solución S₂* y filtrar el resto a través de un filtro de

vidrio sinterizado. Emplear dentro de las 4 horas de su preparación.

Aspecto de la solución S₂ - Debe ser transparente e incolora.

Acidez o alcalinidad - A 100 ml de la *Solución S₂* agregar 0,15 ml de *Solución indicadora*. No se deben requerir más de 1,0 ml de hidróxido de sodio 0,01 N para cambiar el color del indicador a azul. A 100 ml de *Solución S₂* agregar 0,2 ml de naranja de metilo (SR). No se deben requerir más de 1,5 ml de ácido clorhídrico 0,01 N para iniciar el cambio de color del indicador de amarillo a anaranjado.

Absorbancia - A longitudes de onda entre 220 y 340 nm, la absorbancia de la *Solución S₂* no debe ser mayor de 0,20.

Sustancias reductoras - 20 ml de la *Solución S₂* agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido y 20 ml de permanganato de potasio 0,002 M. Calentar a reflujo durante 3 minutos y enfriar inmediatamente. Agregar 1 g de ioduro de potasio y titular inmediatamente con tiosulfato de sodio 0,01 N, empleando 0,25 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. La diferencia entre los volúmenes no debe ser mayor de 0,5 ml.

Amidas y ácido esteárico

Fase estacionaria - Emplear dos placas para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil 1 - 2,2,4-Trimetilpentano y etanol (75:25).

Fase móvil 2 - Hexano

Fase móvil 3 - Cloruro de metileno y metanol (95:5).

Solución estándar A - Disolver 20 mg de ácido esteárico en 10 ml de cloruro de metileno.

Solución estándar B - Disolver 40 mg de oleamida en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 1 ml de esta solución a 5 ml con cloruro de metileno.

Solución estándar C - Disolver 40 mg de erucamida en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 1 ml de esta solución a 5 ml con cloruro de metileno.

Solución muestra - Evaporar a sequedad, aplicando vacío y a 45 °C, 100 ml de la *Solución S₁*. Disolver el residuo en 2 ml de cloruro de metileno acidificado (SR).

Revelador - Acido fosfomolibdico al 4 % en etanol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre cada placa 10 μl de cada solución. Dejar secar las aplicaciones. Desarrollar la primera placa hasta que

el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm empleando *Fase móvil 1*. Retirar la placa de la cámara y dejarla secar. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar a 120 °C durante unos minutos para intensificar las manchas. Cualquier mancha que corresponda a ácido esteárico en el cromatograma de la *Solución muestra* no debe ser más intensa que la mancha principal en el cromatograma de la *Solución estándar A*.

Desarrollar la segunda placa hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 13 cm empleando *Fase móvil 2*. Retirar la placa de la cámara y dejarla secar. Desarrollar nuevamente hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm empleando *Fase móvil 3*. Retirar la placa de la cámara y dejarla secar. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*. Calentar en una estufa a 120 °C hasta que las manchas aparezcan. Cualquier mancha que corresponda a erucamida u oleamida en el cromatograma de la *Solución muestra* no debe ser más intensa que las manchas correspondientes en los cromatogramas de las *Soluciones estándar B y C*.

Antioxidantes fenólicos

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos de un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice porosa de 5 µm de diámetro. El caudal es de aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Emplear una de las dos mezclas siguientes:

Fase móvil 1 - Acetonitrilo, tetrahydrofurano y agua (60:30:10).

Fase móvil 2 - Metanol, 2-propanol y agua (50:45:5).

Solución estándar A - Disolver 25 mg de butilhidroxitolueno, 40 mg de 2,2',2'',6,6',6''-hexa-*ter*-butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil) trismetil]trifenol, 40 mg de tetrakis [3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato] de pentaeritritilo y 40 mg de 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil) propionato de octadecilo en 10 ml de una mezcla de acetonitrilo y tetrahydrofurano (50:50). Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 40 mg de 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil) propionato de octadecilo y 40 mg de fosfito de tris(2,4-di-*ter*-butilfenilo) en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución muestra A - Evaporar a sequedad, aplicando vacío y a 45 °C, 50 ml de *Solución S₁*.

Disolver el residuo en 5 ml de una mezcla de acetonitrilo y tetrahydrofurano (50:50).

Solución muestra B - Evaporar a sequedad, aplicando vacío y a 45 °C, 50 ml de *Solución S₁*. Disolver el residuo en 5 ml de cloruro de metileno.

Aptitud del sistema - (ver 100. *Cromatografía*)

Empleando Fase móvil 1 - Cromatografiar la *Solución estándar A*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: La eficiencia de la columna calculada para el pico de butilhidroxitolueno no debe ser menor de 2.500 platos teóricos y la resolución, *R*; entre los picos de tetrakis [3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato] de pentaeritritilo y 2,2',2'',6,6',6''-hexa-*ter*-butil-(4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil) trismetil]trifenol no debe ser menor de 2,0.

Empleando Fase móvil 2 - Cromatografiar la *Solución estándar B*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución, *R*, entre los picos de 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo y fosfito de tris(2,4-di-*ter*-butilfenilo) no debe ser menor de 2,0.

Procedimiento - *Empleando Fase móvil 1*, inyectar por separado en el cromatógrafo 20 µl de *Solución muestra A* y 20 µl de *Solución estándar A*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. El cromatograma de la *Solución muestra A* debe presentar únicamente los picos principales que corresponden a los picos en el cromatograma de la *Solución estándar A* con un tiempo de retención mayor de 2 minutos. Las respuestas de los picos en el cromatograma de la *Solución muestra A* no deben ser mayores que las de los picos correspondientes en el cromatograma de la *Solución estándar A*, a excepción del último pico eluido en el cromatograma de la *Solución estándar A*.

Si el cromatograma de la *Solución muestra A* presenta un pico con el mismo tiempo de retención que el último antioxidante eluido con la *Solución estándar A*, emplear *Fase móvil 2* y proceder según se indica a continuación:

Inyectar por separado en el cromatógrafo 20 µl de *Solución muestra B* y 20 µl de *Solución estándar B*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. El cromatograma de la *Solución muestra B* debe presentar sólo picos principales que corresponden a los picos en el cromatograma de la *Solución estándar B* con un tiempo de retención mayor de 3 minutos.

Las respuestas de los picos en el cromatograma de la *Solución muestra B* no deben ser mayores que las de los picos correspondientes en el cromatograma de la *Solución estándar B*.

Sustancias solubles en hexano - Transferir 5 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 50 ml de hexano y calentar a reflujo en un baño de agua con agitación constante durante 4 horas. Enfriar en un baño de hielo (se puede formar un gel). Adaptar una camisa de enfriamiento, llena de agua helada, a un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media adaptado con un dispositivo que permita aplicar presión durante la filtración.

Dejar enfriar el filtro durante 15 minutos. Filtrar la solución de hexano aplicando una presión de 27 kPa sin lavar el residuo; el tiempo de filtración no debe exceder de 5 minutos. Evaporar 20 ml de la solución a sequedad. Secar a 100 °C durante 1 hora. El residuo no debe pesar más de 40 mg (2 %) para copolímeros empleados en la fabricación de envases y no más de 0,1 g (5 %) para copolímeros empleados para tubos.

Residuo de ignición <270> - No más de 1,2 %, determinado sobre 5,0 g.

VALORACION

Transferir de 250 mg a 1 g del material a ensayar, según el contenido de acetato de vinilo del copolímero a ensayar, a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada de 300 ml. Agregar 40 ml de xileno. Calentar a reflujo con agitación durante 4 horas. Dejar enfriar, con agitación continua, hasta que comience la precipitación. Agregar lentamente 25,0 ml de una solución de hidróxido de potasio alcohólico preparada disolviendo 6,6 g de hidróxido de potasio en 50 ml de agua y diluyendo a 1 litro con etanol. Calentar a reflujo con agitación durante 3 horas. Dejar enfriar con agitación continua, lavar el refrigerante con 50 ml de agua y agregar al erlenmeyer 30,0 ml de ácido sulfúrico 0,1 N. Transferir el contenido del erlenmeyer a un vaso de precipitados de 400 ml. Lavar el erlenmeyer con dos porciones de 50 ml de una solución de sulfato de sodio anhidro al 20 % y tres porciones de 20 ml de agua. Agregar todos los lavados al vaso de precipitados que contiene la solución inicial. Titular el exceso de ácido sulfúrico con hidróxido de sodio 0,1 N, determinando el punto final potenciométricamente (ver 780. *Volumetría*). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido sulfúrico 0,1 N es equivalente a 8,609 mg de acetato de vinilo.

Envases plásticos estériles para sangre humana o hemoderivados

Los envases plásticos para la recolección, almacenamiento, procesamiento y administración de sangre humana y hemoderivados se fabrican de uno

o más polímeros y, si el caso así lo requiere, con aditivos permitidos. En condiciones normales de uso, los materiales no deben liberar monómeros u otras sustancias, en cantidades que puedan ser nocivas o causen modificaciones anormales a la sangre.

Los envases pueden contener soluciones anticoagulantes.

Cada envase está equipado con accesorios apropiados para facilitar su uso. El envase puede estar constituido por una unidad o estar conectado por uno o más tubos a uno o más envases complementarios para permitir la separación de los componentes sanguíneos en un sistema cerrado.

A menos que se especifique de otro modo en *Envases plásticos estériles para sangre humana y hemoderivados*, los materiales de los envases deben cumplir con los requisitos para *Poli (cloruro de vinilo) plastificado para envases destinados a soluciones acuosas para perfusión intravenosa*.

CARACTERÍSTICAS

El envase debe ser suficientemente transparente para permitir un examen visual apropiado de su contenido antes y después de ser llenado con sangre y debe ser suficientemente flexible para ofrecer una mínima resistencia durante el llenado y vaciado bajo condiciones normales de uso. El envase no debe contener más de 5 ml de aire.

ENSAYOS

Solución S₁- Llenar el envase con 100 ml de Solución fisiológica libre de pirogenos (SR) estéril. Cerrar el envase y calentarlo en autoclave, manteniendo la temperatura a 110 °C durante 30 minutos.

Si el envase a ensayar contiene una solución anticoagulante, vaciarlo previamente, y lavarlo con 250 ml de *Agua para Inyectables* a 20 ± 1 °C en varias porciones, descartando los lavados.

Solución S₂ - Introducir en el envase un volumen de *Agua para Inyectables* igual al volumen de solución de anticoagulante. Cerrar el envase y calentarlo en autoclave manteniendo la temperatura a 110 °C durante 30 minutos. Enfriar, agregar suficiente cantidad de *Agua para Inyectables* como para llenar el envase hasta su capacidad nominal.

Si el envase a ensayar contiene una solución anticoagulante, vaciarlo previamente y lavarlo según se indicó anteriormente para la *Solución S₁*.

Resistencia a variaciones de temperatura - Colocar el envase en una cámara apropiada la cual posee una temperatura inicial entre 20 y 23 °C. Enfriarlo rápidamente a una temperatura de - 80 °C y mantenerlo a esa temperatura durante 24 horas. Elevar la temperatura a 50 °C y mantenerla durante 12 horas. Dejar enfriar a temperatura ambiente. El

envase deberá cumplir con los ensayos para la *Resistencia a la centrifugación*, *Resistencia al estiramiento*, *Fuga*, *Permeabilidad al vapor de agua*, *Vaciado bajo presión* y *Velocidad de llenado*, siguiendo las técnicas descriptas en este capítulo.

Resistencia a la centrifugación -

Solución indicadora - Disolver, con calentamiento suave, 50 mg de azul de bromofenol en 3,73 ml de hidróxido de sodio 0,02 M y diluir a 100 ml con agua. -

Procedimiento - Introducir en el envase un volumen de agua acidificada, por el agregado de 1 ml de solución de ácido clorhídrico diluido, en cantidad suficiente para alcanzar su capacidad nominal. Envolver el envase con un papel absorbente impregnado con *Solución indicadora* diluida 1 en 5. Secar y centrifugar durante 10 minutos a 5.000 g. No se debe producir ninguna fuga, revelada por el papel indicador, ni ninguna distorsión permanente.

Resistencia al estiramiento - Introducir en el envase un volumen de agua acidificada por el agregado de 1 ml de solución de ácido clorhídrico diluido, en suficiente cantidad para alcanzar su capacidad nominal. Suspender el envase por el dispositivo de sujeción desde el extremo opuesto al tubo de salida, aplicar a lo largo del eje del tubo una fuerza de 20 N (2,05 kgf). Mantener la tracción durante 5 segundos. Repetir el ensayo aplicando la fuerza a cada una de las partes que se emplean para llenar y vaciar el envase. No deberá producirse rotura o deterioro apreciable.

Ensayo de fuga - Colocar el envase, que se ha sometido al ensayo de *Resistencia al estiramiento*, entre dos placas recubiertas con papel absorbente impregnado con *Solución indicadora* diluida 1 en 5, empleada en el ensayo de *Resistencia a la centrifugación* y secar. Aplicar, progresivamente, una fuerza a las placas de forma que la presión interna del envase alcance 67 kPa en el término de 1 minuto. Mantener la presión durante 10 minutos. No se debe percibir ninguna señal de fuga sobre el papel indicador.

Permeabilidad al vapor de agua - Para envases que contienen solución anticoagulante, llenar con un volumen de Solución fisiológica (SR), similar a la cantidad de sangre a contener.

Para el caso de los envases vacíos, llenar con la mezcla de solución de anticoagulante indicada y Solución fisiológica (SR). Cerrar el envase, pesarlo y almacenarlo a 5 ± 1 °C en una atmósfera con una humedad relativa de 50 ± 5 % durante 21 días. Al final de este período la pérdida de peso no deber ser mayor de 1 %.

Vaciado bajo presión - Llenar el envase con un volumen de agua a 5 ± 1 °C, equivalente a su capacidad nominal. Adosar a uno de los conectores, un equipo de transfusión sin cánula intravenosa. Comprimir el envase de manera tal que durante el vaciado se mantenga una presión interna de 40 kPa. El envase se debe vaciar en menos de 2 minutos.

Velocidad de llenado - Conectar el envase, por intermedio del tubo de transferencia con su correspondiente aguja a un depósito que contiene una cantidad apropiada de una solución con una viscosidad similar a la de la sangre, como por ej., una solución de sacarosa con una concentración de 335 g/l a 37 °C. Mantener la presión interna del depósito a 9,3 kPa, estando al mismo nivel la base del mismo y la parte superior del envase. El volumen de líquido que fluye dentro del envase en 8 minutos no debe ser menor que la capacidad nominal del envase.

Transparencia -

Solución de sulfato de hidracina - Disolver 1,0 g de sulfato de hidracina en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Dejar reposar durante 4 a 6 horas.

Solución de hexametilentetramina - Transferir 2,5 g de hexametilentetramina a un matraz de 100 ml con tapón esmerilado. Agregar 25 ml de agua y disolver.

Suspensión opalescente primaria - Agregar a la *Solución de hexametilentetramina* contenida en el matraz, 25 ml de *Solución de sulfato de hidracina*. Mezclar y dejar reposar durante 24 horas. Esta suspensión es estable durante 2 meses cuando se la almacena en envases de una superficie interna perfectamente lisa. La suspensión no debe adherirse y debe agitarse cuidadosamente antes de ser empleada.

Procedimiento - Introducir al envase vacío un volumen, equivalente a su capacidad nominal, de la *Suspensión opalescente primaria* diluida de manera de obtener una absorbancia de 0,37 a 0,43 a 640 nm (el factor de dilución es de 1 en 16). La turbidez de la suspensión debe ser perceptible cuando se observa a través del envase, en comparación con un envase de similares características lleno de agua en las mismas condiciones.

Efectos hemolíticos en sistemas de pH regulado - (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*).

Solución reguladora madre - Disolver 90,0 g de cloruro de sodio, 34,6 g de fosfato dibásico de sodio y 2,43 g de fosfato monobásico de sodio en agua y diluir a 1 litro con el mismo solvente.

Solución reguladora A₀ - A 30,0 ml de la *Solución reguladora madre* agregar 10,0 ml de agua.

Solución reguladora B₀- A 30,0 ml de la *Solución reguladora madre* agregar 20,0 ml de agua.

Solución reguladora C₀ - A 15,0 ml de la *Solución reguladora madre* agregar 85,0 ml de agua.

Solución A₁ - Mezclar 3,0 ml de *Solución reguladora A₀* y 12,0 ml de agua.

Solución B₁ - Mezclar 4,0 ml de *Solución reguladora-B₀* y 11,0 ml de agua.

Solución C₁ - Mezclar 4,75 ml de *Solución reguladora C₀* y 10,25 ml de agua.

Procedimiento - Transferir 1,4 ml de la *Solución S₂* a cada uno de tres tubos de centrifuga. Al tubo I agregarle 0,1 ml de *Solución reguladora A₀*, al tubo II agregarle 0,1 ml de *Solución reguladora B₀* y al tubo III agregarle 0,1 ml de *Solución reguladora C₀*. Agregar a cada tubo 0,02 ml de sangre humana fresca heparinizada, mezclar bien y calentar en un baño de agua a 30 ± 1 °C durante 40 minutos. Emplear sangre recolectada 3 horas antes como máximo o sangre recolectada con solución anticoagulante de citrato-fosfato-dextrosa 24 horas antes como máximo.

A los tubos I, II y III agregar 1,5 ml de *Solución A₁*, *Solución B₁* y *Solución C₁*, respectivamente. Al mismo tiempo y de la misma manera, preparar otros tres tubos, reemplazando *Solución S₂* por agua, estos tubos servirán como control. Centrifugar simultáneamente los tubos a ensayar y los de control a exactamente 2500 g en la misma centrifuga horizontal durante 5 minutos. Determinar las absorbancias, con un espectrofotómetro apropiado, en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de 540 nm, empleando la *Solución reguladora madre* como blanco. Calcular el porcentaje de hemólisis por la fórmula siguiente:

$$\frac{A_{\text{exp}}}{A_{100}} 100$$

en la cuál A_{100} , es la absorbancia del tubo III y A_{exp} son las absorbancias de los tubo I ó II, o las correspondientes a los tubos controles.

La solución en el tubo I debe dar un porcentaje de hemólisis no mayor a 10 % y el porcentaje de hemólisis de la solución en el tubo II no debe diferir en más de 10 % al del tubo control correspondiente.

Esterilidad <370> - Introducir asépticamente en el envase 100 ml de *Solución fisiológica (SR)* estéril y agitar el envase para asegurar que la superficie interna se moje completamente. Filtrar el contenido del envase a través de un filtro de membrana y colocar la membrana en un medio de cultivo apropiado. Los envases deben cumplir con el ensayo de esterilidad.

Piretógenos <340> - Inyectar 10 ml de la *Solución S₁* por cada kg de peso del conejo. La *Solución S₁* debe cumplir con los requisitos establecidos.

Reactividad biológica <380> - Realizar el ensayo según se indica en 380. *Ensayo de reactividad biológica in vitro.*

Acondicionamiento -

Los envases están contenidos en sobres protectores. Al separarse el envase de su sobre protector, el mismo no debe evidenciar fugas ni crecimiento de microorganismos. El sobre protector debe ser suficientemente resistente para soportar la manipulación normal.

El sobre protector debe estar sellado de tal manera que no pueda abrirse y cerrarse nuevamente sin evidenciar la rotura del mismo.

Rotulado - Debe cumplir con las normas vigentes.

Envases plásticos vacíos estériles de poli(cloruro de vinilo) plastificado para sangre humana o hemoderivados

ENSAYOS

Deberán cumplir con los ensayos para *Envases plásticos estériles para sangre humana o hemoderivados* y con los siguientes ensayos para detectar materia extraíble.

Solución de referencia - Transferir *Agua para Inyectables* a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato y calentar en autoclave a 110 °C durante 30 minutos.

Sustancias reductoras - Inmediatamente después de la preparación de la *Solución S₂*, transferir al erlenmeyer al borosilicato una cantidad correspondiente al 8 % de la capacidad nominal del envase. Simultáneamente preparar un blanco empleando un volumen igual de la *Solución de referencia* recientemente preparada en otro erlenmeyer de vidrio al borosilicato. A cada solución agregar 20,0 ml de permanganato de potasio 0,002 M y 1 ml de ácido sulfúrico diluido. Dejar reposar durante 15 minutos protegido de la luz.

A cada solución agregar 0,1 g de yoduro de potasio. Dejar reposar durante 5 minutos protegido de la luz y titular inmediatamente con tiosulfato de sodio 0,01 N, empleando 0,25 ml de almidón (SR) como indicador. La diferencia entre las dos titulaciones no debe ser mayor de 2,0 ml.

Acidez o alcalinidad - A un volumen de *Solución S₂*, equivalente al 4 % de la capacidad nominal del envase, agregarle 0,1 ml de fenoftaleína (SR). La solución permanece incolora. Agregar 0,4 ml de una solución de hidróxido de sodio 0,01 M. La

solución toma color rosado. Agregar 0,8 ml de ácido clorhídrico 0,01 M y 0,1 ml de rojo de metilo (SR 1). La solución se torna de color anaranjado rojizo o rojo.

Cloruro -

Solución de cloruro de sodio - Disolver en agua una cantidad de cloruro de sodio, equivalente a 0,824 g de ClNa, y diluir a 1 litro con el mismo solvente. Diluir 1 ml de esta solución a 100 con agua inmediatamente antes de usar (5 ppm de Cl).

Procedimiento - A 15 ml de *Solución S₂* agregar 1 ml de ácido nítrico diluido y volcar la mezcla de una sola vez en un tubo de Nessler que contenga 1 ml de nitrato de plata (SR). Luego de dejar en reposo esta solución durante 5 minutos protegido de la luz, no debe presentar una turbidez mayor que la de una solución preparada simultáneamente, mezclando 1,2 ml de *Solución de cloruro de sodio* con 13,8 ml de agua (0,4 ppm).

Amonio -

Solución alcalina de tetraiodoniercurato de potasio - Disolver 11 g de ioduro de potasio y 15 g de ioduro de mercurio (II) en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Mezclar extemporáneamente 1 volumen de esta solución y 1 volumen de solución de hidróxido de sodio de 250 g/l.

Solución de amonio - Disolver en agua una cantidad de cloruro de amonio, equivalente a 741 mg de NH₄Cl, y diluir a 1 litro con el mismo solvente. Diluir 1 ml de esta solución a 100 con agua. Tomar 2 volúmenes de la solución anterior y diluir a 5 volúmenes con agua inmediatamente antes de usar (1 ppm de NH₄).

Solución diluida de hidróxido de sodio - Disolver 8,5 g de hidróxido de sodio en agua y diluir a 100 ml con agua.

Procedimiento - Diluir 5 ml de *Solución S₂* a 14 ml con agua, alcalinizar si es necesario con *Solución diluida de hidróxido de sodio* y diluir a 15 ml con agua. Agregar 0,3 ml de *Solución alcalina de tetraiodomercurato de potasio*. Después de 5 minutos, el color amarillo no debe ser más intenso que el producido por una solución obtenida mezclando 10 ml de *Solución de amonio* con 5 ml de agua y 0,3 ml de *Solución alcalina de tetraiodomercurato de potasio*. (2 ppm).

Residuo por evaporación - Evaporar a sequedad 100 ml de *Solución S₂* en un vaso de precipitados de vidrio al borosilicato, previamente calentada a 105 °C. Evaporar a sequedad, en las mismas condiciones 100 ml de la *Solución de referencia*. Secar hasta peso constante entre 100 y 105 °C. El residuo de la *Solución S₂* no debe pesar más de 3 mg, comparado con la *Solución de referencia*.

Absorbancia - Determinar la absorbancia de la *Solución S₂* a longitudes de onda entre 230 a 360 nm, empleando la *Solución de referencia* como blanco. A longitudes de onda entre 230 y 250 nm, la absorbancia no debe ser mayor de 0,30. A longitudes de onda entre 251 y 360 nm, la absorbancia no debe ser mayor de 0,10.

Ftalato de bis(2-etilhexilo) extraíble -

Solvente de extracción - Emplear alcohol diluido con agua con una densidad relativa entre 0,9389 y 0,9395 (ver 160. *Determinación de la densidad relativa*).

Solución madre del estándar - Disolver 100 mg de ftalato de bis(2-etilhexilo) en *Solvente de extracción* y diluir a 100,0 ml con el mismo solvente.

Soluciones estándar - Transferir 20,0; 10,0; 5,0; 2,0 y 1,0 ml de *Solución madre del estándar* a sendos matraces aforados de 100 ml y diluir a volumen con *Solvente de extracción* para obtener las *Soluciones estándar A, B, C, D y E*, respectivamente.

Determinar las absorbancias; con un espectrofotómetro apropiado, de las *Soluciones estándar* a la longitud de 272 nm, empleando *Solvente de extracción* como blanco. Trazar una recta de absorbancia en función de la concentración de ftalato de bis(2-etilhexilo).

Procedimiento de extracción - Mediante el empleo del adaptador correspondiente, llenar el envase vacío con un volumen de *Solvente de extracción* previamente calentado a 37 °C, igual a la mitad del volumen nominal. Expulsar el aire completamente del envase y sellar el tubo de salida. Sumergir el envase lleno en posición horizontal en un baño de agua a 37 ± 1 °C durante 60 ± 1 minuto sin agitar. Retirar el envase del baño de agua, invertirlo suavemente 10 veces y transferir el contenido a un matraz. Inmediatamente medir la absorbancia a 272 nm, empleando *Solvente de extracción* como blanco.

Determinar la concentración de ftalato de bis(2-etilhexilo), en mg por cada 100 ml de extracto, a partir de la recta de calibración.

La concentración no debe exceder:

- 10 mg por cada 100 ml para envases cuyo volumen nominal sea mayor o igual de 300 ml, pero menor de 500 ml;

- 13 mg por cada 100 ml para envases cuyo volumen nominal sea mayor de 150 ml, pero menor de 300 ml;

- 14 mg por cada 100 ml para envases cuyo volumen nominal sea menor o igual 150 ml.

Acondicionamiento y rotulado - Ver *Envases plásticos estériles para sangre humana o hemoderivados*.

Envases plásticos estériles de poli(cloruro de vinilo) plastificado para sangre humana que contienen solución, anticoagulante.

Los envases plásticos estériles de poli(cloruro de vinilo) para sangre humana que contienen una solución anticoagulante o soluciones conservadoras deberán cumplir con las monografías correspondientes. Estos envases se emplean para la recolección, almacenamiento y administración de sangre. Antes de ser llenados deberán cumplir con la descripción y características dadas en *Envases plásticos vacíos estériles de poli(cloruro de vinilo) plastificado para sangre humana o hemoderivados*.

A menos que se especifique de otro modo en *Envases plásticos estériles para sangre humana o hemoderivados*, la naturaleza y composición de los materiales de los envases deben cumplir con los requisitos para *Poli(cloruro de vinilo) plastificado para envases destinados a sangre humana o hemoderivados* y para *envases destinados a soluciones acuosas para perfusión intravenosa*.

ENSAYOS

Los envases deben cumplir con los ensayos para *Envases plásticos estériles para sangre humana o hemoderivados* y con los siguientes ensayos para medir el volumen de solución anticoagulante y para detectar materia extraíble.

Volumen de solución anticoagulante - Transferir completamente el contenido del envase a una probeta. El volumen no debe diferir en más de $\pm 10\%$ del volumen declarado.

Absorbancia - Determinar la absorbancia de la solución anticoagulante, extraída del envase, entre 250 y 350 nm, empleando como blanco una solución anticoagulante de la misma composición que no ha estado en contacto con el material plástico. La absorbancia, a la longitud de 280 nm, no debe ser mayor de 0,5.

Ftalato de bis(2-etilhexilo) extraíble - Retirar cuidadosamente la solución anticoagulante por medio del tubo de transferencia empleando un embudo adaptado a dicho tubo, llenar completamente el envase con agua, dejar en contacto durante 1 minuto, y presionar suavemente el envase. Después vaciarlo completamente y repetir el lavado. El envase vacío y lavado debe cumplir con el ensayo *Ftalato de bis(2-etilhexilo)* extraíble descrito en *Envases plásticos vacíos estériles de poli(cloruro de vinilo) para sangre humana o hemoderivados*.

Acondicionamiento y rotulado - Ver *Envases plásticos estériles para sangre humana o hemoderivados*.

Envases plásticos para soluciones acuosas para perfusión intravenosa

Los envases plásticos destinados a soluciones acuosas para perfusión intravenosa deben cumplir con los siguientes ensayos.

ENSAYOS

Solución S - Llenar un envase hasta su capacidad nominal con agua y taponarlo. Colocar el envase en un autoclave a una temperatura de 121 °C, durante 30 minutos. Si el calentamiento a 121 °C produce el deterioro del envase, calentar a 100 °C durante 2 horas. Emplear la solución, dentro de las 4 horas de preparada.

Blanco - Preparar un blanco calentando agua en un erlenmeyer de vidrio al borosilicato tapado, a la temperatura y por el tiempo empleado para la preparación de la *Solución S*.

Aspecto de la solución S - Debe ser transparente e incolora.

Acidez o alcalinidad - A un volumen de *Solución S* correspondiente al 4 % de la capacidad nominal del envase agregar 0,1 ml de fenoltaleína (SR). La solución debe ser incolora. Agregar 0,4 ml de hidróxido de sodio 0,01 M. La solución debe tomar una coloración rosa. Agregar 0,8 ml de ácido clorhídrico 0,01 M y 0,1 ml de rojo de metilo (SR 1). La solución debe ser de color anaranjado rojizo o rojo.

Absorbancia - Determinar la absorbancia de la *Solución S* entre 230 y 360 nm, no debe ser mayor de 0,20.

Sustancias reductoras - A 20,0 ml de *Solución S* agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido y 20,0 ml de solución de permanganato de potasio 0,002 M. Calentar a ebullición durante 3 minutos y enfriar inmediatamente. Agregar 1 g de yoduro de potasio y titular inmediatamente con tiosulfato de sodio 0,01 N, empleando 0,25 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. La diferencia entre los volúmenes de titulación no debe ser mayor de 1,5 ml.

Transparencia -

Solución de sulfato de hidracina - Disolver 1,0 g de sulfato de hidracina en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Dejar reposar durante 4 a 6 horas.

Solución de hexametilentetramina - Transferir 2,5 g de hexametilentetramina a un matraz de 100 ml con tapón esmerilado. Agregar 25 ml de agua y disolver.

Suspensión opalescente primaria - Agregar a la *Solución de hexametilentetramina* contenida en el matraz, 25 ml de *Solución de sulfato de hidracina*. Mezclar y dejar reposar durante 24 horas. Esta

suspensión es estable durante 2 meses cuando se la almacena en envases de vidrio de superficies internas lisas. La suspensión no debe adherirse y debe mezclarse cuidadosamente antes de ser empleada.

Procedimiento - Llenar el envase empleado anteriormente para la preparación de la *Solución S*, con un volumen de *Suspensión opalescente primaria*, igual a la capacidad nominal del envase, diluida 1 en 200 para un envase de polietileno o polipropileno y 1 en 400 para otros tipos de envases. La opalescencia de la suspensión debe ser perceptible cuando se observa a través del envase, en comparación con un envase de similares características lleno en las mismas condiciones pero con agua.

Acondicionamiento - El envase deberá ser acondicionado en un sobre protector.

Rotulado - Debe cumplir con las normas vigentes.

435. ENVASES PARA PRODUCTOS MÉDICOS ESTÉRILES

En este capítulo se describen los requisitos y métodos de ensayos que deben reunir los materiales y sistemas de envases para ser utilizados como empaque primario en productos médicos que serán sometidos a esterilización terminal y destinados a mantener la esterilidad del producto.

Los materiales empleados para envases de productos médicos se clasifican en:

Materiales porosos: papel en bobinas, resmas, bolsas o componentes de bolsas mixtas termosellables, papel con recubrimiento adhesivo para paquetes termosellables.

Materiales no porosos: telas no tejidas de poliolefinas con o sin recubrimiento adhesivo para bolsas mixtas, film de polietileno, film de polipropileno orientado, laminados de poliolefinas y poliéster, laminas de PET (polietilentereftalato) y PVC para termoformar.

Las materias primas utilizadas en los materiales de embalaje pueden ser vírgenes o recicladas siempre que cumplan con los ensayos descriptos y se conozca su trazabilidad.

Los adhesivos utilizados no deben mostrar reacción, contaminar, transferirse o afectar al producto envasado, antes y después de la esterilización. No deben contener componentes tóxicos en cantidades suficientes como para causar daño a la salud.

La composición química y los ensayos de identificación y caracterización de los polímeros plásticos están descriptos en 420. *Envases primarios de plástico.*

Características generales

El envase del producto médico estéril debe ser tal que:

- Sea barrera microbiana.
- Sea barrera mecánica.
- No presente interacción con el producto médico que contiene.
- Adecuado para el método de esterilización aplicado.

A continuación se describen los ensayos para materiales porosos y no porosos que permiten el cumplimiento de las características generales.

Además se consideran los ensayos vinculados a la funcionalidad del envasado final conteniendo el producto médico estéril y el ensayo de envejecimiento acelerado para determinar la vida útil del envase.

ENSAYOS PARA MATERIALES

Determinación del gramaje

El gramaje es la masa por unidad de área de papel determinada por el método de ensayo normalizado. Se expresa en gramos por metro cuadrado (g.m^2).

La determinación del gramaje es aplicable a papel, papel con recubrimiento adhesivo y tela no tejida con y sin recubrimiento adhesivo.

La masa promedio de un metro cuadrado de papel acondicionado debe estar entre $\pm 5\%$ del valor nominal declarado por el fabricante.

La masa promedio de un metro cuadrado de papel con adhesivo debe estar entre $\pm 7,5\%$ del valor nominal declarado por el fabricante.

La masa promedio para tela no tejida sin recubrimiento adhesivo debe estar entre $\pm 7\%$ del valor nominal declarado por el fabricante.

La masa promedio para tela no tejida con recubrimiento adhesivo debe estar entre $\pm 15\%$ del valor nominal declarado por el fabricante.

Aparatos -

Dispositivo de corte: el dispositivo de corte deberá ser capaz de cortar repetidamente probetas cuya área se encuentre en un entorno de $\pm 1\%$ de un área conocida. Esto debe ser controlado frecuentemente por medición y siempre que se logre la exactitud mencionada anteriormente, el área promedio obtenida en estos controles debe ser utilizada para el cálculo del gramaje. Con ciertos papeles se encontrará, después de llevar a cabo esta determinación de área, que las probetas no pueden ser cortadas con la precisión anteriormente definida; en tales casos, el área de cada probeta deberá ser determinada individualmente.

Balanza: La balanza deberá ser lo suficientemente exacta, en el rango de utilización, para pesar dentro del $0,5\%$ de la masa real. Deberá ser lo suficientemente sensible como para detectar un cambio de $\pm 0,2\%$ de la masa a ser determinada y, si la balanza es del tipo de lectura directa, deberá estar graduada de manera tal que se puedan tomar lecturas con ese grado de precisión.

Se puede usar balanzas especiales para la determinación de gramaje, diseñadas para pesar probetas de un tamaño determinado e indicar directamente su gramaje, si se cumplen totalmente las condiciones antes detalladas y el área de cada probeta no es menor que 500 cm^2 y no mayor que 1.000 cm^2 .

Mientras está en uso, la balanza deberá ser protegida de las corrientes de aire.

Muestreo -

La selección de unidades y la toma de ejemplares de ensayo deberá ser lo más representativo posible. El número de ejemplares de ensayo empleado (por lo menos cinco) deberá ser suficiente para por lo menos 20 probetas.

Preparación de las muestras -

Las muestras deberán acondicionarse a una atmósfera de 23 ± 1 °C y 50 ± 2 % humedad relativa por el tiempo requerido para obtener estas condiciones. Se considera que se ha alcanzado el equilibrio en temperatura y humedad cuando dos pesadas consecutivas de la muestra, efectuadas en un intervalo de no menos de una hora no difieran en más de 0,25 % de la masa total.

Procedimiento -

Para la determinación de gramaje se preparan y se pesan las probetas en las mismas condiciones atmosféricas del acondicionamiento. Utilizando el *Dispositivo de corte*, se corta, de por lo menos 5 ejemplares de ensayo, un mínimo de 20 probetas; si es posible el mismo número de probetas de cada ejemplar de ensayo.

Siempre que sea posible cada probeta deberá tener un área de por lo menos 500 cm² y no más de 1.000 cm²; si es necesario, puede estar compuesta de varios trozos más pequeños.

Se determina el área de las probetas por cálculo a partir de las medidas tomadas, redondeando a 0,5 mm.

Se pesa cada probeta y se expresa las masas con tres cifras significativas.

Se calcula el gramaje g , en gramos por metro cuadrado, de cada probeta, por la fórmula siguiente:

$$g = 10.000(m/A)$$

en la cual m es la masa de la probeta, en gramos, y A es el área de la probeta, en cm².

Alternativamente se calcula el gramaje por la fórmula siguiente:

$$g = 10.000(m_{1/2}/\bar{A})$$

en la cual $m_{1/2}$ es la masa promedio de las probetas, en gramos, y \bar{A} es el área promedio de las probetas, en cm².

Si se ha usado una balanza diseñada para pesar probetas de un tamaño determinado, se utiliza la siguiente fórmula:

$$g = g_1(A_1/A)$$

en la cual g_1 es el gramaje indicado de la probeta, en gramos por metro cuadrado, A_1 es el área de la probeta para la cual está calibrada la balanza, en cm², A es el área de la probeta pesada, en cm².

Se calcula el promedio de los resultados y la desviación estándar y se expresan con tres cifras significativas.

Determinación del pH

La determinación del pH (ver 250. *Determinación del pH*) es aplicable a papel y papel con recubrimiento adhesivo.

El pH de un extracto acuoso del papel debe estar comprendido entre 5 y 8.

Principio -

Se extrae una muestra de 2 gramos de material durante 1 hora con 100 ml de agua destilada fría e hirviendo y se mide el pH del extracto.

Reactivos -

Agua destilada o desionizada. La conductividad no debe exceder 0,1 mS/m después de hervir y enfriarse.

Soluciones reguladoras patrón, con valor de pH tal como 4; 6,9 y 9,2.

Muestreo -

Lo selección de unidades y la toma de muestra deberá ser lo más representativo posible.

Preparación de la muestra -

Se corta o rasga la muestra en trozos aproximados de 5 mm × 5 mm, porciones que no hayan sido tocadas por manos descubiertas y asegurándose que las muestras se coloquen solo sobre superficies limpias.

Se mezclan los trozos completamente. Las muestras preparadas se guardan en recipientes limpios y tapados.

Preparación del extracto acuoso: se pesan $2 \pm 0,1$ g, en base a la sustancia seca, de muestra para realizar el *Extracto en caliente* y la misma cantidad para el *Extracto en frío*.

Extracción en caliente: se colocan 100 ml de agua destilada en un frasco con condensador de reflujo y se calienta hasta la temperatura de ebullición. Se desensambla el condensador y el agua casi hirviendo se trasvasa a otro frasco para condensador de reflujo que contiene los trozos de muestra. Se adapta el condensador y se hierve durante 1 hora a fuego moderado. Se permite el enfriamiento rápido hasta temperatura entre 20 y 25 °C con el condensador colocado. Se espera la decantación de las fibras y se trasvasa el extracto sobrenadante a un vaso pequeño. La muestra se realiza por duplicado.

Extracción en frío: se colocan 100 ml de agua destilada en un frasco esmerilado con tapón de vidrio y se agregan los trozos de la muestra. Se tapa el frasco y se deja reposar durante 1 hora entre 20 y 25 °C, agitando por lo menos una vez durante

este tiempo. Se espera la decantación de las fibras y se trasvasa el extracto sobrenadante a un vaso pequeño. La muestra se realiza por duplicado.

Medición del pH -

Se realiza la medición de pH de los extractivos realizados en frío y en caliente. Se expresa el pH como el promedio de las dos determinaciones redondeando a 0,1 unidad. Los resultados individuales no deben diferir en más de 0,2 unidades. Si esto ocurre se repiten las determinaciones y se informa el promedio y rango de todas las medidas.

Determinación del color

La determinación de color es aplicable a papel, papel con recubrimiento adhesivo, tela no tejida con o sin recubrimiento.

El color no se debe lixiviar cuando se realice el extracto acuoso en frío y en caliente de igual forma que para la determinación de pH.

Determinación de cloruros y sulfatos

La determinación de cloruros y sulfatos es aplicable a papel y papel con recubrimiento adhesivo.

El contenido de cloruros como cloruro de sodio no debe exceder el 0,05 %.

El contenido de sulfato como sulfato de sodio no debe exceder el 0,25 %.

Preparación de la muestra -

Se pesan entre 2 y 5 g de muestra, se corta en trozos aproximados de 5 mm × 5 mm.

Procedimiento -

Se transfiere la muestra a un desintegrador y se agregan 250 ± 2 ml de agua destilada a 23 ± 2 °C. Se procede a la acción del desintegrador durante 2 horas.

Se retira una alícuota de la suspensión con una jeringa con filtro de 0,2 µm para prevenir el arrastre de fibras. Es esencial que la alícuota esté libre de material suspendido.

Sobre la alícuota se determina cloruros como ion Cloruro y sulfatos como ion sulfato por cromatografía iónica.

Determinación de la fluorescencia

La determinación de la fluorescencia es aplicable a papel y papel con recubrimiento adhesivo.

Aparatos -

Fuente de radiación ultravioleta, que produzca un pico a 366 nm. La salida luminosa de la lámpara debe ser tal que se obtenga la iluminación requerida de la superficie de la probeta acondicionada.

Preparación de la muestra -

Se corta un trozo del papel en ensayo de 100 mm × 10 mm y se acondiciona de igual forma que para el ensayo de *Determinación del gramaje* a 23 ± 1 °C y 50 ± 2 % de humedad relativa por el tiempo requerido.

Procedimiento -

Se enciende la lámpara y se deja hasta que desarrolle su rendimiento completo. Se ajusta la distancia entre la lámpara y la superficie de la probeta de ensayo de manera tal que la radiación ultravioleta incidente sobre la superficie de la probeta de ensayo sea 300 ± 20 µW/cm².

Se observa el aspecto general de la probeta y la presencia de manchas fluorescentes.

El papel con o sin recubrimiento adhesivo no debe tener más de cinco focos de fluorescencia, cada uno con un eje mayor a 1 mm/dm².

Determinación de la resistencia al estallido en húmedo y en seco

La resistencia al estallido es la máxima presión uniformemente distribuida, aplicada en ángulo recto a su superficie, que una hoja de papel puede soportar bajo las condiciones de ensayo.

La determinación de la resistencia al estallido en húmedo es aplicable a papel y papel con recubrimiento adhesivo.

En seco es aplicable además a tela no tejida con o sin recubrimiento adhesivo.

Para papel, la resistencia en seco no debe ser menor a 230 kPa y en húmedo 35 kPa, empleando un tiempo de inmersión de 10 minutos.

Para papel para la fabricación de paquetes para uso médico que deben ser esterilizados con óxido de etileno o radiación y papel con recubrimiento adhesivo: en seco 200 kPa y en húmedo 35 kPa, con tiempo de inmersión de 10 minutos.

Si será sometido a radiación no es aplicable la resistencia en húmedo.

Principio -

El ensayo consiste en colocar una probeta de ensayo sobre un diafragma circular elástico, se la amordaza rígidamente en el perímetro, pero dejándola curvarse sobre el diafragma. Se bombea fluido hidráulico a velocidad constante, expandiendo el diafragma hasta que la hoja se rompa. La resistencia al estallido de la probeta es el valor máximo de la presión hidráulica aplicada.

Aparatos -

Diafragma: circular, de material elástico, amordazado firmemente con su superficie superior aproximadamente 3,5 mm por debajo del plano superior del elemento de fijación inferior. El material y la construcción del diafragma deberán

ser tales que la presión requerida para expandir al diafragma 9 mm por sobre la superficie superior del elemento de fijación inferior sea de 30 ± 10 kPa.

Sistema de amordazado: para sostener la probeta, firme e uniformemente entre dos superficies anulares planas, que deberán ser suaves (pero no pulidas) y acanaladas. Se debe asegurar que la presión de amordazado esté distribuida en forma pareja. La presión de amordazado deberá ser suficiente para evitar el deslizamiento durante el ensayo, pero no demasiado grande como para dañar la probeta. Normalmente no debe ser menor a 430 kPa.

Sistema hidráulico: para aplicar una presión hidráulica controlada en el lado inferior del diafragma hasta que se produzca el estallido de la probeta. No deberá haber burbujas de aire en el sistema hidráulico ni en el líquido utilizado. La velocidad de bombeo deberá ser de 95 ± 15 ml por min.

Manómetro: tipo Bourdon con indicador de lectura máxima de capacidad adecuada o un transductor de presión calibrado y un registrador de presión con una precisión de 0,2 %.

Preparación de las muestras -

Las probetas de ensayo deberán tener un área mayor que la de las mordazas del aparato y ninguna parte cubierta por las mordazas en un ensayo podrá ser incluida en áreas de ensayo subsiguientes. Las probetas no deben incluir áreas que contengan marcas de agua, pliegues, o daño visible. Deben ser acondicionadas a 23 ± 1 °C y 50 ± 2 % de humedad relativa durante 24 horas.

Procedimiento -

Los ensayos se deberán realizar en la atmósfera normalizada, usada para acondicionar las probetas.

Se levanta la mordaza y se coloca la probeta en una posición que permita usar toda la superficie de amordazado. Luego se aplica la mordaza firmemente sobre la probeta aplicando la presión especificada. Se aplica la presión hidráulica a la velocidad establecida hasta que se produzca el estallido de la probeta. Se lee y registra la presión indicada en el manómetro con tres cifras significativas. Se deberán descartar las lecturas cuando haya ocurrido deslizamiento apreciable de la probeta o cuando el tipo de falla indica que la probeta fue dañada por una presión excesiva o por la rotación de las mordazas durante el amordazamiento.

Si la lectura fuera menor a 70 kPa, se ensaya un número mínimo de hojas simultáneamente para obtener una lectura superior a este valor. Las hojas deben estar dispuestas con uno de los lados (por ejemplo, lado fieltro) en contacto con el otro lado

(por ejemplo, lado tela) y las direcciones de máquina paralelas.

Resultados -

La resistencia al estallido P expresada en kPa, está dada por la fórmula siguiente:

$$P = B/N$$

en la cual B es el valor de la presión hidráulica máxima en kPa, N es el número de hojas ensayadas simultáneamente.

Para la determinación en húmedo se preparan las muestras como en seco, luego se sumergen 10 minutos en agua siguiendo el mismo procedimiento que para tracción en húmedo y luego se realiza la determinación de la resistencia al estallido.

Determinación de la resistencia a la tracción en húmedo y en seco

La resistencia a la tracción es la máxima fuerza de tracción por unidad de ancho que puede soportar el papel antes de romperse, bajo las condiciones definidas de ensayo.

La determinación de la resistencia a la tracción en húmedo y en seco es aplicable a papel, papel con recubrimiento adhesivo y tela no tejida con y sin recubrimiento.

Para papel, la resistencia a la tracción en seco no debe ser menor a 4,40 kN por metro en dirección de máquina y no menor a 2,20 kN por metro en dirección cruzada. En húmedo no debe ser menor a 0,90 kN por metro en dirección de máquina y 0,45 kN por metro en dirección cruzada.

Para papel para la fabricación de paquetes para uso médico que deben ser esterilizados con óxido de etileno o radiación y papel con recubrimiento adhesivo: la resistencia a la tracción en seco debe ser no menor a 4,0 kN por metro en dirección de máquina y 2,0 kN por metro en dirección cruzada. En húmedo, 0,80 kN por metro en dirección de máquina y 0,40 kN por metro en dirección cruzada.

Si el proceso al cual será sometido es radiación no se aplica el ensayo en húmedo.

Para tela no tejida sin o con recubrimiento solo se determina en seco y no debe ser menor a 5,0 kN por metro en dirección de máquina y cruzada.

Principio -

El ensayo consiste en estirar hasta su ruptura una probeta de dimensiones normalizadas a una velocidad de aplicación de carga constante, usando un aparato de ensayo de tracción que mida la fuerza y que registre la tracción máxima.

Aparatos -

Equipo para ensayo de tracción: diseñado para estirar una probeta de dimensiones patrones a una velocidad de aplicación de carga constante y para medir la fuerza de tracción. La velocidad de carga deberá ser ajustada de modo de lograr la ruptura de la probeta en 20 ± 5 segundos.

Equipo para medición de fuerza de tracción: con una precisión de ± 1 %.

Mordazas: para sostener las probetas.

Preparación de las muestras para la determinación en seco -

Las muestras se deberán acondicionar a 23 ± 1 °C y 50 ± 2 % de humedad relativa y las probetas se prepararán y ensayarán en las mismas condiciones.

Se preparan las probetas a partir de ejemplares tomados al azar. No deberán ser incluidas en el área de ensayo arrugas, grietas, o marcas de agua y las probetas no deberán incluir partes de la muestra comprendidas a 15 mm del borde de cualquier hoja o bobina.

Las probetas se cortan una por vez, se corta un número suficiente de probetas como para asegurar 10 resultados válidos obtenidos en cada dirección del papel, es decir en dirección de máquina y en dirección transversal. Los bordes largos de la probeta deberán ser perfectamente rectos, paralelos con una tolerancia de $\pm 0,1$ mm y sin rebordes.

Las dimensiones de las probetas deberán ser las siguientes: el ancho deberá ser 15 mm, 25 mm ó 50 mm, con tolerancia de $\pm 0,1$ mm. El largo deberá ser tal, que la probeta pueda ser colocada en las mordazas sin tocar con las manos la sección que va entre las mismas.

Preparación de las muestras para la determinación en húmedo -

Se preparan las muestras y las probetas igual que para la determinación en seco.

Luego se forma un anillo con la probeta, con la porción central hacia arriba y se sumerge la parte inferior del anillo en agua destilada a 23 ± 2 °C. Se mojan las probetas a saturación, normalmente esto significa un tiempo de inmersión de 1 hora. Luego de la inmersión se sacan las probetas del recipiente, levemente embebidos en agua, se les quita el agua en exceso y se las ensaya de igual forma que en seco.

Procedimiento -

Se ajusta el aparato de acuerdo a las recomendaciones del fabricante.

Se coloca la probeta en las mordazas, se alinea y ajusta la probeta. Se comienza el ensayo, continuando hasta que se rompa la probeta. Se

registra la máxima fuerza de tracción ejercida y el tiempo en que se llegó a la ruptura, redondeando a 1 segundo.

Se ensayan por lo menos diez probetas, cortadas en cada una de las direcciones del papel. Se registran todas las lecturas, excepto las de aquellas probetas que se rompan a menos de 10 mm de las mordazas.

Resultados -

Se calculan y expresan separadamente los resultados obtenidos en cada una de las direcciones del papel. Se calcula la resistencia a la tracción de las probetas, expresada en kN por metro a partir de la fórmula siguiente:

$$S = F/w$$

en la cual S es la fuerza de tracción en kN por metro, F es la fuerza de tracción promedio, en N, y w es el ancho de la probeta en milímetros.

El resultado se expresa con tres cifras significativas.

Determinación de la resistencia al desgarro o rasgado interno

La resistencia al desgarro es la fuerza necesaria para continuar el desgarro comenzado por un corte inicial, en una única hoja de papel. Si el corte se encuentra en dirección de máquina, o si se encuentra transversal a la dirección de máquina, el resultado se expresa indicando la condición.

La determinación de la resistencia al desgarro o rasgado interno es aplicable a papel, papel con recubrimiento adhesivo, tela no tejida con y sin recubrimiento.

Para papel, la resistencia al desgarro no debe ser menor a 550 mN en dirección de máquina y cruzada.

Para papel para la fabricación de paquetes para uso médico que deben ser esterilizados por óxido de etileno o radiación con y sin recubrimiento, debe ser no menor a 300 mN en ambas direcciones.

Tela no tejida con y sin recubrimiento, no menor a 1.000 mN en ambas direcciones.

Principio -

Una probeta conformada por hojas superpuestas, generalmente cuatro, es rasgada a una distancia fijada, usando un péndulo que aplica la fuerza de desgarro moviéndose en un plano perpendicular al plano inicial de la probeta.

El trabajo realizado al desgarrar la probeta se mide por la pérdida de energía potencial de péndulo. La fuerza de desgarro promedio es indicada por una escala ubicada en el péndulo, o por un indicador digital.

La resistencia al desgarro del papel se determina a partir de la fuerza promedio y de la cantidad de hojas que componen la probeta.

Aparatos -

Se utiliza un aparato para determinar la resistencia al desgarro, tipo Elmendorf, de capacidad adecuada para cumplir los requerimientos de ensayo, y masas crecientes o pendientes intercambiables para aumentar la fuerza en desgarro del aparato.

Medios para preparar la probeta, como por ejemplo, una guillotina.

Muestreo -

La selección de unidades y la toma de muestras deberá ser lo más representativa posible. Las muestras deben acondicionarse a una atmósfera de 23 ± 1 °C y 50 ± 2 % de humedad relativa.

Preparación de las muestras -

Se preparan las probetas en la misma atmósfera de acondicionamiento usada para las muestras. No deberá haber arrugas, pliegues u otros defectos visibles en el área de la que se cortará la probeta y ésta no deberá incluir partes de la muestra que se encuentren a menos de 15 mm del borde de la hoja o bobina.

Si en la probeta se encuentran marcas de agua, este hecho deberá ser establecido en el informe.

Se identifican las dos caras del papel. Con la misma cara hacia arriba, se corta de cada ejemplar de ensayo cuatro hojas rectangulares del mismo tamaño, entre 50 ± 2 mm y 76 ± 2 mm de ancho, con los bordes paralelos a la dirección de ensayo; y de un largo tal que después que se haya hecho el corte inicial, ya sea como parte de la preparación de la probeta o con la cuchilla integrada, el largo sin desgarrar sea $43,0 \pm 0,5$ mm.

Se agrupa las hojas cortadas en conjunto de cuatro para formar la probeta.

Alternativamente se agrupan cuatro ejemplares de ensayo con sus direcciones de máquina paralelas y con las caras colocadas de la misma forma, y se corta la probeta como se indica más arriba. El largo no desgarrado será el especificado más arriba.

Los bordes de la hoja que conformen la probeta deberán estar limpios.

Se corta una cantidad de probetas suficiente como para realizar un mínimo de diez ensayos válidos en cada dirección requerida del papel.

Procedimiento -

Se realizan los ensayos en la misma atmósfera de acondicionamiento utilizada para acondicionar las muestras.

Se ajusta y controla el equipo. Se medirán algunos pocos ensayos para seleccionar el péndulo

apropiado, o la combinación de péndulo-masa creciente a ser usadas. Es conveniente realizar el ajuste de modo que el promedio de las lecturas esté en un rango entre el 20 % y el 80 % del total de la escala de lectura.

Se realiza el ensayo en dirección de máquina y en dirección transversal.

Resultados -

Por cada dirección del papel ensayada se calcula el promedio de las lecturas de escala, y a partir de las siguientes fórmulas, la resistencia al desgarro:

$$F = F_1 p / n$$

en la cual F es la resistencia al desgarro en mN, F_1 es el promedio de las lecturas de escala en mN, p es la cantidad de hojas desgarradas simultáneamente, para la cual ha sido calibrada la escala del péndulo para dar una lectura directa de la resistencia al desgarro en mN y n es la cantidad de hojas desgarradas simultáneamente.

La dirección de desgarro puede desviarse de la dirección del corte inicial. Si la desviación promedio excede 10 mm en una o dos de los diez ensayos, se deberá descartar estos resultados y realizar ensayos posteriores para llevar el número de resultados satisfactorios a los diez requeridos. Si la desviación excede 10 mm en más de dos probetas, se deberá incluir estos resultados y registrar este hecho en el informe.

Si en lugar de desgarrarse de manera normal, el papel de cualquier probeta se delamina, presentando una banda ancha de papel delaminado, se debe aplicar el criterio del párrafo anterior a la línea central de la banda desgarrada a través de las probetas.

Si la resistencia al desgarro del papel, o el péndulo, o la combinación péndulo-masa creciente disponible no permite obtener resultados satisfactorios a partir de probetas hechas con cuatro hojas, se deberá utilizar más hojas y aclararlo en el informe.

Determinación de la repelencia al agua

La determinación de la repelencia al agua es aplicable a papel y papel con recubrimiento adhesivo.

Aparatos -

Fuente de luz ultravioleta, con los mismos requisitos que para determinación de fluorescencia.

Desecador.

Cronómetro.

Dosificador de polvo, con un extremo cerrado y el otro con tamiz con un tamaño de apertura nominal entre 0,125 mm y 0,150 mm.

Placa de petri, de aproximadamente 200 mm × 150 mm × 15 mm.

Termómetro de escala adecuada.

Reactivos -

Polvo indicador seco preparado según se describe a continuación: se muelen 20 g de sacarosa en un mortero y se pasa a través de un tamiz con un tamaño de apertura nominal entre 0,063 mm y 0,075 mm. Se seca la sacarosa tamizada en un desecador sobre silicagel o en una estufa regulada entre 105 °C y 110 °C. Se mezclan 10 g de sacarosa seca con 10 mg de fluoresceína sódica seca y se pasa la mezcla cinco veces por el tamiz de apertura nominal entre 0,063 mm y 0,075 mm. Finalmente, se transfiere el polvo indicador seco al dosificador de polvo. El polvo indicador seco en el dosificador se almacena en un desecador o en una estufa entre 105 °C y 110 °C, hasta su uso.

Procedimiento -

Se toman diez porciones de papel a ensayar, cada una de 60 mm × 60 mm, acondicionado a 23 ± 1 °C y 50 ± 2 % de humedad relativa.

Se separan las muestras en dos grupos de cinco, un grupo sobre una cara y el otro sobre la otra. A cada muestra se le hacen dos dobleces de 10 mm de altura y en ángulo recto a lo largo de los dos lados.

Se llena la placa de petri con agua purificada a la temperatura de acondicionamiento hasta una profundidad de 10 mm. Se enciende la lámpara ultravioleta y se deja estabilizar. Se ajusta la distancia de la lámpara de forma tal que la radiación sobre la superficie del agua sea de 300 ± 20 μ W por cm^2 .

Se esparce el polvo indicador sobre la superficie de la muestra hasta formar una película fina. Se deja flotar la muestra debajo de la lámpara ultravioleta y se observa el tiempo para que aparezca la fluorescencia generalizada. Se repite el procedimiento con las nueve porciones restantes.

La repelencia al agua del papel está influenciada considerablemente por la temperatura del agua, la cual se debe mantener entre los límites especificados, 23 ± 1 °C.

La repelencia al agua del papel y papel con recubrimiento adhesivo debe ser tal, que el tiempo de penetración no sea menor a 20 segundos.

Si el papel será de uso en esterilización por radiación no se aplica esta determinación.

Determinación del tamaño de poro

La determinación del tamaño de poro es aplicable a papel y papel con recubrimiento adhesivo.

Principio -

El método consiste en observar la presión requerida para forzar a las burbujas de aire a pasar por los intersticios (poros) de un material humedecido con un líquido o que tenga una película del mismo líquido aplicada en la parte superior de su superficie. La presión junto con la tensión superficial conocida del líquido son usadas para establecer el tamaño de los intersticios del material (poros).

Líquido de ensayo -

El líquido de ensayo debe permitir que el papel sea humedecido completamente, que tenga un bajo poder solvente de los materiales de ensayo, que no produzca hinchazón de las fibras, que tenga una tensión superficial constante, que no sea tóxico, con bajo nivel de inflamabilidad, exento de espuma y de costo moderado. Un líquido que reúne estas condiciones es el etanol.

Aparatos -

El equipo requerido para el ensayo se muestra en la *Figura 1*, y consta de las siguientes partes:

- 1) cabezal de ensayo (1) que consta de: un recipiente cilíndrico de un material apropiado (ejemplo bronce) sobre el cual la muestra "a" se pueda sujetar con un anillo o abrazadera "b" y un tornillo "c". El vaso se ajusta con un empaque de caucho sintético "d" de diámetro interno 50 mm para sellar la muestra.
- 2) Manómetro
- 3) Válvula de corte que sirve para dirigir el aire al cabezal de ensayo.
- 4) Una válvula reguladora de presión.
- 5) Una válvula de corte que dirige el aire al manómetro.
- 6) Depósito de aire de 2,5 litros de capacidad conectado a "1". Esto garantiza que la velocidad de flujo de aire, necesaria para mantener la elevación de la presión requerida, sea tal que la pérdida de aire a través del material, cuando comienza el burbujeo, no disminuya la velocidad de elevación de la presión.
- 7) Suministro de aire.

Usando el equipo representado en la *Figura 1*, se realiza el ensayo de la siguiente manera:

Se abren el suministro de aire y la válvula "3" para dirigir el aire al cabezal a través del recipiente "6" al mismo tiempo se ajusta la válvula "4" para graduar el gradiente de presión requerido. Se mantiene abierta la válvula "5" durante el ensayo. Cuando aparezcan las primeras burbujas en el

material que se está ensayando, se cierra “5” para permitir la lectura de presión en el manómetro “2”.

El equipo para la medición del tamaño de poro equivalente tendrá las siguientes características:

a) debe disponer de los medios adecuados para sujetar la muestra del material de forma que:

- esté horizontal.
- un área circular del material de 50 mm de diámetro será sometida a un incremento constante de presión por la cara inferior del material.
- que no haya fugas del líquido de ensayo.
- que la muestra no se desprenda de las abrazaderas.

b) La tasa de incremento de la presión de aire debe ser de 2,0 kPa por minuto a 2,5 kPa por minuto (220 mm a 250 mm de agua por minuto).

c) el manómetro conectado al cabezal de ensayo debe estar calibrado en kPa (o en mm de agua).

d) El manómetro debe tener un rango adecuado de medición de la presión.

[NOTA 1: las abrazaderas deben estar recubiertas con un material elástico que sea resistente al líquido de ensayo como por ejemplo caucho sintético.]

[NOTA 2: para la mayoría de los materiales se considera apropiado un manómetro que suministre una presión de hasta 6 kPa. Los equipos hasta 10 kPa se recomiendan para mediciones sobre materiales muy cerrados como por ejemplo indumentaria para áreas limpias, campos quirúrgicos.]

Preparación de las muestras -

Después de su recepción se debe manipular el material muy poco, no doblarlo, plancharlo ni someterlo a algún tratamiento diferente al acondicionamiento. Se deben cortar muestras del material de una forma adecuada para su manipulación y sujeción.

Se deben tomar las muestras de diferentes lugares del material evitando los pliegues, de forma que las muestras sean representativas de todo el material. Se recomienda cortar muestras del material de un tamaño de 75 mm × 75 mm.

A menos que se estipule lo contrario, se deben emplear diez especímenes de la muestra del material.

Procedimiento:

1) se realiza el ensayo en condiciones ambientales estandarizadas especificadas, 23 ± 1 °C y 50 ± 2 % de humedad relativa.

2) Se determina la tensión superficial del líquido de ensayo con algún

método apropiado con una precisión de 0,5 mN por metro.

3) Se sumergen aproximadamente 15 mm de la muestra dentro del líquido de ensayo en una placa de petri durante 3 minutos. Se retira la muestra con pinzas y se coloca en el cabezal de ensayo. Se vierten unos pocos ml del líquido de ensayo sobre la superficie del material en cantidad suficiente para cubrirlo completamente antes de someterlo a la presión de prueba. Se registra la temperatura del líquido de ensayo.

[NOTA: el material muy abierto se puede analizar más fácilmente si se permite que la presión del aire aumente sobre la parte posterior de la muestra antes de verter el líquido de ensayo para cubrir completamente la superficie del material.]

4) Después de aumentar la presión del aire aparecen burbujas en diferentes sitios sobre la parte superior de la superficie; se observa ésta permanentemente mientras se incrementa la presión. En el momento en que aparece la primera burbuja se registra el valor de la presión expresada en mm de columna de agua.

5) Se ensayan los demás especímenes hasta obtener el número de resultados requerido.

Resultados -

Cálculo y expresión de los resultados: se calcula el radio del poro R equivalente, en μm , de cada muestra por medio de la siguiente fórmula:

$$R = 20T/D.P.G$$

o la fórmula simplificada:

$$R = 204T/P$$

en la cual T es la tensión superficial del líquido de ensayo a la temperatura de análisis expresada en mN por metro; G es la aceleración de la gravedad en mm por s^2 ; D es la densidad del agua a la temperatura de ensayo, en mg por mm^3 y P es la presión de la burbuja, expresada en mm de agua.

Se calcula el radio promedio del poro y se expresa el resultado como diámetro del poro.

[NOTA 1: el error introducido al tomar D igual a 1 mg por mm^3 para la densidad relativa del agua a la temperatura de la atmósfera normalizada es pequeño comparado con la variabilidad de los resultados del ensayo.]

[NOTA 2: de forma similar, aunque se sabe que G varía alrededor del 0,5 % de lugar a lugar, el

error introducido al asumir un valor constante de 9.810 mm por s², es pequeño comparado con la variabilidad del ensayo.]

Desarrollo de la fórmula para el cálculo del radio del poro equivalente: para un tubo cilíndrico, la presión P expresada en Pascales, necesaria para forzar el líquido a través de él, está dada por la fórmula siguiente:

$$P = 2T\cos Q/R$$

en la cual T es la tensión superficial del líquido en N por metro; Q es ángulo de contacto en la interfase líquido-sólido-aire, expresado en grados; y R es el radio del tubo, en metros.

El ángulo de contacto es muy difícil de medir y por lo tanto se escoge un líquido que humedece completamente el material, por lo tanto el valor del $\cos Q$ sea 1 y la ecuación se convierte en la siguiente expresión:

$$P = 2T/R$$

Esta ecuación es la misma que la ecuación simplificada mencionada para la expresión del radio del poro.

La presión se mide normalmente en mm de columna de agua, debido a que se emplea un manómetro de agua o a que el manómetro ha sido calibrado en mm de columna de agua. Por lo tanto:

$$P = Pb.D.G$$

en la cual Pb es la presión equivalente a la columna de agua, en mm de columna de agua; D es la densidad del agua, en mg por mm³; G es la aceleración debida a la gravedad, en mm por s².

Para papel, el diámetro máximo equivalente al tamaño de poro no debe ser mayor a 50 micrones con un valor medio de 35 micrones.

Para papeles que se usarán para esterilización por óxido de etileno y radiación, con y sin recubrimiento adhesivo, el promedio de los diámetros de poro, debe ser menor o igual a 20 micrones y ninguno de los valores obtenidos debe ser mayor a 30 micrones.

Determinación de la permeabilidad al aire

La permeabilidad al aire está definida como el flujo medio de aire que pasa a través de una unidad de área sometida a una unidad de diferencia de presión, en una unidad de tiempo, en condiciones específicas. Utilizando el principio de medida conocido como GURLEY

La determinación de la permeabilidad al aire es aplicable a papel, papel con recubrimiento y tela no tejida con o sin recubrimiento.

Para papel no debe ser menor de 3,4 $\mu\text{m}/\text{Pa.s}$ con una presión de aire de 1,47 kPa.

Papel para ser utilizado en esterilización por óxido de etileno y radiación con y sin recubrimiento adhesivo, no debe ser menor de 0,2 $\mu\text{m}/\text{Pa.s}$ y no mayor de 6,0 $\mu\text{m}/\text{Pa.s}$

Para tela no tejida sin recubrimiento: no debe ser menor a 1 $\mu\text{m}/\text{Pa.s}$ con una presión de aire de 1,47 kPa.

Para tela no tejida con recubrimiento no debe ser menor a 0,3 $\mu\text{m}/\text{Pa.s}$ con una presión de 1,47 kPa.

Principio -

La presión de aire es ejercida por el peso de un cilindro vertical flotando en un líquido.

La probeta del material a ensayar está en contacto con el aire comprimido y el cilindro baja de manera uniforme mientras el aire pasa a través de la probeta. A partir de él se calcula la permeabilidad al aire del material de la probeta.

Aparatos -

Aparato de medida de resistencia al aire tipo GURLEY

Preparación de la muestra -

El material es acondicionado en condiciones ambientales estandarizadas especificadas, 23 ± 1 °C y 50 ± 2 % de humedad relativa.

El muestreo se realiza del modo más representativo posible

Cuando el aparato a utilizar posee las mordazas de fijación en la parte superior del cilindro interior, el tamaño de las probetas conveniente es 50 mm \times 120 mm. Para el aparato que tiene el sistema de fijación en la base, el tamaño de las probetas apropiado es 50 mm \times 50 mm.

Procedimiento -

Se ensayan cinco probetas con una cara hacia arriba y las otras cinco probetas con la otra cara hacia arriba.

El ensayo se realiza en las mismas condiciones atmosféricas que las utilizadas para el acondicionamiento de las muestras.

Se coloca el aparato sobre una superficie horizontal para que los cilindros queden verticales. El cilindro exterior debe estar lleno de aceite hasta una altura de 120 mm.

Cuando el aparato tiene la fijación en la base, se eleva el cilindro interior hasta que su borde quede sujeto por la presilla, se fija la probeta entre las mordazas, se suelta la presilla y se baja el cilindro interior hasta que flote.

Para el aparato que tiene la fijación en la parte superior, se eleva el cilindro interior con una mano, se fija la probeta con la otra mano y luego se baja el cilindro interior y se lo deja flotar en el aceite.

Se mide el tiempo en segundos que tarda el borde del cilindro exterior en enfrentar las marcas de los dos primeros intervalos consecutivos de 50 ml a partir del punto cero; o sea que se mide el tiempo necesario para el pasaje de 100 ml de aire, con la siguiente precisión:

- menor o igual a 60 segundos, se redondea a 0,2 segundos;
- entre 61 y 180 segundos, se redondea a 1 segundos;
- mayor a 180 segundos, se redondea a 5 segundos.

En el caso de papeles relativamente impermeables, la lectura puede tomarse al final del primer intervalo de 50 ml.

Para papeles muy abiertos puede cronometrarse el tiempo a mayor volumen de aire.

Resultados -

Se calcula la permeabilidad al aire con dos cifras significativas a partir de la fórmula siguiente:

$$P = 127/t$$

en la cual P es la permeabilidad al aire en, $\mu\text{m}/\text{Pa}\cdot\text{seg}$, y t es el tiempo promedio necesario para el pasaje de 100 ml de aire, en segundos. Si se utiliza un volumen distinto a 100 ml, la fórmula será:

$$P = 1,27V/t$$

en la cual V es el volumen cuyo tiempo de pasaje se cronometró, en ml, y los otros términos son los definidos anteriormente.

Si se necesita la desviación estándar, se calcula a partir de las medidas duplicadas del tiempo y se corrige utilizando la fórmula siguiente:

$$P = 127/t$$

Si la resistencia medida al aire es significativamente diferente en las dos caras y se requiere reflejarlo en el informe, se ensayarán diez muestras de cada cara.

Determinación de la absorción superficial de agua (Método de Cobb)

La determinación de la absorción superficial es aplicable a papel con y sin recubrimiento adhesivo.

La absorción superficial de agua es la masa calculada de agua, absorbida por 1 m^2 de papel, en un tiempo especificado.

La absorción superficial de cada uno de los lados del papel, papel para óxido de etileno y radiación con y sin recubrimiento, no debe ser mayor a 20 g por m^2 , empleando un tiempo de exposición de 60 segundos.

Reactivos y aparatos -

- Agua destilada o desionizada a $23 \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$.
- Papel secante con gramaje de $250 \pm 25\text{ g}$ por m^2 .
- Medidor de absorción de agua. Puede utilizarse cualquier tipo de aparato que permita:
 - a) un contacto inmediato y uniforme del agua con la parte de la probeta sujeta a ensayo.
 - b) una remoción rápida y controlada del agua no absorbida por la probeta al final del periodo de contacto.
 - c) una remoción rápida de la probeta sin riesgo de contacto con agua fuera del área de ensayo.

El aparato consiste en una base rígida con una superficie plana lisa y un cilindro de metal rígido con un diámetro interno de $112,8 \pm 0,2\text{ mm}$ (correspondiente a un área de ensayo de aproximadamente 100 cm^2) y con un medio que permita el ajuste firme a la placa base. El borde del cilindro en contacto con la probeta debe ser plano y alisado, con un espesor suficiente como para evitar que corte la probeta.

- Rodillo de metal, con una superficie lisa, de 200 mm de ancho, un diámetro de $90 \pm 10\text{ mm}$ y una masa de $10 \pm 0,5\text{ kg}$.
- Balanza con una precisión de 1 mg.
- Cronómetro graduado en segundos, capaz de realizar medidas de hasta por lo menos 30 minutos.
- Cilindro graduado, u otros medios para medir alícuotas apropiadas.

Preparación de la muestra -

Las muestras deben ser representativas y previamente acondicionadas a $23 \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$ y $50 \pm 2\%$ de humedad relativa.

Se preparan las probetas de ensayo en las mismas condiciones atmosféricas en las que se prepararon las muestras. Se debe evitar tocar el área de ensayo con las manos o los dedos. Se cortan de los ejemplares de ensayo por lo menos diez probetas de un tamaño suficiente como para exceder el diámetro del cilindro en por lo menos 10 mm, cuidando que el área de ensayo no tenga dobleces, quiebres, hendiduras u otros defectos.

Procedimiento -

El ensayo se realiza en las mismas condiciones atmosféricas en las que se acondicionaron las muestras.

Se pesa la probeta redondeando a 1 mg y se coloca con la superficie a ser ensayada hacia arriba sobre la placa base. Se coloca el cilindro con el borde alisado en contacto con la probeta y se lo ajusta lo suficientemente firme para evitar que se escape el agua entre ambos. Se vierte dentro del cilindro $100 \pm 5\text{ ml}$ de agua e inmediatamente se activa el cronómetro. A los 45 ± 1 segundos,

teniendo cuidado que el agua no entre en contacto con la superficie de la probeta fuera del área de ensayo se quita el exceso de agua. Se quita la probeta del cilindro y se coloca, con la cara de ensayo hacia arriba, sobre una hoja de papel secante previamente colocada sobre una superficie rígida plana.

Luego de 60 ± 2 segundos después de haber iniciado el ensayo, se coloca una segunda hoja de papel secante sobre la superficie de la probeta y se quita el exceso de agua, usando el rodillo de mano, con dos pasadas sin ejercer presión alguna sobre el rodillo.

Inmediatamente después del secado se dobla la probeta con el lado húmedo hacia adentro y se pesa nuevamente, de modo que el incremento en masa debido a la absorción de agua pueda ser determinado antes de que se produzca cualquier pérdida por evaporación.

Las probetas deben descartarse si el agua pasó a través de la misma, o muestra señales de pérdidas alrededor del área ajustada, o muestra exceso de agua después del secado.

Resultados -

Se calcula la absorción de agua A , expresada en gramos por metro cuadrado, con una cifra decimal para cada probeta, por la fórmula siguiente:

$$A = (m_2 - m_1)F$$

en la cual A es la absorción de agua en g por m^2 , m_1 es la masa seca en g de la probeta, m_2 es la masa húmeda en g de la probeta, F es igual a $10.000/\text{área}$ de ensayo (para aparatos normales esto es 100 cm^2).

Para cada lado ensayado se calcula la absorción de agua promedio redondeando a $0,5 \text{ g por } m^2$ y la desviación estándar.

Determinación de la impermeabilidad o ausencia de poros en film y laminados plásticos

Aparatos y reactivos -

1- esponja normal, hecha de un bloque de esponja de celulosa con unas dimensiones nominales de $110 \text{ mm} \times 75 \text{ mm} \times 32 \text{ mm}$ unida con adhesivo a prueba de agua a una placa metálica de $110 \text{ mm} \times 75 \text{ mm} \times 12 \text{ mm}$ de modo que la masa total es 800 ± 50 gramos.

2- Bandeja, no menor de 15 mm de profundidad y dimensiones mínimas de $130 \text{ mm} \times 95 \text{ mm}$.

3- Papel absorbente, blanco, filtro de absorción media o media rápida o papel de cromatografía.

4- Superficie de vidrio plano.

5- Solución acuosa de tinción, 1 g por 100 ml de rojo amaranto que contenga 0,005 % de cetrimida como agente humectante.

Preparación de las muestras -

Se toman cinco bolsas mixtas (pouch) o tramos de rollo no menor a 250 mm de largo y se remueve la capa de plástico identificando la cara externa para determinación en laminados plásticos. Se toman cinco envases flexibles plásticos para el caso de film plásticos de la misma medida.

Procedimiento -

Se coloca un pedazo de papel absorbente de tamaño similar a la muestra sobre el vidrio plano y se coloca la cara interna de la película a ser ensayada en contacto con el papel absorbente.

[NOTA: para bolsas mixtas o rollos con fuelle, el ensayo debe ser realizado sobre una sola capa de lámina plástica incluyendo el área que se encuentra doblada.]

Se vierte la tinta en la bandeja y se coloca la esponja en la bandeja por un minuto. Se retira la esponja removiendo el exceso de tinta con el borde de la bandeja.

Se coloca la esponja sobre la muestra asegurándose que la esponja no esté a menos de 15 mm del borde y se deja por 2 minutos. Se retira la esponja y se examina el papel absorbente buscando manchas causadas por la penetración de la tinta. Se repite el procedimiento para el resto de las muestras.

Se informa el número de muestras que permitieron que se manchara con la tinta el papel absorbente.

La película plástica debe estar libre de perforaciones.

Determinación del factor de rompimiento de la película plástica:

El factor de rompimiento de la película plástica no debe ser menor de 20 Newtons por 15 mm de ancho.

Principio -

El ensayo consiste en estirar hasta la ruptura una probeta normalizada de película plástica a una determinada velocidad de ensayo, utilizando un aparato de ensayo de tracción que mida fuerza.

Aparatos -

Equipo para ensayo de tracción que se adapte a las características de las probetas y las condiciones de ensayo.

Preparación de las muestras -

Las muestras deben ser acondicionadas a 23 ± 2 °C y 50 ± 5 % de humedad relativa por no menos de 40 horas previas al ensayo.

El número de muestras a ensayar será de cinco en el caso de materiales isotrópicos. Para materiales anisotrópicos, se utilizará un mínimo de diez muestras, cinco para dirección normal y cinco en dirección de la anisotropía.

Las muestras consisten en tiras de ancho y espesor uniforme, con un mínimo de 50 mm más largas que la mordaza de separación utilizada. El ancho de las tiras no debe ser menor que 5,0 mm ni mayor a 25,4 mm.

Se debe tener especial atención al corte de las tiras para prevenir marcas y roturas dentro de lo posible que pueden causar falla prematura.

La variación de espesor de las tiras puede ser del 10 % para materiales de 0,25 mm de espesor o menos y dentro del 5 % en el caso de materiales con espesor mayor a 0,25 mm pero menor que 1,00 mm.

La longitud estándar de las tiras será de 250 mm.

Procedimiento -

Se mide el área de sección transversal de la muestra a varios puntos a lo largo de su longitud. Se mide el ancho con una exactitud de 0,25 mm o mayor. Se mide el espesor con una exactitud de 0,0025 mm o mayor para films menores que 0,25 mm de espesor y con una exactitud de 1 % o mayor para films mayores a 0,25 mm pero menores que 1,0 mm de espesor.

Se coloca la probeta muestra entre las mordazas. Se selecciona un rango de carga tal que la falla en la muestra ocurra por encima de los dos tercios. La separación inicial de las mordazas dependerá del porcentaje de elongación que tenga el material. Se especifica en *Tabla 1*.

La velocidad de ensayo debe ser calculada desde el requerimiento inicial de tensión como se indica en *Tabla 1*.

La tasa de separación de las mordazas puede calcularse como:

$$A = B.C$$

en la cual *A* es la tasa de separación de las mordazas en mm por minuto, *B* es la distancia inicial entre las mordazas en mm, y *C* es la tensión inicial en mm/mm.min.

Se mide la máxima fuerza aplicada que rompió la película.

Resultado -

El factor de rompimiento se calculado dividiendo la máxima fuerza por el ancho mínimo de la muestra. Los resultados se expresan en fuerza

por unidad de extensión en ancho, usualmente N/15 mm de ancho.

Determinación de la resistencia a la delaminación de las láminas plásticas en bolsas mixtas

El ensayo es aplicable a todos los envases mixtos.

Preparación de las muestras -

Se toman diez bolsas mixtas y se llenan hasta la mitad con gasa de algodón.

Procedimiento -

Se sellan las muestras de acuerdo a las recomendaciones del fabricante con una selladora de calor.

Se colocan las muestras en un esterilizador. El ciclo de operación debe ser ajustado a los límites definidos por el fabricante para el material de empaque y los parámetros validados del ciclo operativo.

Se lleva a cabo el ciclo, se retiran y examinan las muestras visualmente.

Resultados -

Se reporta el número de muestras que han estallado y el número de láminas de plástico en las cuales se presenta desprendimiento de las capas o se opacan.

El envase no debe estallar y la lámina plástica no debe delaminarse ni opacarse.

ENSAYOS FUNCIONALES PARA ENVASADO FINAL

Determinación de la pelabilidad en los productos papel/laminado plástico

Equipos

Regla graduada en intervalos de 0,5 mm.

Procedimiento -

Lenta y cuidadosamente se despega el termosellado con las manos. Visualmente se revisa que el termosellado se extienda a lo largo de todo el ancho y largo de las líneas de sellado y que no haya un desprendimiento de papel mayor a 10 mm desde las líneas de sellado.

Cuando el termosellado se desprende generalmente se muestra una apariencia mate donde el sellado se llevó a cabo, pero la apariencia brillante se conserva donde no hubo un sellado satisfactorio.

Se mide el ancho del termosellado en la cara interna del plástico en cinco partes diferentes.

Resultados -

Se reporta el promedio y anchos mínimos del termosellado (con aproximación a 0,5 mm) y cualquier tipo de imperfección en la línea de sellado o desprendimiento del papel mayor a 10 mm del borde del sellado.

El sello debe cubrir el ancho total y el largo total de las líneas individuales del termosellado y no debe haber rasgado de papel más de 10 mm desde el borde de la línea de termosellado.

Determinación de la resistencia de la línea de termosellado para bolsas mixtas

Aparatos -

- a- Esterilizador, conforme al proceso validado.
- b- Medidor de tensión con una tasa de separación continua, con una variación de ± 10 mm por minuto que permita determinar la resistencia a la tensión al momento de falla con una precisión de ± 1 %.

Preparación de las muestras -

- a- Seco: se cortan cinco tiras de $15 \pm 0,1$ mm de ancho y con un largo suficiente para usar el equipo con la bolsa mixta a ensayar, a ángulo recto o perpendicular a la línea de sellado, quedando ésta aproximadamente en el centro de la tira.
- b- Seco-esterilizado: se corre el ciclo de esterilización y se preparan cinco tiras como está indicado en *a*.
- c- Húmedo: se preparan cinco tiras como en *a*. Inmediatamente antes de ensayar la muestra se sumerge la parte central en agua purificada a 23 ± 2 °C con la línea de sellado al centro de la sección húmeda. Después de un minuto de inmersión se retira la tira, se remueven los excesos de agua con un trozo de papel absorbente y se ensaya.
- d- Húmedo esterilizado: se corre el ciclo de esterilización y se preparan las muestras de acuerdo a *c*.

Procedimiento -

Se sujeta la punta de la lámina de plástico en una de las pinzas de la máquina y la otra punta de papel en la otra pinza dejando un pequeño margen desde la punta. Se despega el sello a una tasa de separación de 200 ± 10 mm por minuto y se registra la fuerza máxima.

Resultados -

Se reporta la resistencia del termosellado de cada muestra en Newtons por 15 mm de ancho.

La resistencia del termosellado con muestra seca no debe ser menor a 1,5 N por 15 mm de ancho, antes y después de someterse al proceso de esterilización.

La resistencia del termosellado con muestras húmedas no debe ser menor a 1,2 N por 15 mm de ancho, antes y después de someterlo al proceso de esterilización.

Determinación de fugas por emisión de burbujas

Este método cubre la determinación completa de fugas en envases flexibles no porosos conteniendo headspace (espacio libre superior).

La sensibilidad es limitada a 1.10^{-5} atm.cm³/s (1.10^{-6} Pa.m³/s).

Pequeñas fugas pueden no ser detectadas por este método. Los efectos visco-elásticos de los productos, o el aire atrapado, puede ser significativo y ocluir pequeñas aberturas.

La presión positiva dentro del envase después del vacío puede forzar a tapar pequeñas fugas. El tamaño de la fuga que puede ser detectado es dependiente del producto que contiene, de la naturaleza del material de envase y de los parámetros seleccionados del ensayo.

Aparatos -

Cámara de vacío: contenedor transparente capaz de resistir aproximadamente 1 atm de presión diferencial, adecuada con una tapa ajustada. Manómetro para vacío, un tubo de entrada de la fuente de vacío y un tubo de salida a la atmósfera que puede conectarse con la tapa de la cámara. Los tubos de entrada y salida pueden ser equipados con válvulas manuales. Adjunto a la parte inferior de la tapa, un plato con las dimensiones aproximadas de la cámara.

Reactivos -

Fluido de inmersión: se debe usar un fluido de inmersión que no degrade el envase a ensayar. Fluidos con baja tensión superficial son más sensibles, como por ejemplo, agua, agua tratada con un agente humectante, alcohol desnaturalizado, aceite mineral.

Muestras -

El número de muestras a usar puede ser variable acorde con la naturaleza del producto, el costo, el tamaño, y el tamaño del lote de producción. El envase puede estar con o sin contenido.

Las muestras y el fluido deben estar en equilibrio con la temperatura ambiente.

Procedimiento -

- 1- Sumergir la muestra en el fluido contenido en la cámara. La superficie

superior de la muestra debe estar cubierta por no menos de 25 mm de fluido. Una o más muestras pequeñas pueden ensayarse al mismo tiempo, siempre que todas las partes de los envases bajo ensayo puedan ser observados.

2- Colocar la tapa a la cámara de vacío, cerrar la válvula de salida, aplicar vacío lentamente (1 inHg/s) hasta el nivel de vacío seleccionado. El nivel de vacío elegido debe ser lo más largo posible para asegurar óptima sensibilidad del ensayo. El factor límite puede incluir la fragilidad del envase, el grado de expansión del envase y la presión de vapor del fluido.

3- Durante el aumento del vacío, observar la muestra sumergida por fugas, en forma de progresión continua de burbujas del envase. Burbujas aisladas causadas por aire atrapado no son consideradas. Además considerar el incremento aproximado del volumen del envase. La presión diferencial del ensayo está inversamente relacionada con el aumento de volumen en la muestra; por lo tanto un incremento significativo del volumen disminuye o desmerece la severidad del ensayo. Envases flexibles con una pequeña cabeza o espacio libre no pueden ser realmente evaluados por este método.

4- El vacío debe ser sostenido por un espacio de tiempo especificado [NOTA: 30 segundos es lo recomendado.]

5- Liberar el vacío, remover la tapa y examinar la muestra para ver presencia de fluido dentro del envase.

Interpretación de resultados -

1- Si hay burbujas definidas durante la aplicación de vacío se considera que la muestra falló el ensayo.

2- Si hay fluido dentro del envase, falló el ensayo.

3- Si no hay burbujas y no hay fluido dentro del envase, la muestra pasó el ensayo.

Determinación de fugas en el sellado por penetración de colorante

El método de determinación de fugas por medio de penetración de colorante detecta una fuga igual o mayor a la producida por un canal de 50 micrones en la unión del sellado de un envase formado por un film transparente y un material de papel poroso.

El método se encuentra limitado a materiales porosos que pueden retener la solución colorante y prevenir la decoloración del área de sellado por un mínimo de 20 segundos. Papeles no recubiertos son especialmente susceptibles a fugas y deben ser evaluados cuidadosamente de un lado y otro. El método requiere que la solución colorante tenga buen contraste con el color original del envase.

Este procedimiento de penetración de colorante es aplicable solo para fugas individuales en el sellado del envase.

Aparatos y reactivos -

Dispositivo para aplicación del colorante dentro del envase que puede ser una jeringa con aguja.

Microscopio o lente óptico con una resolución de 5X a 20X.

Solución de colorante: solución acuosa con 0,5 % de Tritón X-100 y 0,05 % de azul de tolueno. La solución se prepara agregando a un recipiente apropiado el 10 % de la cantidad de agua requerida; luego se agrega el Tritón y se bate la mezcla. Una vez que el Tritón se dispersa, el remanente de agua puede ser volcado y se agrega la tintura de azul de tolueno. Otro colorante o tintura fluorescente puede utilizarse pero su precisión debe ser determinada.

Muestras -

Las muestras de envases a las cuales se determinará fuga, deberán contener producto dentro. Los envases deben estar libres de condensaciones o de cualquier otra forma de agua líquida. La existencia de agua en la parte defectuosa del sellado puede volver la fuga indetectable por este método. Las muestras deben ser acondicionadas antes del ensayo a 23 ± 2 °C y 50 ± 2 % de humedad relativa por 24 horas.

Procedimiento -

Limpiar el envase previo a la aplicación del colorante. Inyectar suficiente colorante para cubrir la longitud de la unión a una profundidad de 5 mm. Permitir a la solución tomar contacto con el sellado por un tiempo mínimo de 5 segundos y un tiempo máximo de 20 segundos. Las fallas serán detectadas durante este periodo, pero más allá de este tiempo, la solución colorante ingresará al material poroso y dará color a la totalidad del sellado.

Girar el envase lo necesario como para exponer todo el sellado a la solución colorante. Inyectar si es necesario más colorante para asegurar la completa exposición del sellado.

Examinar con lente óptico el área de sellado a través del lado transparente del sellado.

Las fallas en el sellado serán detectadas porque el colorante ingresará rápidamente al área adyacente

a la falla, haciendo una mancha más grande que el tamaño de ésta.

La evidencia de penetración de colorante al otro lado del sellado o en el interior de éste debe ser tomada como indicador de presencia de un sitio de fuga.

La evidencia de penetración de colorante a través del material poroso formando un área húmeda no debe ser tomada como presencia de un sitio de fuga.

Este método no es cuantitativo. Del ensayo no se desprenden indicadores del tamaño de la fuga.

Ensayo de envejecimiento acelerado de envases de productos médicos estériles

El ensayo de envejecimiento acelerado permite determinar en forma rápida los efectos del pasaje del tiempo y efectos ambientales sobre la integridad de envases estériles y las propiedades físicas de sus materiales constitutivos relacionadas con la seguridad y función del material de empaque.

El ensayo se basa en la suposición de que las reacciones químicas involucradas en el deterioro de los materiales y sus propiedades siguen la función de Arrhenius. Esta función manifiesta que un aumento o disminución de 10 °C en la temperatura de un proceso homogéneo resulta en cambios de aproximadamente 2 a 2,5 tiempos en la velocidad de reacción química Q_{10} .

Aparatos -

Estufa o gabinete con circulación de aire a la temperatura y humedad relativa seleccionados para el ensayo, con controladores capaces de mantener los parámetros seleccionados y con los límites de tolerancia propuestos.

Preparación de las muestras -

Previo a la determinación del ensayo se deberá realizar la caracterización de los materiales de envases a ensayar como:

- morfología (vítrea, amorfa, semicristalina, altamente cristalina, porcentaje de cristalinidad, etc.).
- transiciones térmicas: T_m (temperatura de fusión); T_g (temperatura de transición vítrea); T_a (temperatura de distorsión por calor).
- Aditivos, agentes ayuda proceso, catalizadores, etc.

La caracterización del material de empaque establecerá los límites de temperatura de ensayo a utilizar.

Las muestras deberán ser sometidas al proceso de esterilización validado al que se someterá normalmente el empaque.

El número de muestras a utilizar deberá ser representativo del lote de producción. Se recomienda como mínimo un número de 5 muestras para cada tiempo ensayado.

Procedimiento -

1- Selección de la temperatura de ensayo: la temperatura de ensayo se selecciona teniendo en cuenta las características del material. Altas temperaturas no son recomendables, porque si bien acortan los tiempos de envejecimiento acelerado, pueden tener un efecto sobre el material que no ocurre en tiempo real o a temperatura ambiente y, a temperaturas mayores a 60 °C los cambios en los sistemas poliméricos no son lineales. Las temperaturas deben estar por debajo de las que produzcan transiciones térmicas en el material como por ejemplo menor de 10 °C de su T_g .

2- Determinación del Factor de envejecimiento acelerado (F_{EA}). Es el índice de tiempo calculado para producir los mismos cambios en el envase que en tiempo real.

$$F_{EA} = Q_{10}^{(T_{EA} - T_{TR})/10}$$

en la cual T_{EA} es la temperatura a la cual se realizará el ensayo de envejecimiento; y T_{TR} es la temperatura que representa las condiciones de almacenamiento real. El valor de Q_{10} para estos ensayos se estandariza en 2.

3- Se determina el t_{EA} (tiempo de ensayo para el envejecimiento acelerado) como:

$$t_{EA} = \text{tiempo real o deseado} / F_{EA}$$

Se determinan además los intervalos de tiempo a usar para realizar los ensayos, además del tiempo cero y el tiempo de envejecimiento acelerado.

4- Se definen las propiedades del material a ensayar a los distintos tiempos, utilizándose el ensayo de integridad y el ensayo de resistencia física tales como la resistencia de sellado, la integridad de sello, la resistencia a la tracción, la resistencia al desgarro, la resistencia al impacto, etc. Se definen las cantidades de muestras a evaluar y los criterios de aceptación de acuerdo a la propiedad a evaluar. Las propiedades seleccionadas del envase a evaluar serán aquellas que resulten las más críticas para el

envejecimiento, resultante del stress del tiempo.

5- Se realiza el ensayo sometiendo las muestras luego del proceso de esterilización a la estufa con la temperatura de ensayo determinada.

6- Se evalúan las propiedades del material a los tiempos establecidos del ensayo.

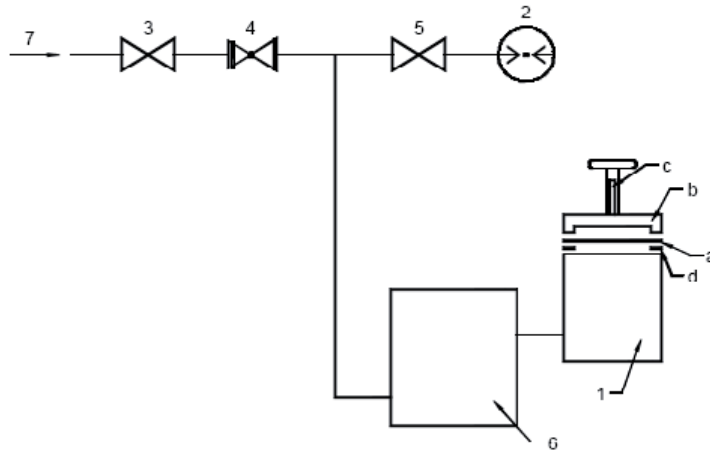
Resultados:

- a) Si los resultados del ensayo de envejecimiento acelerado se encuentran dentro de los límites de aceptación, entonces la durabilidad del envase puede asumirse al tiempo real presumido para el ensayo.
- b) Si los resultados del ensayo de envejecimiento acelerado no se encuentran dentro de los límites de aceptación, se debe evaluar una durabilidad menor o a tiempo real.
- c) Los resultados del ensayo siempre deben comprobarse a tiempo real para considerar validada la fecha de caducidad.

Tabla 1 - Determinación del factor de rompimiento de la película plástica

<i>% de elongación a la rotura</i>	<i>Tasa de tensión inicial (mm/mm.min)</i>	<i>Separación inicial de mordazas (mm)</i>	<i>Tasa de separación de mordazas (mm/min)</i>
menor que 20	0.1	125	12.5
entre 20 y 100	0.5	100	50
mayor que 100	10.0	50	500

Figura 1 – Equipo para la determinación del tamaño de poro



1-Cabezal de ensayo.

2-manómetro.

3-válvula de corte.

4-válvulas reguladoras de presión.

5-válvula de corte.

6-depósito de aire.

7-suministro de aire.

a- muestra

b- abrazadera

c- tornillo

d- empaque de caucho.

475. ESTERILIZACIÓN

Se denomina esterilización al proceso validado por medio del cual se obtiene un producto libre de microorganismos viables. El proceso de esterilización debe ser diseñado, validado y llevado a cabo de modo de asegurar que es capaz de eliminar la carga microbiana del producto o un desafío más resistente.

Dado que la esterilidad no puede demostrarse de manera absoluta sin causar la destrucción completa de todas las unidades del lote de producto terminado, se define la esterilidad en términos probabilísticos, en donde la probabilidad de que una unidad de producto esté contaminada es aceptablemente remota. Se considera que un producto crítico es estéril cuando la probabilidad de que un microorganismo esté presente en forma activa o latente es igual o menor de 1 en 1.000.000 (coeficiente de seguridad de esterilidad 10^{-6}).

Para llevar a cabo los procesos de esterilización se requiere:

- Instalaciones y suministros calificados;
- Equipamiento calificado y con mantenimiento preventivo periódico;
- Precauciones para disminuir la carga microbiana inicial del producto hasta un valor mínimo;
- Procesos de esterilización validados;
- Personal calificado y entrenado;
- Controles sobre el ambiente y sobre el personal;
- Monitoreo y registro de los procesos de rutina.

La validación es el procedimiento que permite obtener, registrar e interpretar datos con el fin de demostrar que un equipo o proceso cumple en todas las ocasiones con las especificaciones predeterminadas. Aplicado a los procesos de esterilización, la validación evalúa la aptitud del esterilizador y califica su funcionamiento con la carga del producto. Consta de las siguientes actividades secuenciales documentadas:

- Calificación de la Instalación
- Calificación Operativa
- Calificación de Desempeño

Calificación de la Instalación

Implica demostrar en forma documentada que todos los aspectos de la instalación y los suministros del equipo son los correctos y se cumplen las especificaciones del fabricante.

Consiste en verificar el cumplimiento de las especificaciones de diseño y de las características de construcción, verificar la correspondencia de

todos los componentes del equipo y planos; verificar la calidad, capacidad, presión, tipo y pureza (de ser aplicable) de todos los suministros. Los instrumentos destinados a evaluar las variables críticas del proceso se deben calibrar frente a un estándar o patrón de referencia nacional. En el caso que exista un programa que ejecute el proceso de esterilización (microprocesador), el mismo debe validarse por un procedimiento establecido.

Calificación operativa

Su objetivo es verificar que todos los componentes del equipo funcionan de acuerdo a lo especificado. Para este efecto se deben poner a prueba de operación normal todos los dispositivos del equipo y evaluar la uniformidad y reproducibilidad de las variables críticas del proceso, sin carga de producto.

Calificación o certificación de desempeño

Implica demostrar en forma documentada que el equipo produce un producto apropiado (coeficiente de seguridad de esterilidad 10^{-6}) cuando opera de acuerdo con las especificaciones del proceso.

Para estos efectos, es necesario definir el tipo y patrón de carga a esterilizar considerando los artículos y sus respectivos empaques. El patrón de carga es un aspecto crítico en relación a la distribución del calor o del agente esterilizante dentro de la cámara.

La Calificación de desempeño incluye la Calificación de Parámetros físicos y la Calificación microbiológica

Calificación de desempeño física - La primera fase en la Calificación de desempeño consiste en desarrollar perfiles de temperatura en la carga, evaluando la efectividad de la penetración del calor en el producto, y caracterizar los cambios de presión a lo largo del ciclo.

Calificación de desempeño microbiológica - Consiste en validar los ciclos en cuanto a la capacidad de eliminación de microorganismos utilizando indicadores biológicos incorporados a los productos, o en su defecto utilizando productos simulados inoculados con portadores biológicos. Durante la calificación microbiológica se debe verificar que finalizado el ciclo se ha alcanzado en el producto la probabilidad de supervivencia de 10^{-6}

Habitualmente cuando el producto es termoestable se utiliza la aproximación de sobremuerte, en este enfoque no se tiene en cuenta el tipo ni la cantidad de microorganismos

contenidos inicialmente en el producto a esterilizar, utilizando como referencia solamente la población y resistencia del bioindicador.

El segundo enfoque, aproximación de supervivencia, es aplicable solamente al desarrollo y validación de ciclos en los que el producto puede ser alterado por el proceso de esterilización, por ejemplo, la esterilización por calor húmedo de productos sensibles al calor.

Se denomina esterilización terminal al proceso aplicable cuando el producto se esteriliza en su envase definitivo. Cuando la naturaleza del producto impide su esterilización terminal se debe proceder a esterilizar en forma separada cada uno de sus componentes por cualquiera de los métodos de esterilización terminal descriptos a continuación, seguido de un proceso de preparación aséptica del producto final.

Los procesos de preparación aséptica de productos estériles a partir de componentes preesterilizados deben también ser certificados y validados; algunos puntos críticos de la validación del proceso incluyen ensayos de eficacia de los sistemas de filtración de aire y el procesamiento de un producto simulado estéril.

Métodos y condiciones de esterilización

Se debe llevar a cabo el proceso de Esterilización por alguno de los métodos que se describen a continuación, teniendo en cuenta las características del producto médico, como por ejemplo su resistencia térmica.

Clasificación

- Físicos
 - Calor húmedo,
 - Calor seco,
 - Radio-esterilización,
 - Filtración.
- Químicos
 - Óxido de etileno,
 - Vapor a baja temperatura con formaldehído,
 - Plasma de peróxido de hidrógeno.

Esterilización por calor húmedo Vapor de agua saturado

Es el método de elección siempre que sea aplicable. Su efecto esterilizante se fundamenta en la acción del calor transmitido por el vapor saturado a presión superior a la normal sobre los componentes celulares, produciendo coagulación proteica, ruptura de DNA y RNA y pérdida de material de bajo peso molecular, logrando así inactivación de los microorganismos. Los parámetros críticos del proceso son temperatura,

tiempo y vapor saturado, siendo la temperatura de referencia para el proceso 121 °C. La selección del tipo de ciclo de esterilización a emplear depende de la configuración del producto y de la capacidad del mismo y del empaque para soportar las temperaturas, la presión y el calor transferidos. Los factores que pueden influenciar la esterilización de los productos son: tipo de empaque según su densidad y porosidad, composición y complejidad del dispositivo en cuanto a diseño y resistencia térmica, y el tipo de carga en el esterilizador, homogénea o heterogénea, volumen de la cámara ocupado, etc.

Los ejemplos de tiempos de exposición en ciclos de vapor saturado son 134 °C para un tiempo de exposición mínimo de 3 minutos y, 121 °C para un tiempo de exposición mínimo de 15 minutos. Pueden ser utilizadas relaciones tiempo-temperatura distintas de las mencionadas. En todos los casos debe validarse cada proceso en particular.

Un ciclo típico de esterilización por vapor consta de una etapa inicial de eliminación previa del aire de la cámara y de los productos, lo que se consigue habitualmente por medio de vacío fraccionado alternado con inyecciones de vapor saturado, seguido de la etapa de esterilizado o tiempo de contacto con el vapor saturado a la temperatura preestablecida; finalmente se procede al secado del material, etapa fundamental para mantener las propiedades barrera del envase.

Cuando el material no admite ser sometido a la acción del vacío se utiliza la remoción previa del aire por desplazamiento gravitacional; en estos casos se omite la etapa de secado posterior al esterilizado, ya que la naturaleza de los productos (generalmente líquidos en envases flexibles o rígidos), no lo requiere.

Controles de proceso

- Ensayo de eliminación del aire y penetración del vapor ó Test de Bowie-Dick,
- Temperatura en la cámara y en la carga,
- Presión en cámara,
- Indicador químico de proceso,
- Indicador biológico.

No puede utilizarse para procesar materiales termosensibles, alterables por la humedad, sustancias oleosas, grasas, polvos y materiales eléctricos.

Concepto de F_0 y aplicación a la esterilización por vapor

El valor de F_0 de un proceso de esterilización por vapor saturado es la letalidad lograda en el producto en su envase definitivo, expresada en

términos de tiempo equivalente en minutos, a una temperatura de 121 °C, referenciando la carga biológica del producto a la de un microorganismo hipotético que posee un valor Z de 10 °C

El valor Z relaciona la resistencia al calor de un microorganismo con los cambios de temperatura.

Z se define como el cambio de temperatura en grados centígrados requerido para modificar el tiempo de reducción decimal D en un factor de 10, siendo D para una dada temperatura de esterilizado, el tiempo requerido para reducir el número de microorganismos viables a un 10 por ciento del número original.

La utilización del concepto matemático de F_0 es particularmente útil en la esterilización de productos termosensibles a temperaturas inferiores a 121 °C, ya que permite calcular el tiempo equivalente a 121 que produciría el mismo efecto letal que el tiempo de exposición a las temperaturas y condiciones reales a las que es sometido el producto.

El F_0 total de un proceso tiene en cuenta las fases de calentamiento y enfriamiento del ciclo y se puede calcular por integración de las tasas de letalidad con respecto al tiempo, a intervalos distintos de temperatura a la que está siendo sometido el producto a esterilizar.

Cuando se diseña y se valida un ciclo de esterilización por vapor tomando como base el concepto de F_0 , el criterio microbiológico es el de aproximación de supervivencia, en lugar del más habitual criterio de sobremuerte; debiendo el proceso entregar al producto la mínima cantidad de calor (F_0 mínimo) para alcanzar el nivel de seguridad de esterilidad de 10^{-6} , sin afectar adversamente sus características por excesivo calentamiento.

En estos procesos es preciso tomar precauciones para asegurar que se consigue en forma repetitiva una garantía adecuada de esterilidad, debiéndose demostrar que los parámetros microbiológicos garantizan un nivel de aseguramiento de esterilidad de 10^{-6} o menor.

Esterilización por calor seco

El mecanismo de acción microbicida se basa en la acción oxidante del aire seco caliente que circula por convección forzada a través de los productos.

Los parámetros críticos del proceso son temperatura y tiempo, siendo las relaciones sugeridas, 160 °C durante 2 horas y 170 °C durante 1 hora. Estas temperaturas se relacionan con el tiempo de exposición después de haberse logrado la temperatura específica en el punto más frío de la carga y no incluye tiempos de calentamiento.

El método de calor seco se utiliza también para la esterilización y despirogenación simultánea de envases de vidrio, ya sea operando en lotes o como un proceso continuo, en este último caso como parte integral de un proceso de llenado aséptico de producto. En los procesos de despirogenado las temperaturas empleadas son más elevadas que las requeridas con fines de esterilización únicamente, utilizándose habitualmente 250 °C por 5 minutos; la implementación de un proceso continuo como parte de un llenado aséptico requiere un control estricto de la calidad microbiológica del aire circulante en la cámara durante el esterilizado y el enfriamiento posterior.

Para los procesos de despirogenado, el programa de validación debe incluir en la calificación de desempeño la demostración de la destrucción de endotoxinas por debajo del límite permitido en el ensayo de referencia (ver 330. *Ensayo de endotoxinas bacterianas*).

Controles de proceso

- Temperatura en distintos puntos de la cámara y de la carga

- Indicador químico de proceso e indicador biológico.

El método permite la esterilización de polvos, aceites, soluciones no acuosas, y el despirogenado de materiales resistentes al calor (ejemplo, envases de vidrio). Debido a que el aire caliente se estratifica debe utilizarse circulación forzada en los equipos.

Esterilización por radiación

La radio-esterilización se basa en la aplicación de radiación ionizante procedente de una fuente de radioisótopos de Co^{60} o Cs^{137} emisoras de radiación gamma, o de un haz de electrones de alta energía, obtenida con un acelerador de electrones o de un generador de rayos X. En ambos casos el parámetro crítico del proceso es la dosis absorbida por el producto.

Aunque históricamente se ha utilizado 25 kGy como dosis absorbida de referencia, la preselección de esta dosis debe ser convalidada experimentalmente; en muchos casos es recomendable la utilización de dosis menores o mayores que la de referencia, dependiendo de las propiedades del material, el grado de contaminación del producto, y el coeficiente de seguridad de esterilidad buscado.

En la radio-esterilización la determinación de la dosis se debe establecer dentro de un rango de dosis máxima-dosis mínima que asegure que las propiedades del artículo no se vean alteradas.

La validación de un proceso de esterilización por radiación incluye el estudio de la compatibilidad de los artículos a esterilizar con la radio-esterilización, evaluando el posible deterioro o degradación; el establecimiento del patrón de carga del producto; la demostración mediante dosímetros que se ha alcanzado la dosis de esterilización preestablecida, el mapeo de dosis en el contenedor de esterilización (incluyendo la identificación de zonas de dosis máxima y dosis mínima); y la determinación del tiempo de exposición para lograr esta distribución de dosis en el producto.

Es aplicable sobre una amplia variedad de productos, aunque se debe considerar la posibilidad de cambios cualitativos luego de la aplicación de este método, puesto que produce ruptura de uniones químicas en las macromoléculas, y formación de especies reactivas (radicales libres) que pueden provocar alteraciones variadas en los materiales.

Filtración

Este método está indicado para soluciones lábiles al calor. Los microorganismos presentes son removidos mediante el pasaje de la solución a través de un medio filtrante de tamaño de poro adecuado. Los elementos que entren en contacto con la solución deben ser estériles, el ambiente de contaminación controlada y la técnica aséptica.

A pesar de que las sustancias que han sido filtradas por este método se denominan “estériles”, por estar libres de bacterias y hongos y sus esporas, éstas pueden contener virus activos que no son removidos por el filtro.

Otros factores fundamentales a tener en cuenta son la posible adsorción de drogas, aditivos o conservadores por el material filtrante, el contenido de endotoxinas y la carga microbiana de la solución; éste último factor condiciona la selección de otros parámetros críticos del proceso, tales como la presión de filtración y la velocidad de filtración.

Los materiales de filtración disponibles actualmente incluyen acetato de celulosa, nitrato de celulosa, acrílicos, policarbonato, poliéster, PVC, nylon, vinilo, PTFE, y membranas metálicas entre otros. En todos los casos las membranas deben tener la capacidad de retener el 100% de un cultivo de 10^7 de *Pseudomonas diminuta* (ATCC 19146) por cm^2 de superficie de la membrana a una presión de no menos de 30 psi (2,0 bares). La clasificación nominal de estas membranas es de 0,2 o 0,22 μm dependiendo del fabricante.

Las membranas diseñadas para la retención de Micoplasmas deben tener un tamaño nominal de 0,1 μm .

La integridad del dispositivo filtrante debe ser verificada antes y después del procedimiento a los efectos de determinar la eficacia del proceso. Dentro de las metodologías habitualmente utilizadas para este fin se incluyen los ensayos de punto de burbuja, difusión y mantenimiento de la presión. Los valores de aceptación deben ser provistos por el fabricante del dispositivo.

La esterilización por filtración no garantiza la eliminación de virus, micoplasmas ni priones. La presencia de estos agentes debe evitarse mediante selección, control y manejo adecuado de la materia prima.

Esterilización por óxido de etileno

El óxido de etileno es un agente alquilante que reacciona con grupos químicos presentes de los ácidos nucleicos y proteínas de los microorganismos. Su utilización como alternativa a métodos físicos se justifica exclusivamente cuando por su naturaleza el producto pueda sufrir alteraciones por calor.

Los parámetros críticos del proceso son temperatura, concentración del gas, humedad relativa porcentual y tiempo de esterilizado.

El proceso de esterilización consta de varias etapas secuenciales:

- Preacondicionamiento del producto,
- Ciclo propiamente dicho: remoción del aire, acondicionamiento del producto, inyección del gas, esterilizado y desgasificación o lavado del gas de la cámara,
- Aireación forzada del producto, la que puede efectuarse en la misma cámara del esterilizador o en una cámara o recinto independiente.

Usualmente también se utilizan instalaciones independientes para preacondicionar la carga hasta lograr la temperatura y humedad relativa requeridos para el proceso, minimizando así el tiempo de acondicionamiento del producto en la cámara del esterilizador.

La validación del proceso exige requisitos adicionales a los necesarios para procesos basados en la acción del calor; tales como la caracterización estricta de las variaciones de presión en cámara a lo largo de las distintas etapas del ciclo, la medición del tenor de humedad relativa en las etapas de preacondicionamiento y acondicionamiento, la medición de la concentración de gas en el esterilizado, y la determinación de las condiciones de aireación forzada de los productos esterilizados de modo de lograr niveles de residuos y productos

de reacción compatibles con los límites máximos permitidos.

Controles de proceso

- temperatura de la cámara y de la carga,
- control directo o indirecto de la humedad relativa porcentual en cámara y de la concentración de gas en cámara alcanzada en el esterilizado,
- tiempo de esterilizado,
- indicador químico de proceso e indicador biológico.

El método tiene aplicación sobre amplia variedad de productos médicos, permitiendo operar aún a temperaturas inferiores a 40 °C. El óxido de etileno es tóxico, inflamable y explosivo, por lo que se requiere para la operación de los esterilizadores establecimientos equipados con las instalaciones y medidas de seguridad necesarias para el almacenamiento y manipuleo correcto de este producto.

La emisión ambiental debe estar controlada, por tratarse de una sustancia cancerígena e irritante de mucosas, piel y vías respiratorias. La aireación posterior a la esterilización implica tiempos de cuarentena prolongados.

La esterilización con óxido de etileno no es compatible con soluciones acuosas ni grasas; sin embargo, está documentada la esterilización por óxido de etileno de drogas en polvo alterables por radio-esterilización.

Esterilización con plasma de peróxido de hidrógeno

Es un procedimiento de esterilización que se basa en la oxidación de moléculas biológicas mediante el plasma generado por acción de energía de radiofrecuencia, utilizando como precursor vapor de peróxido de hidrógeno, a baja temperatura y a presión subatmosférica. El vapor de peróxido de hidrógeno se disocia en la etapa de plasma del ciclo de esterilización en radicales libres y otras especies microbicidas activas. Tras la etapa de plasma se recombinan los radicales libres en forma de moléculas estables, dando origen en su mayor parte a agua y oxígeno.

Los esterilizadores poseen un catalizador que descompone el peróxido de hidrógeno para el tratamiento de los gases descargados de la cámara, garantizando de este modo una emisión ambiental controlada para el operador.

Los parámetros críticos del proceso son concentración de peróxido de hidrógeno en cámara, energía de radiofrecuencia, presión y tiempo en las etapas de difusión de la solución de peróxido de hidrógeno y de generación de plasma.

El proceso es corto, no deja residuos tóxicos, y permite esterilizar a temperaturas iguales o menores de 50 °C.

El producto a procesar debe estar perfectamente seco, existiendo restricciones de difusión del agente esterilizante con respecto a los lúmenes; es incompatible con celulosa, polvos y líquidos.

Esterilización con vapor a baja temperatura y formaldehído

El método basa su acción esterilizante en la actividad alquilante del formaldehído, sustancia que reacciona inactivando grupos químicos esenciales de los ácidos nucleicos y proteínas de los microorganismos, en sinergismo con vapor de agua a presión subatmosférica.

Los parámetros críticos del proceso son temperatura, concentración del formaldehído, humedad relativa porcentual y tiempo de esterilizado.

Básicamente el proceso consiste en realizar vacíos fraccionados alternados con inyecciones de solución de formaldehído, eliminando así el aire de la cámara y facilitando la penetración completa y reproducible del agente esterilizante en la carga.

En la etapa de esterilizado el producto permanece en contacto con el agente esterilizante a presión y temperatura constantes el tiempo especificado para el proceso; por último se procede a la eliminación o lavado con vapor de agua de los residuos del agente químico del producto y de los empaques, seguido del secado final del producto.

Controles de proceso

- temperatura de la cámara,
- control directo de la concentración del formaldehído,
- tiempo de esterilizado,
- indicador químico de proceso e indicador biológico.

La temperatura del ciclo oscila en general entre 60 y 80 °C

La validación del proceso exige requisitos adicionales a los necesarios para procesos basados en la acción del calor; tales como la caracterización estricta de las variaciones de presión en cámara a lo largo de las distintas etapas del ciclo, la medición de la concentración de gas en la etapa de esterilización, y la determinación de las condiciones de aireación de los productos esterilizados

Finalizado el proceso, quedan residuos de formaldehído y sustancias de reacción aún

detectables en los productos, no estando aún claramente definidos los límites máximos permitidos.

El método no es compatible con soluciones, grasas ni polvos.

La emisión ambiental debe estar controlada, por tratarse de una sustancia cancerígena e irritante.

Almacenamiento

La vida útil de los productos médicos estériles estará determinada por el envejecimiento de los componentes y por la integridad de su envase, por lo que el almacenamiento debe realizarse de manera que se preserve la integridad del mismo, respetando las condiciones ambientales indicadas por el fabricante.

El riesgo de daño del envase se relaciona con el cuidado en la manipulación del mismo durante la esterilización, el transporte y el almacenamiento.

Indicadores biológicos

Los indicadores biológicos son preparaciones normalizadas de microorganismos seleccionados que se utilizan para valorar la eficacia de los procedimientos de esterilización. Habitualmente se presentan bajo la forma de una población de esporas bacterianas dispuestas sobre un soporte inerte o portador (disco o tira de papel de filtro, vidrio, o plástico). Pueden emplearse también indicadores biológicos con más de una especie de bacteria sobre un mismo soporte. El portador inoculado se encuentra dentro de un empaque o envase primario que lo protege de cualquier deterioro o contaminación, pero que permite el pasaje del agente esterilizante.

En otras presentaciones el indicador biológico se presenta en un envase primario autocontenido que incluye un medio de cultivo estéril; en este caso el diseño del envase ofrece mínima resistencia al paso del agente esterilizante.

En ambos casos los envases primarios se vehiculizan en un envase secundario de forma que los bioindicadores puedan ser transportados y almacenados en condiciones adecuadas. En el rótulo de los indicadores biológicos deberá figurar el nombre del organismo de ensayo empleado como microorganismo de referencia, el nombre o abreviatura de la colección de cultivo y el número de referencia de la especie, el número de lote, la indicación del método de esterilización para el cual el indicador biológico puede ser utilizado, el número de esporas viables por transportador, datos

de la resistencia del microorganismo de ensayo y la fecha de vencimiento.

El fabricante del bioindicador debe además suministrar con el producto instrucciones de uso, incluyendo las condiciones para la recuperación de los organismos en ensayo después del proceso de esterilización y las instrucciones para su disposición final.

Una tercera forma de bioindicadores la constituyen suspensiones de esporas que se incorporan a unidades representativas del producto a esterilizar, o en su defecto a productos simulados. A estos bioindicadores se los llama productos inoculados, preparados a partir de suspensiones de esporas de población y resistencia conocida.

La elección del organismo indicador para el método de esterilización se realiza de acuerdo a los siguientes requisitos:

- Resistencia elevada de la cepa de ensayo al método de esterilización previsto, en comparación a la resistencia de todos los microorganismos patógenos y de los que pueden producir contaminación en el producto.

- La cepa de ensayo no debe ser patógena.

- La cepa de ensayo debe poder cultivarse con facilidad.

Se recomienda que se coloquen los indicadores biológicos en los lugares menos accesibles al agente esterilizante y bajo las mismas condiciones de empaque que el material a procesar.

Después de la incubación, la existencia de crecimiento de los microorganismos de referencia que han sido sometidos al proceso de esterilización demuestra que dicho procedimiento ha sido ineficiente.

- Para esterilización por vapor se recomienda el uso de las esporas de *Geobacillus stearothermophilus*, ATCC 7953. El número de esporas viables por soporte debe ser no menor de 1×10^5 y el valor de D a 121°C superior a 1,5 minutos. Se debe verificar que luego de la exposición de los indicadores al calor húmedo a $121 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 6 minutos queden esporas capaces de germinar y que no haya crecimiento del microorganismo de referencia después que los indicadores biológicos hayan sido expuestos al agente esterilizante durante 15 minutos.

- En el caso de la esterilización por calor seco, se recomiendan las esporas de *Bacillus atrophaeus* ATCC 9372. El número de esporas viables por soporte debe ser no menor de 1×10^5 y el valor D a 160°C debe estar comprendido entre 5 y 10 minutos.

- Cuando se utiliza radiación ionizante, los indicadores utilizados contienen esporas de *Bacillus pumilus* (ATCC27.142, NCTC 10327, NCIMB 110692 o CIP 77.25). El número de esporas por soporte debe ser mayor de 1×10^7 y el valor de *D* mayor a 1,9 kGy. Se debe comprobar que no haya crecimiento de los microorganismos de referencia luego de una exposición de los indicadores biológicos a 25 kGy (dosis mínima absorbida).

- Para el sistema de *Esterilización por Plasma de peróxido de hidrógeno* se recomienda el uso de esporas de *Geobacillus stearothermophilus*, ATCC 7953.

- En el caso de esterilización por óxido de etileno se recomiendan las esporas de *Bacillus atrophaeus* ATCC 9372. El número de esporas viables por soporte debe ser superior a 1×10^6 (valores de población nominal mínima para uso en monitoreos de rutina; para ensayos de validación o aplicaciones especiales puede requerirse

poblaciones nominales mayores) y el valor *D* no debe ser menor de 12,5 minutos cuando se expongan a 600 ± 30 mg/l de óxido de etileno, 60 ± 10 % de humedad relativa y 30 ± 1 °C, y/o 2,5 minutos cuando se expongan a 600 ± 30 mg/l de óxido de etileno, 60 ± 10 % de humedad relativa y 54 ± 1 °C.

- Cuando se utiliza el *Vapor a baja temperatura con formaldehído* se recomienda el uso de esporas de *Geobacillus stearothermophilus*, NCBI 8224, DSM 6790, ATCC 7953, ATCC 10149 y ATCC 12980. El número de esporas viables por soporte debe ser mayor de 1×10^5 .

Ensayo de Esterilidad

Proceder según se indica en 370. *Ensayos de Esterilidad*.

590. LÍMITE DE METALES PESADOS

Este ensayo se emplea para establecer que el contenido de impurezas metálicas que reaccionan con el ión sulfuro, bajo las condiciones especificadas, no excede el *Límite de metales pesados* especificado en la monografía correspondiente, expresado como porcentaje (en peso) de plomo en la sustancia en ensayo, determinado mediante comparación visual (ver *Comparación visual* en *Consideraciones generales*) con un control preparado a partir de una *Solución estándar de plomo*.

[NOTA: los cationes que generalmente responden a este ensayo son: plomo, mercurio, bismuto, arsénico, antimonio, estaño, cadmio, plata, cobre y molibdeno.]

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, emplear el *Método I*.

Reactivos especiales

Solución madre de nitrato de plomo - Disolver 159,8 mg de nitrato de plomo en 100 ml de agua a la cual se le ha agregado 1 ml de ácido nítrico y diluir a 1 litro con agua. Preparar y almacenar esta solución en envases de vidrio exentos de sales de plomo solubles.

Solución estándar de plomo (100 ppm) - Disolver 400 mg de nitrato de plomo en agua y diluir a 250 ml con el mismo solvente. En el día del ensayo, diluir 1 ml de esta solución a 10 ml con agua.

Solución estándar de plomo (10 ppm) - En el día del ensayo, diluir 10,0 ml de *Solución madre de nitrato de plomo* a 100,0 ml con agua. Cada ml de *Solución estándar de plomo (10 ppm)* contiene el equivalente a 10 µg de plomo. Una solución de comparación preparada sobre la base de 100 µl de *Solución estándar de plomo (10 ppm)* por g de muestra contiene el equivalente a 1 ppm de plomo.

Solución estándar de plomo (2 ppm) - En el día del ensayo, diluir 1,0 ml de *Solución estándar de plomo (100 ppm)* a 50,0 ml con agua. Cada ml de *Solución estándar de plomo (2 ppm)* contiene el equivalente a 2,0 µg de plomo.

Solución estándar de plomo (1 ppm) - En el día del ensayo, diluir 1,0 ml de *Solución estándar de plomo (100 ppm)* a 100,0 ml con agua. Cada ml de *Solución estándar de plomo (1 ppm)* contiene el equivalente a 1,0 µg de plomo.

Solución estándar de plomo (0,1 ppm) - En el día del ensayo, diluir 1,0 ml de *Solución estándar de plomo (1 ppm)* a 10 ml con agua. Cada ml de *Solución estándar de plomo (0,1 ppm)* contiene el equivalente a 0,1 µg de plomo.

[NOTA: siempre que en una monografía individual aparezca la denominación *Solución estándar de plomo* sin ninguna especificación de concentración, se debe emplear la *Solución estándar de plomo (10 ppm)*.]

Método I

Solución reguladora de acetato pH 3,5 - Disolver 50 g de acetato de amonio en 100 ml de ácido clorhídrico 6 N, ajustar a pH 3,5, si fuera necesario, con hidróxido de amonio 6 N o ácido clorhídrico 6 N y diluir con agua a 200 ml.

Solución estándar - Transferir 2 ml de *Solución estándar de plomo (10 ppm)*, correspondientes a 20 µg de Pb, a un tubo de Nessler de 50 ml y diluir con agua a 25 ml. Ajustar a pH entre 3,0 y 4,0 con ácido acético 1 N o hidróxido de amonio 6 N, empleando papel indicador de pH, diluir con agua a 40 ml y mezclar.

Solución muestra - Transferir 25 ml de la solución preparada para el ensayo según se indica en la monografía correspondiente a un tubo de Nessler de 50 ml. Alternativamente, cuando se indique en la monografía correspondiente, emplear el volumen de ácido indicado, disolver la cantidad en g de muestra, calculada por la fórmula siguiente:

$$2,0/(1.000L)$$

en la cual *L* es el *Límite de metales pesados*, en porcentaje. Diluir a 25 ml con agua y ajustar a pH entre 3,0 y 4,0 con ácido acético 1 N o hidróxido de amonio 6 N, empleando papel indicador de pH, diluir a 40 ml con agua y mezclar.

Solución control - Transferir 25 ml de una solución preparada según se indica para la *Solución muestra* a un tercer tubo de Nessler de 50 ml y agregar 2,0 ml de *Solución estándar de plomo (10 ppm)*. Ajustar a pH entre 3,0 y 4,0 con ácido acético 1 N o hidróxido de amonio 6 N, empleando papel indicador de pH, diluir a 40 ml con agua y mezclar.

Procedimiento - A cada uno de los tubos que contienen la *Solución estándar*, la *Solución muestra* y la *Solución control*, respectivamente, agregar 1,2 ml de tioacetamida-glicerina básica (SR) y 2 ml de *Solución reguladora de acetato de pH 3,5*, diluir a 50 ml con agua, mezclar, dejar reposar durante 5 minutos y observar longitudinalmente sobre una superficie blanca: el color de la solución obtenida a partir de la *Solución muestra* no debe ser más oscuro que el de la obtenida a partir de la *Solución estándar* y la intensidad del color de la *Solución*

control debe ser igual o mayor que la de la *Solución estándar*.

[NOTA: si el color de la *Solución control* es más claro que el de la *Solución estándar*, emplear el *Método II*.]

Método II

Solución reguladora de acetato pH 3,5 - Preparar según se indica en *Método I*.

Solución estándar - Preparar según se indica en *Método I*.

Solución muestra - Emplear una cantidad en g de muestra calculada por la fórmula siguiente:

$$2,0/(1.000L)$$

en la cual *L* es el *Límite de metales pesados*, en porcentaje. Transferir la cantidad de muestra pesada a un crisol, agregar suficiente ácido sulfúrico para impregnar la sustancia y someter cuidadosamente a ignición hasta que la sustancia se carbonice por completo. [NOTA: cubrir el crisol parcialmente durante la carbonización.] Agregar a la masa carbonizada 2 ml de ácido nítrico y 5 gotas de ácido sulfúrico y calentar con cuidado hasta que no se desprendan vapores blancos. Someter a ignición, en una mufla, entre 500 y 600 °C, hasta que el residuo carbonoso desaparezca. Dejar enfriar a temperatura ambiente. Agregar 4 ml de ácido clorhídrico 6 N, tapar el crisol y transferir a un baño de vapor durante 15 minutos. Destapar y evaporar lentamente hasta sequedad. Agregar al residuo 1 gota de ácido clorhídrico, 10 ml de agua caliente y digerir durante 2 minutos. Agregar hidróxido de amonio 6 N, gota a gota, hasta que la solución sea alcalina frente al papel de tornasol, diluir a 25 ml con agua y ajustar a pH entre 3,0 y 4,0 con ácido acético 1 N empleando papel indicador de pH de intervalo estrecho. Filtrar, si fuera necesario, lavar el crisol y el filtro con 10 ml de agua, combinar el filtrado y el agua de lavado en un tubo de Nessler de 50 ml, diluir a 40 ml con agua y mezclar.

Procedimiento - A cada uno de los tubos que contienen la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, respectivamente, agregar 1,2 ml de tioacetamida-glicerina básica (SR) y 2 ml de *Solución reguladora de acetato pH 3,5*, diluir a 50 ml con agua, mezclar, dejar reposar durante 5 minutos y observar longitudinalmente sobre una superficie blanca: el color de la solución obtenida a partir de la *Solución muestra* no debe ser más oscuro que el de la solución obtenida a partir de la *Solución estándar*.

Método III

Solución reguladora de acetato pH 3,5 - Preparar según se indica en *Método I*.

Solución estándar - Transferir una mezcla de 8 ml de ácido sulfúrico y 10 ml de ácido nítrico a un

matraz de Kjeldahl de 100 ml. Agregar un volumen adicional de ácido nítrico igual al agregado a la *Solución muestra*. Calentar la solución hasta desprendimiento de vapores densos y blancos, enfriar y agregar con cuidado 10 ml de agua. Si se empleó peróxido de hidrógeno al 30 % al tratar la *Solución muestra*, agregar el mismo volumen de peróxido de hidrógeno y calentar a ebullición suavemente hasta que se desprendan vapores densos y blancos. Enfriar a temperatura ambiente, agregar con cuidado 5 ml de agua, mezclar y calentar a ebullición suavemente hasta la producción de vapores blancos y obtener un volumen de 2 a 3 ml. Enfriar, diluir con cuidado con 2 a 5 ml de agua, agregar 2,0 ml de *Solución estándar de plomo (10 ppm)*, correspondientes a 20 µg de Pb, y mezclar. Transferir a un tubo de Nessler de 50 ml, lavar el matraz con agua, agregando los lavados al tubo hasta completar un volumen de 25 ml y mezclar.

Solución muestra -

Si la sustancia es sólida - Transferir la cantidad de muestra especificada en la monografía correspondiente a un matraz de Kjeldahl de 100 ml. [NOTA: emplear un matraz de 300 ml si la reacción genera espuma en exceso.] Inclinar el matraz a 45° y agregar, con cuidado, cantidad suficiente de una mezcla de 8 ml de ácido sulfúrico y 10 ml de ácido nítrico para impregnar la muestra. Calentar suavemente hasta que la reacción comience, dejar que la reacción disminuya y agregar porciones adicionales de la misma mezcla hasta un volumen final de 18 ml. Calentar suavemente a ebullición hasta que la solución se oscurezca. Enfriar a temperatura ambiente, agregar 2 ml de ácido nítrico y calentar nuevamente hasta que la solución se oscurezca. Continuar calentando luego del agregado de ácido nítrico hasta que la mezcla no presente oscurecimiento. Luego calentar fuertemente hasta la producción de vapores densos y blancos. Enfriar, agregar con cuidado 5 ml de agua, calentar suavemente a ebullición hasta la producción de vapores densos, blancos y continuar calentando hasta que el volumen se reduzca a unos pocos ml. Enfriar a temperatura ambiente, agregar con cuidado 5 ml de agua y examinar el color de la solución. Si el color es amarillo, agregar con cuidado 1 ml de peróxido de hidrógeno al 30 % y nuevamente evaporar hasta la producción de vapores blancos y obtener un volumen de 2 a 3 ml. Si la solución sigue siendo amarilla, agregar 5 ml de agua y repetir el tratamiento con peróxido de hidrógeno. Enfriar, diluir con cuidado con 2 a 5 ml de agua, lavar y transferir a un tubo de Nessler de 50 ml, teniendo cuidado que el volumen total no exceda los 25 ml.

Si la sustancia es líquida - Transferir la cantidad de muestra especificada en la monografía

correspondiente a un matraz de Kjeldahl de 100 ml. [NOTA: emplear un matraz de 300 ml si la reacción genera espuma en exceso.] Inclinar el matraz a 45° y agregar, con cuidado, unos pocos ml de una mezcla de 8 ml de ácido sulfúrico y 10 ml de ácido nítrico. Calentar suavemente hasta que la reacción comience, dejar que la reacción disminuya y proceder según se indica en *Si la sustancia es un sólido*, comenzando donde dice "agregar porciones adicionales de la misma mezcla hasta un volumen final de 18 ml..".

Procedimiento - Tratar la *Solución muestra* y la *Solución estándar* del siguiente modo: ajustar a pH entre 3,0 y 4,0, empleando papel indicador de pH de intervalo estrecho, con hidróxido de amonio (puede emplearse una solución de amoniaco diluido, cuando el intervalo especificado es estrecho), agregar agua hasta 40 ml y mezclar. Agregar a cada tubo 1,2 ml de tioacetamida-glicerina básica (SR) y 2 ml de *Solución reguladora de acetato pH 3,5*, diluir a 50 ml con agua, mezclar, dejar reposar durante 5 minutos y observar longitudinalmente sobre una superficie blanca: el color de la *Solución muestra* no debe ser más oscuro que el de la *Solución estándar*.

Método IV

Solución reguladora de acetato pH 3,5 - Preparar según se indica en *Método I*.

Solución estándar - A 10 ml de *Solución estándar de plomo (1 ppm)* o *Solución estándar de plomo (2 ppm)*, según se indique en la monografía correspondiente, agregar 2 ml de *Solución muestra* y mezclar.

Solución muestra - Preparar según se indica en la monografía correspondiente. Emplear 12 ml de esta solución.

Solución control - A 10 ml de agua agregar 2 ml de la *Solución muestra* y mezclar.

Procedimiento - A cada uno de los tres tubos que contienen la *Solución estándar*, la *Solución muestra* y la *Solución control*, respectivamente, agregar 2 ml de *Solución reguladora de acetato pH 3,5* y 1,2 ml de tioacetamida-glicerina básica (SR) y mezclar: la *Solución estándar* debe presentar una ligera coloración parda cuando se compara con la *Solución control*. Dejar reposar durante aproximadamente 2 minutos: si la *Solución muestra* presentase coloración parda, esta no debe ser más intensa que la de la *Solución estándar*.

Método V

Solución reguladora de acetato pH 3,5 - Preparar según se indica en *Método I*.

Solución estándar - A 10 ml de una solución de plomo de 1 ó 2 ppm, según se indique en la monografía correspondiente, preparada a partir de la

Solución estándar de plomo (100 ppm) por dilución con el solvente especificado para preparar la *Solución muestra*, agregar 2 ml de *Solución muestra* y mezclar.

Solución muestra - Disolver la cantidad de sustancia a examinar en un solvente orgánico (dioxano, acetona, etc.) que contenga un mínimo porcentaje de agua (15 %), procediendo según se indica en la monografía correspondiente. Emplear 12 ml de esta solución.

Solución control - A 10 ml del solvente empleado para preparar la *Solución muestra* agregar 2 ml de *Solución muestra* y mezclar.

Procedimiento - Proceder según se indica para *Método IV*. La *Solución estándar* debe presentar una ligera coloración parda cuando se compara con la *Solución control*. Dejar reposar durante aproximadamente 2 minutos: si la *Solución muestra* presentase coloración parda, esta no debe ser más intensa que la de la *Solución estándar*.

Método VI

Solución reguladora de acetato pH 3,5 - Preparar según se indica en *Método I*.

Solución estándar - Mezclar 4 ml de una solución de sulfato de magnesio al 25 % en ácido sulfúrico diluido y el volumen de *Solución estándar de plomo (10 ppm)* especificado en la monografía correspondiente. Mezclar con una varilla de vidrio y calentar cuidadosamente. Si la mezcla es líquida, evaporar suavemente sobre un baño de agua hasta sequedad. Calentar hasta calcinación para obtener un residuo prácticamente blanco, o a lo sumo grisáceo, sin que la temperatura supere los 800 °C. Dejar secar y humedecer el residuo obtenido con unas gotas de ácido sulfúrico diluido. Evaporar y calcinar nuevamente y luego enfriar. [NOTA: la duración total de la calcinación no debe ser mayor de 2 horas]. Recuperar el residuo empleando dos porciones de 5 ml de ácido clorhídrico diluido, agregar 0,1 ml de fenoftaleína (SR1) y luego amoniaco concentrado hasta coloración rosada. Enfriar, agregar ácido acético glacial hasta decoloración y luego agregar 0,5 ml en exceso. Si fuera necesario, filtrar y lavar el filtro. Diluir esta solución a 20 ml con agua. Transferir 10 ml de esta solución a un tubo de ensayo y agregar 2 ml de *solución muestra*.

Solución muestra - Introducir la cantidad de sustancia a examinar según se especifique en la monografía correspondiente (como máximo 2 g) en un crisol de sílice y agregar 4 ml de una solución de sulfato de magnesio al 25 % en ácido sulfúrico diluido. Proceder según se indica para la *Solución estándar*, comenzando donde dice "Mezclar con una varilla fina..." hasta "Diluir esta solución a 20 ml con agua". Emplear 12 ml de esta solución.

Solución control - A 10 ml de agua agregar 2 ml de la *Solución muestra* y mezclar.

Procedimiento - Proceder según se indica para *Método IV*. La *Solución estándar* debe presentar una ligera coloración parda cuando se compara con la *Solución control*. Dejar reposar durante aproximadamente 2 minutos: si la *Solución muestra* presentase coloración parda, esta no debe ser más intensa que la de la *Solución estándar*.

Método VII

Solución reguladora de acetato pH 3,5 - Preparar según se indica en *Método I*.

Solución estándar - A 0,5 g de óxido de magnesio, agregar la cantidad de *Solución estándar de plomo (10 ppm)* según se especifique en la monografía correspondiente y secar en estufa entre 100 y 105 °C. Calcinar hasta obtener una masa homogénea blanco o blanco-grisacea. Si luego de 30 minutos de calcinación la masa permanece coloreada, dejar enfriar, mezclar con una varilla fina de vidrio y calcinar nuevamente. Si fuera necesario, repetir esta operación. Calentar a 800 °C durante 1 hora y recuperar el residuo empleando dos porciones de 5 ml de una mezcla de agua y ácido clorhídrico al 25 % p/v (1:1). Agregar 0,1 ml de fenoltaleína (SR1) y luego amoniaco concentrado hasta coloración rosada. Enfriar, agregar ácido acético glacial hasta decoloración y luego agregar 0,5 ml en exceso. Si fuera necesario, filtrar y lavar el filtro. Diluir esta solución a 20 ml con agua. Transferir 10 ml de esta solución a un tubo de ensayo y agregar 2 ml de *Solución muestra*.

Solución muestra - Introducir la cantidad de sustancia a examinar según se especifique en la monografía correspondiente en un crisol de sílice y mezclar con 0,5 g de óxido de magnesio. Proceder según se indica para la *Solución estándar*, comenzando donde dice "Calcinar hasta obtener una masa homogénea..." hasta "Diluir esta solución a 20 ml con agua". Emplear 12 ml de esta solución.

Solución control - A 10 ml de agua agregar 2 ml de la *Solución muestra* y mezclar.

Procedimiento - Proceder según se indica para *Método IV*. La *Solución estándar* debe presentar una ligera coloración parda cuando se compara con la *Solución control*. Dejar reposar durante aproximadamente 2 minutos: si la *Solución muestra* presentase coloración parda, esta no debe ser más intensa que la de la *Solución estándar*.

Método VIII

Solución reguladora de acetato pH 3,5 - Preparar según se indica en *Método I*.

Aparato - Preparar el dispositivo de filtración indicado en la *Figura*, adaptando el tubo de una jeringa de 50 ml, sin su émbolo, a un portafiltros que contenga una membrana filtrante de unos 13 mm de diámetro y 3 µm de tamaño de poro y sobre esta, un prefiltro del mismo diámetro.

Solución estándar - Transferir el volumen de *Solución estándar de plomo (1 ppm)* según se especifique en la monografía correspondiente al tubo de la jeringa, colocar el émbolo y aplicar una presión uniforme hasta haber filtrado todo el líquido. Abrir el portafiltros, retirar el prefiltro y comprobar que la membrana filtrante no esté contaminada con impurezas. Si la membrana estuviese contaminada, reemplazarla y repetir la filtración en las mismas condiciones.

Solución muestra - Disolver la cantidad de sustancia a examinar según se especifique en la monografía correspondiente, en 30 ml de agua o el volumen indicado en la monografía correspondiente. Proceder según se indica para la *Solución estándar*.

Procedimiento - Agregar 2 ml de *Solución reguladora de acetato pH 3,5* y 1,2 ml de tioacetamida-glicerina básica (SR), al filtrado o al volumen especificado del mismo de la *Solución muestra*. Mezclar, dejar en reposo durante 10 minutos y filtrar nuevamente pero invirtiendo las posiciones del prefiltro y la membrana filtrante, de modo que el líquido pase primero por la membrana filtrante y luego por el prefiltro [NOTA: esta operación debe realizarse lenta y uniformemente, aplicando una presión moderada y constante sobre el émbolo de la jeringa]. Luego de haber filtrado todo el líquido, abrir el portafiltros, retirar la membrana filtrante y secar con papel de filtro. Proceder del mismo modo con la *Solución estándar*. El color de la mancha obtenida a partir de la *Solución muestra* no debe ser más intenso que el obtenido con la *Solución estándar*.

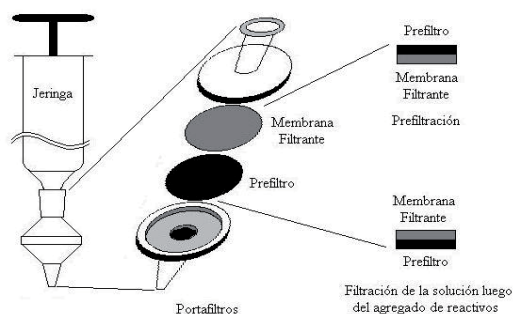


Figura. Dispositivo para prefiltrar y filtrar las soluciones de ensayo. Vista de la disposición del prefiltro y la membrana filtrante en las diferentes etapas del ensayo.

625. MÉTODOS DE ANÁLISIS PARA GASES MEDICINALES

DEFINICIONES

Gas blanco - Gas o mezcla de gases empleado para realizar el ajuste de cero en la calibración de los instrumentos analíticos.

Gas estándar - Gas o mezcla de gases empleado para realizar el ajuste de la escala en la calibración de los instrumentos analíticos.

SUSTANCIAS DE REFERENCIA

Dióxido de Carbono SR-FA - CO₂ - (PM: 44,0) - [124-38-9] - Contiene no menos de 99,995 % v/v de CO₂, menos de 5 ppm de Monóxido de Carbono y menos de 25 ppm de Oxígeno.

Monóxido de Carbono SR-FA - CO - (PM: 28,0) - [630-08-0] - Contiene no menos de 99,97 % v/v de CO.

Monóxido de Nitrógeno SR-FA - NO - (PM: 30,0) - [10102-43-9] - Contiene no menos de 98,0% v/v de NO.

Nitrógeno SR-FA - N₂ - (PM: 28,01) - [7727-37-9] - Contiene no menos de 99,999 % v/v de N₂, menos de 0,5 ppm de Monóxido de Carbono y Dióxido de Carbono y menos de 5 ppm de Oxígeno.

Oxido Nitroso SR-FA - N₂O - (PM: 44,01) - [10024-97-2] - Contiene no menos de 99,99 % v/v de N₂O, menos de 1 ppm de Monóxido de Nitrógeno y menos de 1 ppm de Monóxido de Carbono.

Oxígeno SR-FA - O₂ - (PM: 32,00) - [7782-44-7] - Contiene no menos de 99,99 % v/v de O₂, menos de 100 ppm de Nitrógeno y Argón, menos de 10 ppm de Dióxido de Carbono y menos de 0,5 ppm de Monóxido de Carbono.

Mezcla que contenga 300 ppm v/v de Dióxido de Carbono SR-FA en Nitrógeno SR-FA - Se emplea para la determinación de Dióxido de Carbono en Oxígeno por analizador infrarrojo.

Mezcla que contenga 300 ppm v/v de Dióxido de Carbono SR-FA en Óxido Nitroso SR-FA - Se emplea para la determinación de Dióxido de Carbono en Óxido Nitroso por cromatografía de gases.

Mezcla que contenga 5 ppm v/v de Monóxido de Carbono SR-FA en Nitrógeno SR-FA - Se emplea para la determinación de Monóxido de Carbono en Oxígeno por analizador infrarrojo.

Mezcla que contenga 5 ppm v/v de Monóxido de Carbono SR-FA en Óxido Nitroso SR-FA - Se emplea para la determinación de Monóxido de Carbono en Óxido Nitroso por cromatografía de gases.

Mezcla que contenga 2 ppm de Monóxido de Nitrógeno SR-FA en Nitrógeno SR-FA - Se emplea

para la determinación de Óxidos de Nitrógeno en Óxido Nitroso por quimioluminiscencia.

MÉTODOS DE ANÁLISIS

Analizador Paramagnético Para Oxígeno

Se emplea para determinar el contenido de oxígeno en gases medicinales.

El fundamento del método se basa en la propiedad que exhibe la molécula de oxígeno de ser fuertemente paramagnética. El oxígeno gaseoso se mide en base a la fuerza magnética que actúa sobre un cuerpo de prueba suspendido en un campo magnético no uniforme, cuando dicho cuerpo está rodeado por la muestra de gas. Dicha fuerza puede medirse electrónicamente y, una vez amplificada y transformada, proporciona la concentración de oxígeno en la muestra gaseosa.

La medida de la concentración de oxígeno es dependiente de la presión y de la temperatura. Por lo tanto, el analizador debe calibrarse antes del uso, si el instrumento no compensa automáticamente las variaciones de estos parámetros. El instrumento debe permitir determinar el nivel de oxígeno con una sensibilidad mínima de 0,1 %.

Calibración del instrumento -

Ajustar el cero de acuerdo a las instrucciones del fabricante, pasando Nitrógeno SR-FA a un caudal apropiado hasta obtener una lectura estable.

Ajustar la amplitud de la escala de acuerdo a las instrucciones del fabricante, pasando el gas estándar a un caudal adecuado hasta obtener una lectura estable. Utilizar aire estándar u oxígeno estándar, según corresponda.

Valoración -

Passar el gas en ensayo en las mismas condiciones en las que fuera calibrado el instrumento hasta tener una lectura estable. Determinar el contenido de oxígeno en el gas en ensayo.

Higrómetro Electrolítico

Se emplea para determinar el contenido de vapor de agua en gases medicinales.

La celda electrolítica de medición está provista de dos electrodos de alambre de platino, en forma de espiral, entrelazados y aislados entre sí, recubiertos por una capa delgada de pentóxido de fósforo. El pentóxido de fósforo es altamente higroscópico y reacciona con el vapor de agua contenido en el gas en ensayo. A continuación, se aplica un voltaje continuo a través de los electrodos, lo que produce la electrólisis del agua y una regeneración del

pentóxido de fósforo. Durante la electrólisis, se mide la corriente eléctrica que, de acuerdo con las leyes de Faraday, resulta proporcional al contenido de agua en el gas; no se requiere entonces calibración contra estándar de humedad.

Analizador de Quimioluminiscencia

Se emplea para determinar el contenido total de monóxido de nitrógeno y dióxido de nitrógeno en gases medicinales.

El instrumento consta de los siguientes componentes:

- Un dispositivo para filtrar, controlar y regular el flujo del gas bajo análisis.
- Un convertidor que reduce el dióxido de nitrógeno a monóxido de nitrógeno, para determinar el contenido total de monóxido y dióxido de nitrógeno. La eficiencia del convertidor debe ser controlada antes de usar.
- Un generador de ozono de caudal controlado. El ozono se produce por descargas de corriente eléctrica de alto voltaje a través de dos electrodos. El generador de ozono se alimenta con oxígeno puro, o con aire ambiental deshidratado. Para asegurar que la reacción se lleve a cabo en forma cuantitativa, la concentración de ozono debe ser muy superior de 2 ppm, máxima

cantidad de óxidos de nitrógeno permitidos en la muestra.

- Una cámara de reacción de monóxido de nitrógeno y ozono.
- Un sistema para la detección de la luz emitida, consistente en un filtro óptico selectivo de $1,2 \mu\text{m}$ de longitud de onda y un tubo fotomultiplicador.

El gas bajo análisis ingresa a un caudal constante, previo paso por el filtro de partículas, en la cámara de reacción, donde se mezcla con un exceso de ozono. Allí se forma la especie excitada NO^* que, al decaer a su estado fundamental de energía, emite una radiación cuya intensidad es proporcional a la cantidad de monóxido de nitrógeno presente en la muestra. La energía luminosa se transforma en una señal eléctrica por medio de un sistema de filtro y fotomultiplicador.

El resultado obtenido debe multiplicarse por un factor de corrección debido al efecto de atenuación que causa la matriz de óxido nitroso en la señal luminiscente. Dicho factor se determina empleando una mezcla de referencia de monóxido de nitrógeno en óxido nitroso, comparando el contenido de la mezcla con la lectura indicada por el analizador.

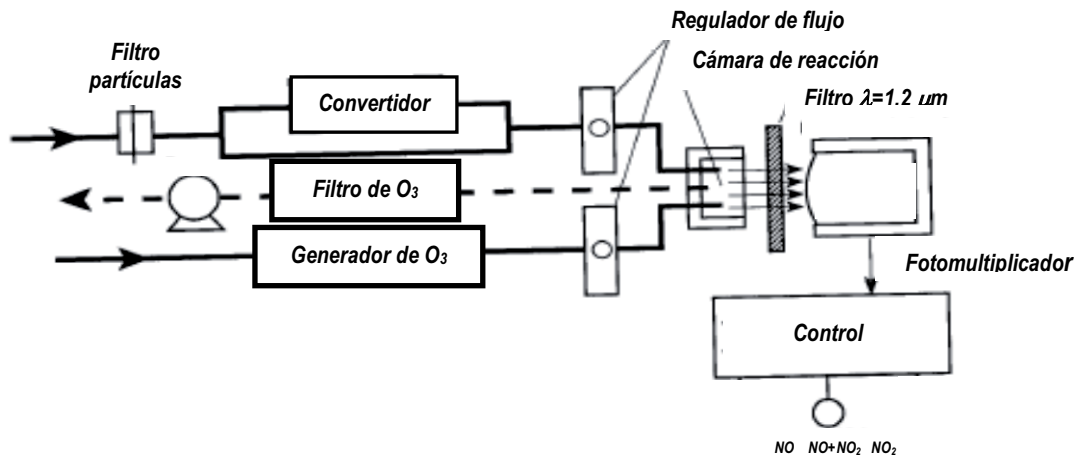


Figura 1. Analizador de Quimioluminiscencia

Analizador Infrarrojo

La fuente de radiación infrarroja posee un sistema para generar dos haces idénticos: uno atraviesa la celda por la que fluye el gas bajo análisis y el otro la celda de referencia, que contiene Nitrógeno SR-FA.

Este sistema de detección se basa en la medida de la diferencia de presión entre dos cámaras para gases, separadas por un diafragma metálico. Ambas cámaras contienen Dióxido de Carbono SR-FA o Monóxido de Carbono SR-FA, según se proceda al ensayo de uno u otro gas en la muestra.

La absorción de radiación infrarroja produce calor y consecuentemente un aumento de presión en las cámaras del detector. Debido a que la absorción de energía radiante por parte del Dióxido o Monóxido de Carbono contenido en la celda de la muestra y del Nitrógeno contenido en la celda de referencia es distinta, la presión en ambas cámaras

del detector será diferente. Esta diferencia de presión provoca la distensión del diafragma que las separa. El diafragma es parte de un capacitor, cuya capacitancia varía con la diferencia de presión, la que depende del contenido de dióxido de carbono o de monóxido de carbono en el gas en ensayo.

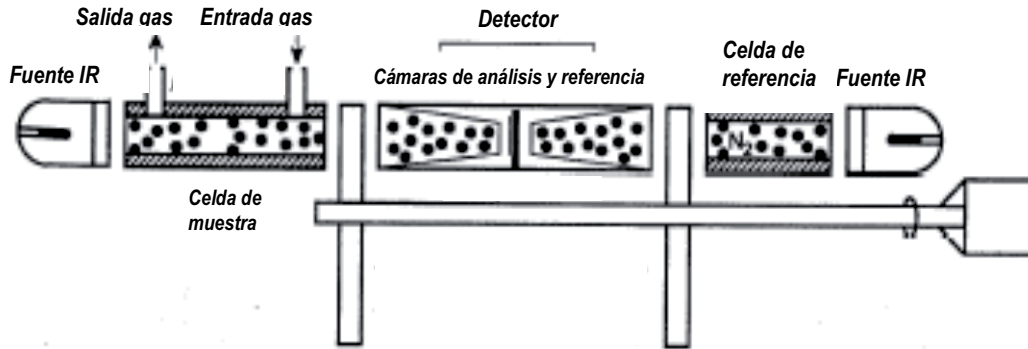


Figura 2. Analizador infrarrojo

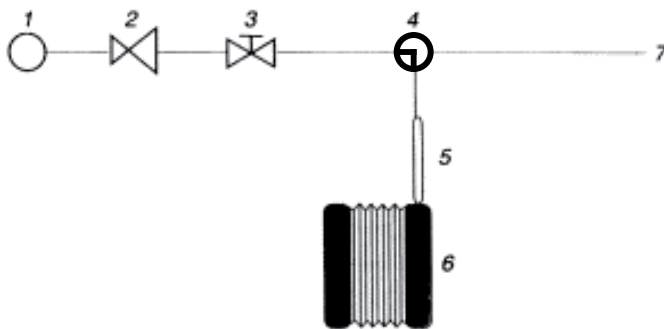
Tubos Detectores de Gases

Son tubos cilíndricos, de diámetro interior constante, de vidrio u otro material inerte y transparente, cerrados herméticamente y construidos de modo de permitir el paso de los gases en ensayo. Cada tubo detector contiene una cantidad precisa de los reactivos apropiados, adsorbidos sobre sustratos inertes adecuados para la visualización directa de la sustancia a detectar. De ser necesario, también pueden contener capas previas a la reactiva y/o filtros adsorbentes, con el fin de eliminar las interferencias. La capa de indicador puede contener un único o bien varios reactivos para la detección de una o

varias sustancias (tubos monocapa o multicapa). El ensayo se realiza haciendo pasar el volumen necesario del gas a analizar a través del tubo indicador. La longitud de la capa coloreada o la intensidad del cambio de color sobre una escala graduada da información sobre cantidad de sustancia presente.

La calibración de los tubos detectores se realiza de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Condiciones de funcionamiento - Proceder de acuerdo con las instrucciones del fabricante o empleando un dispositivo como el que se muestra en la figura siguiente:



1. Envase de gas
2. Regulador de presión
3. Válvula de aguja
4. Llave de conmutación
5. Tubo detector
6. Bomba dosificadora
7. Extremo abierto atmósfera

Figura 3

El envase que suministra el gas debe estar conectado a un regulador de presión adecuado y a una válvula de aguja. Conectar a la válvula aguja un tubo flexible provisto de una llave de conmutación. Purgar el sistema con la llave 4 en la posición de purga (7) y ajustar el flujo del gas bajo análisis a un valor apropiado.

Romper ambos extremos del tubo detector y conectar el tubo entre la bomba dosificadora y la válvula 4, siguiendo las instrucciones del fabricante. Operar la bomba 6 de manera de permitir el paso de un volumen adecuado del gas bajo análisis a través del tubo. Leer el valor correspondiente a la longitud de la capa coloreada o a la intensidad del color sobre la escala graduada. Si el resultado obtenido es negativo, el tubo detector debe ser verificado con un gas de calibrado que contenga la sustancia a detectar.

La bomba dosificadora 6 puede reemplazarse eventualmente por un caudalímetro apropiado.

No utilizar el tubo detector para más de una determinación.

Tipos de tubos

Tubo detector de Aceite - Contiene filtros adsorbentes y soportes adecuados para el indicador ácido sulfúrico. El valor mínimo indicado es $0,1 \text{ mg/m}^3$ con una desviación estándar relativa máxima de $\pm 30 \%$.

[NOTA: debido a la gran diversidad de aceites para compresores, es necesario verificar la reactividad de los tubos detectores de aceites frente al aceite usado. La información sobre la reactividad de diversos aceites se da en el folleto suministrado con el tubo.]

Tubo detector de Amoníaco - Contiene filtros adsorbentes y soportes adecuados para el indicador azul de bromofenol. El valor mínimo indicado es

5 ppm con una desviación estándar relativa máxima de $\pm 10 \%$.

Tubo detector de Cloro - Contiene filtros adsorbentes y soportes adecuados para el indicador o-toluidina. El valor mínimo indicado es 0,5 ppm con una desviación estándar relativa máxima de $\pm 10 \%$.

Tubo detector de Dióxido de Azufre - Contiene filtros adsorbentes y soportes adecuados para los indicadores yodo y almidón. El valor mínimo indicado es 0,5 ppm con una desviación estándar relativa máxima de $\pm 15 \%$.

Tubo detector de Dióxido de Carbono - Contiene filtros adsorbentes y soportes adecuados para los indicadores hidrazina y violeta cristal. El valor mínimo indicado es 100 ppm con una desviación estándar relativa máxima de $\pm 15 \%$.

Tubo detector de Monóxido de Carbono - Contiene filtros adsorbentes y soportes adecuados para los indicadores pentóxido de iodo, dióxido de selenio y ácido sulfúrico fumante. El valor mínimo indicado es 2,5 ppm con una desviación estándar relativa máxima de $\pm 15 \%$.

Tubo detector para Monóxido y Dióxido de Nitrógeno - Contiene filtros adsorbentes y soportes adecuados para una capa oxidante de una sal de Cr(VI) y el indicador difenilbencidina. El valor mínimo indicado es 0,5 ppm con una desviación estándar relativa máxima de $\pm 15 \%$.

Tubo detector de Sulfuro de Hidrógeno - Contiene filtros adsorbentes y soportes adecuados para un indicador apropiado de sal de plomo. El valor mínimo indicado es 0,25 ppm con una desviación estándar relativa máxima de $\pm 10 \%$.

Tubo detector de Vapor de Agua - Contiene filtros adsorbentes y soportes adecuados para el indicador perclorato de magnesio. El valor mínimo indicado es 0,05 mg de vapor de agua por litro con una desviación estándar relativa máxima de $\pm 20 \%$.

635. MÉTODOS INMUNOQUÍMICOS

Los métodos inmunoquímicos se basan en la unión específica, reversible y no covalente entre antígenos y anticuerpos. Estos métodos se emplean para detectar o cuantificar tanto antígenos como anticuerpos. La formación de un complejo antígeno-anticuerpo puede ser detectado y la cantidad del complejo formado puede ser medida por varias técnicas. Este método general se aplica a métodos inmunoquímicos que emplean, según el caso, reactivos marcados o no marcados.

Los resultados de los métodos inmunoquímicos dependen de las condiciones experimentales y de la naturaleza y calidad de los reactivos empleados. Es esencial estandarizar los componentes de un inmunoensayo y emplear, cuando se hallen disponibles, las Preparaciones Internacionales de Referencia para Inmunoensayos.

Los reactivos necesarios para numerosos métodos inmunoquímicos se hallan disponibles como kits comerciales, es decir, un conjunto que incluye los reactivos (especialmente el antígeno o el anticuerpo) y los materiales destinados al ensayo *in vitro* de una sustancia específica, así como las instrucciones para su correcto empleo. Los kits deben emplearse siguiendo las instrucciones del fabricante; es importante asegurarse que el kit es apropiado para el análisis de la preparación muestra, sobre todo en lo que se refiere a la especificidad y sensibilidad. Las recomendaciones relativas a los kits para inmunoensayos son establecidas por la Organización Mundial de la Salud, Serie de Informes Técnicos 658 (1981).

MÉTODOS EN LOS QUE SE EMPLEA UN ANTÍGENO MARCADO O UN ANTICUERPO MARCADO

Los métodos que emplean sustancias marcadas pueden emplear marcadores apropiados como enzimas, fluoróforos, luminóforos y radioisótopos. Cuando el marcador es un radioisótopo, el método se denomina radioinmunoensayo o ensayo de unión de radioligando. Las recomendaciones para la medida de la radiactividad que se hallan en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas* son aplicables a los inmunoensayos que involucran radioisótopos. Todo trabajo que emplee materiales radiactivos debe realizarse de acuerdo con las normas regulatorias que rigen en la materia y las reglas de buenas prácticas internacionalmente aceptadas para la protección frente a los riesgos de radiación.

MÉTODOS EN LOS QUE SE EMPLEA UN ANTÍGENO O UN ANTICUERPO NO MARCADO

Métodos de inmunoprecipitación

Los métodos de inmunoprecipitación incluyen las reacciones de floculación y precipitación. Cuando se mezcla una solución de antígeno con su anticuerpo correspondiente, en las condiciones apropiadas, los reactivos forman agregados floculantes o precipitantes. La relación entre la cantidad de los reactivos que produce el menor tiempo de floculación o la precipitación más acentuada se denomina la relación óptima, generalmente se obtiene en presencia de cantidades equivalentes de antígeno y anticuerpo. La inmunoprecipitación puede detectarse por observación visual o determinarse mediante técnicas de dispersión de la luz (ensayos nefelométricos o turbidimétricos). Es posible lograr un incremento de la sensibilidad mediante el empleo, como soporte, de partículas (por ej. látex) recubiertas de antígeno o anticuerpo.

En los métodos de floculación se emplean diluciones sucesivas de uno de los reactivos, mientras que en los métodos de inmunodifusión (ID), se obtiene la dilución del reactivo por su difusión en un gel, se establecen gradientes de concentración de uno o de ambos reactivos, para crear zonas en el gel en las que la relación entre los reactivos favorece la precipitación. Los métodos de floculación se llevan a cabo en tubos de ensayo, mientras que los métodos de ID pueden realizarse empleando diferentes soportes como tubos, placas, portaobjetos, cubetas o cámaras.

La inmunoprecipitación se denomina *simple* cuando un solo antígeno se combina con su correspondiente anticuerpo; se denomina *compleja* cuando involucra reactivos relacionados pero no serológicamente idénticos y *múltiple* cuando intervienen varios reactivos no relacionados serológicamente.

En los *métodos de difusión simple* se establece un gradiente de concentración para uno solo de los reactivos que difunde desde una fuente externa al gel que contiene el reactivo correspondiente a una concentración relativamente baja.

La *inmunodifusión radial simple* (IDRS) es una técnica simple de inmunodifusión cuantitativa. Cuando se establece el equilibrio entre los reactivos externo e interno, el área de precipitación circular que se origina desde el punto de aplicación del reactivo externo, es directamente proporcional a la concentración del antígeno aplicado e inversamente

proporcional a la concentración de anticuerpo en el gel.

En los *métodos de doble difusión* se establecen gradientes de concentración para ambos reactivos. El antígeno y el anticuerpo difunden desde lugares separados en un gel inicialmente neutro desde el punto de vista inmunológico.

Los *métodos comparativos de difusión doble* se emplean para comparar, cualitativamente, diversos antígenos frente a un anticuerpo apropiado o viceversa. La comparación se basa en la presencia o ausencia de interacción entre las líneas de precipitación. Se pueden distinguir las reacciones de identidad, de no identidad o de identidad parcial de antígenos/anticuerpos.

Métodos inmunolectroforéticos

La inmunolectroforesis (IE) es una técnica cualitativa que combina dos métodos: la electroforesis en gel seguida de la inmunodifusión.

La *inmunolectroforesis cruzada* es una modificación del método de IE, apropiada para ensayos cuali y cuantitativos. En una primera fase de la técnica, se lleva a cabo una electroforesis en gel clásica tras la cual la banda longitudinal del gel, que contiene las fracciones a ensayar, se corta y se transfiere a otra placa. Esta nueva placa se somete a una segunda electroforesis, en un ángulo de 90° respecto a la primera corrida electroforética, empleando un gel que contiene una concentración de anticuerpos comparativamente menor con respecto a los antígenos correspondientes. Para una concentración de anticuerpos y un espesor de gel determinados, la relación entre la respuesta de cada uno de los picos de precipitación y la cantidad del antígeno correspondiente es lineal.

El *electroinmunoensayo*, a menudo denominado rocket inmunolectroforesis, es un método rápido cuantitativo para determinar antígenos con carga diferente de los anticuerpos o viceversa. La electroforesis del antígeno que va a ser analizado se lleva a cabo en un gel que contiene una concentración comparativamente menor del correspondiente anticuerpo. La preparación muestra y las diluciones del antígeno empleado como estándar se introducen en diferentes orificios del gel. Durante la electroforesis se forman arcos de precipitación de forma puntiaguda denominada "rockets" que migran desde los orificios. Cuando el antígeno ya no está en exceso el frente del precipitado detiene su avance. Para una concentración dada en anticuerpo, la relación entre la distancia recorrida por el precipitado y la cantidad de antígeno aplicada es lineal.

La *contraimunolectroforesis* es un método cuantitativo rápido que permite establecer gradientes de concentración de antígeno externo y anticuerpo externo en un campo eléctrico según sus diferentes cargas. Las diluciones de un estándar de calibración y las diluciones de la preparación muestra se introducen en una fila de orificios en el gel y en una fila de orificios opuesta a la primera se introduce una cantidad conocida del reactivo correspondiente. El título de la preparación muestra ensayada se puede considerar como la dilución más elevada que da lugar a línea de precipitación.

Existen diversas modificaciones de la *inmunolectroforesis* cruzada y de los métodos de *electroinmunoensayo*.

Otras técnicas combinan la separación de los antígenos según su tamaño molecular y sus propiedades serológicas.

Visualización y caracterización de las líneas de inmunoprecipitación

Estas pueden realizarse mediante tinciones selectivas o no selectivas, por fluorescencia, mediante marcación enzimática e isotópica o por otras técnicas apropiadas. Los métodos de tinción selectiva son los empleados, habitualmente, para la caracterización de sustancias no proteicas en los precipitados.

En los geles traslúcidos, como los de agar o agarosa, la línea de precipitación es visible claramente, siempre que la concentración de cada uno de los reactivos sea la apropiada.

VALIDACIÓN DEL MÉTODO

Criterios de validación

El método inmunoquímico cuantitativo solo es válido si:

- 1) El antígeno o anticuerpo no discrimina entre preparación muestra y estándar.
- 2) El método no se ve afectado por otros componentes de la preparación muestra o de sus excipientes, que pueden variar de una muestra a otra. Estos componentes pueden incluir concentraciones elevadas de otras proteínas, sales, conservantes o actividad proteolítica contaminante.
- 3) El límite de cuantificación es inferior al criterio de aceptación indicado en la monografía correspondiente.
- 4) La precisión de la valoración es tal que la varianza de los resultados corresponde a la exigencia establecida en la monografía correspondiente.

5) Hay ausencia de errores sistemáticos, ligados a la secuencia en la que se ha efectuado la determinación.

Métodos de validación

Para verificar estos criterios, el método de validación debe respetar lo siguiente:

1) La valoración se realiza, al menos, por triplicado.

2) La valoración incluye, como mínimo, 3 diluciones diferentes de la preparación estándar y 3 diluciones diferentes de la preparación muestra que supuestamente presentan una actividad similar a la preparación estándar.

3) El diseño del ensayo es aleatorizado.

4) Si la preparación muestra es un suero o si está formulada con otros componentes, el estándar se prepara de la misma manera.

5) La valoración incluye la medida de la unión inespecífica del reactivo marcado.

6) Para los inmunoensayos con desplazamiento:

a) Se determina la unión máxima (desplazamiento cero).

b) Las diluciones cubren la gama completa de respuestas desde la unión máxima hasta valores cercanos a la unión inespecífica, preferentemente tanto para la preparación muestra como para el estándar.

CÁLCULO ESTADÍSTICO

Para el análisis de resultados, las curvas de respuestas de la preparación muestra y la del estándar, pueden evaluarse según los métodos descritos en *10. Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos*.

Un no paralelismo significativo indica que el anticuerpo o el antígeno discrimina entre la preparación muestra y el estándar e implica que los resultados no son válidos.

En los inmunoensayos con desplazamiento, los valores de uniones inespecíficas y del máximo desplazamiento, a una concentración elevada de la preparación muestra o del estándar, no deben ser significativamente diferentes. Las diferencias podrían reflejar la interferencia debida al efecto matriz tanto por inhibición de la unión como por degradación del marcador.

740. UNIFORMIDAD DE UNIDADES DE DOSIFICACIÓN

La Uniformidad de Unidades de Dosificación se define como el grado de homogeneidad en la cantidad de principio activo de las unidades de dosificación.

La unidad de dosificación está constituida por una forma farmacéutica monodosis o la fracción a administrar de una forma farmacéutica multidosis provista de sistema dosificador.

Los requisitos de este capítulo son aplicables a unidades de dosificación que contengan uno o más principios activos, aplicándose en este último caso a cada uno de ellos, a menos que se especifique de otro modo en la monografía individual.

La especificación de la uniformidad de unidades de dosificación no es aplicable a suspensiones, emulsiones o geles en envases de dosis única destinados para administración tópica.

La uniformidad de las unidades de dosificación se puede demostrar mediante uno de los siguientes ensayos, *Uniformidad de Contenido* o *Uniformidad de peso* (ver *Tabla 1*). El ensayo de *Uniformidad de Contenido* se basa en la valoración individual del contenido de un principio activo o principios activos en un número de unidades de dosificación a fin de determinar si el contenido individual se encuentra dentro de los límites especificados. El ensayo de *Uniformidad de Contenido* se puede aplicar en todos los casos.

Aunque se emplee el ensayo de *Uniformidad de peso*, en caso de controversia el producto deberá cumplir con el ensayo oficial de *Uniformidad de Contenido*.

El ensayo de *Uniformidad de peso* podrá aplicarse sólo para las formas farmacéuticas que se

describen a continuación, a menos que se indique lo contrario en la monografía individual:

- a) Soluciones contenidas en envases de dosis única y en cápsulas blandas.
- b) Sólidos (incluidos los polvos, gránulos y sólidos estériles) en envases monodosis, que no contengan otras sustancias activas o inactivas agregadas.
- c) Sólidos (incluidos los sólidos estériles) en envases monodosis que contengan o no otras sustancias activas o inactivas agregadas, que hayan sido liofilizados a partir de soluciones verdaderas en sus envases finales que declaran haber sido liofilizados.
- d) Cápsulas rígidas, comprimidos sin cubierta o con cubierta filmica que contengan 50 mg o más de un principio activo que corresponda al 50 % o más, en peso, de la unidad de dosificación o, en el caso de cápsulas rígidas, el contenido de las cápsulas, excepto que se muestre la uniformidad de otros principio activos presentes en proporciones menores en cumplimiento de los requisitos de *Uniformidad de Contenido*.

El ensayo de *Uniformidad de Contenido* se requiere para todas las formas farmacéuticas que no cumplen las condiciones enumeradas anteriormente para el ensayo de *Uniformidad de peso*.

Tabla 1. Aplicación de los Ensayos de Uniformidad de Contenido (UC) y Uniformidad de peso (UP) para Formas Farmacéuticas.

Forma Farmacéutica	Tipo	Subtipo	Dosis y Proporción de Principio activo	
			≥ 50 mg y ≥ 50 %	< 50 mg y < 50 %
Comprimidos	Sin cubierta		UP	UC
	Recubiertas	Cubierta filmica	UP	UC
		Otras	UC	UC
Cápsulas	Rígidas		UP	UC
	Blandas	Suspensión, Emulsión o gel	UC	UC
		Soluciones	UP	UP
Sólidos en envases monodosis	Componente único		UP	UP
	Varios componentes	Solución liofilizada en envase final	UP	UP
		Otras	UC	UC
Soluciones en envases de dosis única			UP	UP
Sistemas transdérmicos			UC	UC
Supositorios			UC	UC
Otros			UC	UC

UNIFORMIDAD DE CONTENIDO

Seleccionar no menos de 30 unidades y proceder como se indica a continuación para cada forma farmacéutica especificada. Cuando sea necesario, la monografía indicará un *Procedimiento especial para Uniformidad de Contenido* diferente al de la valoración.

Formas farmacéuticas sólidas - Valorar 10 unidades individualmente empleando un ensayo analítico adecuado. Calcular el valor de aceptación.

Formas farmacéuticas líquidas - Realizar la *Valoración* sobre la cantidad de material bien mezclado que se retira de un envase individual en condiciones normales de uso y expresar los resultados como dosis extraída. Calcular el valor de aceptación.

Cálculo del Valor de Aceptación - Calcular el valor de aceptación por la fórmula siguiente:

$$|M - \bar{X}| + ks$$

en donde los términos se definen en la *Tabla 2*.

Tabla 2

Variable	Definición	Condiciones	Valor
\bar{X}	Media de los contenidos individuales (x_1, x_2, \dots, x_n), expresados como porcentaje de la cantidad declarada.		
x_1, x_2, \dots, x_n	Contenido individual de las unidades analizadas, expresado como porcentaje de la cantidad declarada		
n	Tamaño de la muestra (número de unidades en una muestra)		
k	Constante de aceptabilidad	Si $n = 10$	2,4
		Si $n = 30$	2,0
s	Desviación estándar de la muestra		$\left[\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n - 1} \right]^{\frac{1}{2}}$
CV	Coefficiente de variación o Desviación estándar relativa		$\frac{100s}{\bar{X}}$
Valor de Aceptación (VA)			fórmula general: $ M - \bar{X} + ks$
M (caso 1) a aplicar cuando $T \leq 101,5$	Valor de referencia	Si $98,5 \% \leq \bar{X} \leq 101,5 \%$	$M = \bar{X}$ $(VA = ks)$
		Si $\bar{X} \leq 98,5 \%$	$M = 98,5 \%$ $VA = 98,5 \% - \bar{X} + ks$
		Si $\bar{X} > 101,5 \%$	$M = 101,5 \%$ $VA = \bar{X} - 101,5 \% + ks$
M (caso 2) a aplicar cuando $T > 101,5$	Valor de referencia	Si $98,5 \% \leq \bar{X} \leq T$	$M = \bar{X}$ $VA = ks$
		Si $\bar{X} \leq 98,5 \%$	$M = 98,5 \%$ $VA = 98,5 \% - \bar{X} + ks$
		Si $\bar{X} > T$	$M = T \%$ $VA = \bar{X} - T + ks$
$L1$	Máximo valor de aceptación permitido		$L1 = 15,0$ a menos que se especifique algo diferente en la monografía individual
$L2$	Máximo intervalo permitido para la desviación de cada unidad de dosificación analizada a partir del valor calculado de M	Para los valores inferiores, ningún resultado de unidad de dosificación puede ser menor de $[1 - (0,01)(L2)]M$, mientras que para los valores superiores ningún resultado de unidad de dosificación puede ser mayor de $[1 + (0,01)(L2)]M$	$L2 = 25,0$ a menos que se especifique algo diferente en la monografía individual

T	<p>Contenido deseado por unidad de dosificación al momento de fabricación, expresado como porcentaje de la cantidad declarada. A menos que se especifique algo diferente en la monografía individual, T es 100,0 %, y para los propósitos de fabricación, T es el valor deseado aprobado de la cantidad de ensayo del fabricante en el momento de la fabricación.</p>		
-----	---	--	--

UNIFORMIDAD DE PESO

Llevar a cabo una valoración del (de los) principio activo (s) en una muestra representativa del lote empleando un ensayo analítico adecuado. Este valor es el resultado V , expresado como porcentaje de la cantidad declarada (ver *Cálculo del Valor de Aceptación*). Se debe asumir que la concentración (peso del principio activo por unidad de dosificación) es uniforme. Seleccionar no menos de 30 unidades de dosificación y proceder según se indica a continuación para la forma farmacéutica especificada.

Comprimidos y Comprimidos con cubierta filmica - Pesar con exactitud 10 comprimidos individualmente. Calcular el contenido, expresado como % de la cantidad declarada, a partir del peso del contenido individual y del resultado de la *Valoración*. Calcular el valor de aceptación.

Cápsulas rígidas - Pesar con exactitud 10 cápsulas individualmente, teniendo cuidado de preservar la identidad de cada cápsula. Retirar cuantitativamente el contenido de cada cápsula por un medio adecuado. Pesar individualmente con exactitud las cubiertas vacías y calcular para cada cápsula el peso neto de su contenido restando el peso de la cubierta del peso bruto respectivo. Calcular el contenido del principio activo de cada cápsula a partir del peso neto del contenido de la cápsula individual y del resultado de la *Valoración*. Calcular el valor de aceptación.

Cápsulas blandas - Pesar con exactitud 10 cápsulas intactas individualmente para obtener sus pesos brutos, teniendo cuidado de preservar la identidad de cada cápsula. Luego cortar y abrir las cápsulas con ayuda de un instrumento cortante seco, limpio y adecuado y retirar el contenido lavando con un solvente apropiado. Dejar que el disolvente ocluido se evapore de las cubiertas a temperatura ambiente durante un período de aproximadamente 30 minutos, tomando precaución de evitar la absorción o pérdida de humedad. Pesar las cubiertas individualmente y calcular el contenido neto. Calcular el contenido de principio activo en cada cápsula a partir del peso del producto retirado

de la cápsula individual y del resultado de la *Valoración*. Calcular el valor de aceptación.

Formas farmacéuticas sólidas diferentes de comprimidos y cápsulas - Proceder según se indica en cápsulas rígidas. Calcular el valor de aceptación.

Formas farmacéuticas líquidas - Pesar con exactitud la cantidad de líquido que se retira de cada uno de 10 envases individuales en condiciones normales de uso. Si fuera necesario, calcular el volumen equivalente después de determinar la densidad. Calcular el contenido de principio activo en cada envase a partir de la masa de producto retirada de los envases individuales y el resultado de la *Valoración*. Calcular el valor de aceptación.

Cálculo del Valor de Aceptación - Calcular como se indica en *Uniformidad de Contenido* con la excepción de que el contenido individual de las unidades se reemplaza por el contenido estimado individual, como se define a continuación:

x_1, x_2, \dots, x_n = contenido estimado individual de las unidades analizadas, en donde $x_i = p_i \times V / \bar{P}$,

\bar{P} = media de pesos individuales (p_1, p_2, \dots, p_n), y

V = contenido de principio activo (porcentaje de la cantidad declarada) obtenido empleando un ensayo analítico adecuado.

Criterios

Aplicar los siguientes criterios, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente.

Formas farmacéuticas sólidas y líquidas - Los requisitos para la uniformidad de dosificación se cumplen si el valor de aceptación de las primeras diez unidades de dosificación es menor o igual a $L1$. Si el valor de aceptación es mayor que $L1$, analizar las siguientes veinte unidades y calcular el valor de aceptación. Los requisitos para la uniformidad se

cumplen si el valor de aceptación final de las treinta unidades de dosificación es menor o igual a L_1 , y si el contenido individual de ninguna unidad de dosificación es menor de $[1 - (0,01)(L_2)] M$ ni mayor de $[1 + (0,01)(L_2)] M$ como se especifica en *Cálculo de Valor de Aceptación en Uniformidad de Contenido* o en *Uniformidad de peso*. A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, L_1 es 15,0 y L_2 es 25,0.

745. VACUNAS DE USO HUMANO

Vaccina ad usum humanum

Definición - Las vacunas para uso humano son preparaciones que contienen sustancias antigénicas capaces de inducir en el hombre una inmunidad activa específica contra un agente infeccioso o toxina o antígeno elaborada por el mismo. Las vacunas deben poseer una actividad inmunogénica aceptable demostrada en el hombre para el esquema propuesto.

Las vacunas para uso humano pueden contener: organismos inactivados por medios químicos o físicos que mantengan las propiedades inmunogénicas adecuadas; organismos vivos que son naturalmente no virulentos o que han sido tratados para atenuar su virulencia conservando las propiedades inmunogénicas adecuadas; antígenos extraídos o secretados de organismos o producidos por ingeniería genética. Los antígenos pueden ser utilizados en su estado nativo o detoxificado por medios químicos o físicos y pueden ser agregados, polimerizados o conjugados a un portador para incrementar su inmunogenicidad.

GLOSARIO

Sistema de lote semilla - En un sistema de lote semilla los lotes sucesivos de un producto se derivan del mismo lote semilla maestro. Para la producción de rutina, puede prepararse un lote semilla de trabajo a partir del lote semilla maestro. Debe registrarse el origen y el listado histórico de los pasajes del lote semilla maestro y del de trabajo.

Lote semilla maestro - Cultivo de un microorganismo distribuido desde un único contenedor a envases que se procesan juntos en una misma operación, de tal manera que se asegure la uniformidad y la estabilidad y se evite la contaminación. Un lote semilla maestro normalmente se almacena en forma líquida a una temperatura igual o menor de -70°C o en forma liofilizada a la temperatura necesaria para garantizar su estabilidad.

Lote semilla de trabajo - Cultivo de un microorganismo derivado del lote semilla maestro y destinado a ser utilizado en la producción. Los lotes semilla de trabajo se distribuyen en envases y se conservan como se ha indicado para el lote semilla maestro.

Sistema de banco de células - En un sistema de banco de células, los lotes sucesivos de un producto se fabrican por cultivo en células derivadas de un mismo banco maestro de células. Se usa un número de envases del banco maestro de células para preparar un banco de trabajo de células. Debe validarse el

número mayor de pasajes permitido durante la producción de rutina para el sistema de banco de células.

Banco maestro de células - Cultivo de células distribuido en envases en una única operación, procesado y conservado de tal manera que se evite la contaminación y quede garantizada la uniformidad y la estabilidad. El banco maestro de células se almacena normalmente a una temperatura igual o menor de -70°C .

Banco de trabajo de células - Cultivo de células derivadas del banco maestro de células destinado a la preparación de cultivos celulares para producción. El banco de trabajo de células se distribuye en envases, se procesa y se almacena del modo descrito para el banco maestro de células.

Cultivo primario de células - Cultivo de células obtenido por tripsinación de un tejido u órgano adecuado. Las células son esencialmente idénticas a las del tejido animal de origen y se encuentran en una fase de producción menor a 5 pases *in vitro* desde la preparación inicial a partir del tejido animal.

Línea celular - Cultivo de células que tienen una elevada capacidad de multiplicación *in vitro*. En las líneas de células diploides, las células tienen esencialmente las mismas características que las del tejido animal de origen. En las líneas celulares continuas, las células pueden multiplicarse indefinidamente en cultivo y se pueden obtener de tejidos sanos o tumorales. Algunas líneas celulares continuas pueden presentar potencial actividad oncogénica en ciertas condiciones.

Cultivo celular de producción - Cultivo de células derivado de uno o varios envases del banco de trabajo de células o de células primarias, destinado al uso en la producción.

Células control - Una cantidad de células dejadas aparte, en el momento de la inoculación del virus, como control de células no infectadas. Estas células se someten a incubación en condiciones equivalentes a las usadas para los cultivos celulares de producción.

Cosecha única - Producto derivado en una o más ocasiones de un sólo cultivo celular de producción inoculado con el mismo lote semilla de trabajo o con una suspensión derivada de dicho lote, sometido a incubación y cosechado en una única operación de producción.

Mezcla de cosechas monovalente - Una mezcla de cosechas que contiene una sola cepa o tipo de microorganismo o de antígeno, derivada de huevos,

de cultivos celulares, etc., procesados al mismo tiempo.

Vacuna final a granel - Producto que ha experimentado todos los pasos de fabricación a excepción del envasado final. Consiste en una o más mezclas de cosechas monovalentes, procedentes de cultivos de una o de varias especies o tipos de microorganismos, después de la clarificación, dilución o adición de coadyuvantes o de otras sustancias auxiliares, o tras otras operaciones. Se somete a un tratamiento que asegure su homogeneidad y se utiliza para el llenado de los envases de uno o más lotes finales.

Vacunas bacterianas - Suspensiones de distinto grado de opacidad en líquidos incoloros o casi incoloros. Pueden presentarse también en forma liofilizada. La concentración de bacterias vivas o inactivadas se expresa en términos de unidades de opacidad o, cuando sea apropiado, se determina por conteo directo de células o por conteo de viables para bacterias vivas.

Toxoides bacterianos - Son preparados a partir de toxinas por disminución de su toxicidad a niveles no detectables o por eliminación completa de la misma por procedimientos químicos o físicos manteniendo las propiedades inmunogénicas. Las toxinas son obtenidas a partir de cepas específicas de microorganismos. El método de producción es tal que el toxoide no revierta a toxina. Los toxoides pueden ser líquidos o liofilizados. Pueden ser purificados y adsorbidos. Los toxoides adsorbidos son suspensiones de partículas blancas o grises dispersas en líquido incoloro o amarillo pálido y pueden formar un sedimento en el fondo del envase.

Vacunas virales - Son preparadas a partir de virus desarrollados en animales, en huevos fertilizados, en cultivos celulares adecuados o en tejidos adecuados o por cultivos de células obtenidas por ingeniería genética. Pueden presentarse en forma de líquido de variada opacidad o como liofilizado. Las preparaciones líquidas y liofilizadas luego de la reconstitución pueden ser coloreadas si se ha utilizado en el medio de cultivo un indicador de pH tal como rojo fenol.

Algunas vacunas o sus componentes pueden ser obtenidas a partir de técnicas de biotecnología y deben responder a lo establecido para los productos biotecnológicos.

PRODUCCIÓN

Consideraciones generales

Los requisitos para la producción, incluyendo los controles en proceso están incluidos en las monografías individuales.

Salvo casos justificados y autorizados, las vacunas son preparadas utilizando un sistema de lote

semilla. Los métodos de preparación deben ser diseñados de forma de mantener las propiedades inmunogénicas y obtener una preparación inocua libre de contaminación con agentes extraños.

Salvo caso justificado y autorizado, en la producción de un lote final de vacuna el número de pasajes del virus o el número de subcultivos de la bacteria a partir del lote semilla maestro no debe ser mayor al utilizado para la producción de la vacuna usada en ensayos clínicos para demostrar seguridad y eficacia.

Las vacunas deben, hasta donde sea posible, estar libres de ingredientes conocidos que causen reacciones tóxicas, alérgicas u otras reacciones indeseables en el hombre. Pueden ser incorporados aditivos adecuados, incluyendo estabilizantes y adyuvantes. No puede utilizarse penicilina ni estreptomycinina en ninguna etapa de la producción ni pueden ser agregadas al producto final; sin embargo, los lotes semilla maestro preparados con medio conteniendo penicilina o estreptomycinina pueden ser utilizados para la producción cuando se encuentre justificado y autorizado.

Sustrato para la propagación

Las células usadas para la propagación deben cumplir con los requisitos de 1125. *Sustratos Celulares para la Producción de Vacunas de uso Humano*. El procesamiento de los bancos celulares o de subsecuentes cultivos celulares debe realizarse bajo condiciones de asepsia en un área donde no se manipulen otras células. El suero y la tripsina utilizadas en la preparación de suspensiones celulares deben demostrar estar libres de agentes extraños, incluyendo controles para prevenir transmisión de Enfermedades Espongiformes Bovinas.

Lotes semilla

La cepa de bacteria o virus utilizada en el lote semilla maestro debe ser identificada por registros históricos documentados que incluyan información del origen de las cepas y su subsecuente manipulación. Se deben tomar medidas apropiadas para asegurar que no se encuentra presente en el lote semilla otro microorganismo que la cepa semilla.

Medio de cultivo

Debe estar, hasta donde sea posible, libre de ingredientes que causen reacciones tóxicas, alérgicas u otras reacciones indeseables en el hombre; si fuera necesaria la inclusión de estos ingredientes se debe demostrar que la cantidad presente en el lote final es reducida a un nivel tal que resulte en un producto seguro. En el medio de crecimiento para cultivos celulares se puede emplear suero animal aprobado (pero no humano), pero no el medio utilizado para el mantenimiento del crecimiento celular

durante la multiplicación del virus que no debe contener suero, salvo caso indicado. El medio de cultivo celular puede contener un indicador de pH tal como rojo de fenol y antibióticos aprobados a la concentración efectiva más baja, aunque es preferible tener un medio libre de antibióticos durante la producción.

Multiplicación y cosecha

Los cultivos semilla se deben propagar y cosechar bajo condiciones definidas. La pureza de la cosecha se debe verificar por ensayos apropiados según se indica en la monografía individual.

Células control

Los controles celulares para vacunas producidas en cultivos celulares se deben mantener y controlar según se indica en la monografía individual. Para obtener un control válido las células deben ser mantenidas en condiciones que sean rigurosamente idénticas que las utilizadas para la producción de cultivos celulares, incluyendo el uso de los mismos lotes de medio y los cambios de medios.

Huevos control

Para vacunas vivas producidas en huevos, los huevos control deben ser incubados y analizados según se indica en la monografía individual.

Purificación

Donde sean pertinentes, se deben emplear procedimientos de purificación validados.

Inactivación

Las vacunas inactivadas deben ser producidas utilizando procesos de inactivación validados cuyas efectividades y consistencia hayan sido demostradas. Donde haya contaminantes potenciales reconocidos de una cosecha, por ejemplo en vacunas producidas en huevos provenientes de gallinas no libres de patógenos especificados (SPF), el proceso de inactivación también debe estar validado con respecto a potenciales contaminante. El ensayo para inactivación debe ser realizado tan pronto como sea posible después del proceso de inactivación, salvo caso justificado y autorizado.

Estabilidad de productos intermedios

Durante la producción de vacunas, los productos intermedios se obtienen en varias etapas y deben ser almacenados a veces por largos períodos. Algunos de estos productos intermedios incluyen:

- lotes semilla,
- cosechas vivas o inactivadas de cultivos bacterianos o virales,
- cosechas purificadas que pueden consistir en toxinas o toxoides, polisacáridos, suspensiones bacterianas o virales,
- antígenos purificados,

- antígenos adsorbidos,
- polisacáridos conjugados,
- vacuna final a granel,
- vacuna en el envase final cerrado almacenada a una temperatura inferior de la utilizada para los estudios de estabilidad y destinada a ser liberada sin re-análisis.

Excepto cuando se utilicen en un período corto de tiempo, se deben realizar estudios de estabilidad en productos intermedios en las condiciones de almacenamiento propuesta para establecer el grado de degradación.

Para la vacuna final a granel, se pueden realizar estudios de estabilidad en muestras representativas en condiciones equivalentes a las propuestas a ser utilizadas para el almacenamiento. Para cada producto intermedio (excepto para los lotes semilla) se aplica, cuando sea apropiado en base a los estudios de estabilidad, un período de validez para las condiciones propuestas de almacenamiento.

Granel final

El granel final se debe preparar por mezclado de los ingredientes de la vacuna en forma aséptica.

Ayudantes

Las vacunas pueden ser adsorbidas en soportes inertes tales como hidróxido de aluminio, fosfato de aluminio, fosfato de calcio u otro adyuvante que hayan demostrado ser adecuados para su uso en humanos. El adyuvante se debe preparar en condiciones especiales que le confieran apropiada forma física y propiedades adsorptivas. El desarrollo de nuevos adyuvantes requiere que se cuente con toda la información propia del adyuvante y su comportamiento con el antígeno que se unirá.

Conservantes antimicrobianos

Se utilizan conservantes antimicrobianos para prevenir el deterioro o efectos adversos causados por contaminación microbiana ocurrida durante el uso de la vacuna. Los conservantes antimicrobianos no se incluyen en los productos liofilizados. La inclusión de conservantes antimicrobianos no es aceptada en preparaciones líquidas monodosis. Para las preparaciones líquidas multidosis se evalúa la necesidad de un conservante antimicrobiano teniendo en cuenta la contaminación durante el uso y el período máximo recomendado antes de la apertura por primera vez del envase. Si se utiliza un conservante antimicrobiano se debe demostrar que éste no perjudica la seguridad o eficacia de la vacuna. No es normalmente aceptable el agregado de antibióticos como conservantes antimicrobianos.

Durante los estudios de desarrollo se debe demostrar la efectividad del conservante antimicrobiano seleccionado a lo largo del período de validez

que será autorizado por la Autoridad Sanitaria al momento del registro.

La eficacia del conservante antimicrobiano se evalúa como se indica en *Eficacia en 80. Conservantes*.

Lote final

Para vacunas de administración parenteral se debe preparar el lote final por distribución aséptica del granel final en envases estériles con cierre inviolable, los que luego de la liofilización deben ser cerrados de manera tal de evitar la contaminación.

Para vacunas de administración por una vía no parenteral los lotes finales deben ser preparados por distribución del granel final bajo condiciones apropiadas en envases estériles de cierre inviolable.

Grado de adsorción

Durante el desarrollo de la vacuna adsorbida se evalúa el grado de adsorción como parte del análisis de consistencia o de homogeneidad. Se establece una especificación para el grado de adsorción en base a los resultados encontrados para los lotes utilizados en los ensayos clínicos. A partir de los datos de estabilidad generados para la vacuna se debe demostrar que al final del período de validez el grado de adsorción no debe ser menor que el de los lotes empleados en ensayos clínicos.

Estabilidad

Durante los estudios de desarrollo, se debe demostrar que la potencia del lote final se mantiene a lo largo del período de validez. La pérdida de potencia en las condiciones de almacenamiento recomendadas es evaluada y la pérdida excesiva, incluso dentro de los límites de aceptación de la potencia, puede indicar que la vacuna no es aceptable.

Fecha de vencimiento

Salvo que se establezca, la fecha de vencimiento se calcula a partir del comienzo de la valoración o a partir del comienzo de la primera valoración para una vacuna combinada. Para las vacunas almacenadas a temperatura menor a la utilizada para los estudios de estabilidad y propuestas para la liberación sin re-análisis, la fecha de vencimiento se calcula a partir de la fecha que se retiran del almacenamiento en frío. Si para una vacuna dada, la valoración no se realiza, la fecha de vencimiento se calcula a partir de la fecha de aprobación del ensayo indicador de la estabilidad o, si este faltase, a partir de la fecha de liofilizado, o de la fecha de llenado en el envase final. Para vacunas combinadas, cuando los componentes son presentados en envases separados, la fecha de vencimiento será la del componente que expire primero.

La fecha de vencimiento es aplicada a vacunas almacenadas en las condiciones indicadas.

Ensayos en animales

Para la protección de animales vertebrados utilizados para experimentación y otros propósitos científicos, los ensayos deben ser realizados de manera de utilizar la mínima cantidad de animales y causar el menor sufrimiento, angustia o daño terminal. El criterio para juzgar ensayos en las monografías debe aplicarse en base a estas consideraciones. Por ejemplo, si se indica que un animal es el parámetro para demostrar positividad, infección etc, tan pronto cuando ocurran los signos clínicos típicos o la muerte y se obtiene la indicación suficiente de los resultados positivos, el animal en cuestión debe ser destruido humanamente o darle el tratamiento adecuado para prevenir el sufrimiento innecesario. Pueden utilizarse métodos de ensayos alternativos para demostrar cumplimiento con la monografía y el uso de dichos ensayos es particularmente estimulado cuando lleva al reemplazo o reducción de animales utilizados o la reducción del sufrimiento, a condición de que se halla realizado una validación de estos métodos.

CONSERVACIÓN

Proteger de la luz. Salvo otro caso indicado, la temperatura de almacenamiento debe ser de 5 ± 3 °C. Las vacunas adsorbidas líquidas no se deben congelar.

ENSAYOS

Las vacunas deben cumplir con los ensayos descritos en las monografías individuales. Incluir cuando sea necesario, los siguientes ensayos:

Determinación de agua <120>

No debe contener más de 3,0 % p/p para vacunas liofilizadas, salvo otro caso indicado.

Determinación de aluminio en vacunas adsorbidas

Transferir una porción de la muestra en ensayo, previamente homogeneizada, que contenga aproximadamente 5 a 6 mg de aluminio, a un recipiente de combustión de 50 ml. Agregar 1 ml de ácido sulfúrico, 0,1 ml de ácido nítrico y algunas perlas de vidrio y calentar hasta desprendimiento de vapores blancos densos. [NOTA: si la muestra en ensayo se carboniza, agregar algunas gotas de ácido nítrico y mantener la ebullición hasta decoloración]. Dejar enfriar algunos minutos, agregar con precaución 10 ml de agua y continuar la ebullición hasta obtener una solución límpida. Dejar enfriar, agregar 0,05 ml de naranja de metilo (SR) y neutralizar aproximadamente con 6,5 a 7 ml de una solución de 0,42 g de hidróxido de sodio por ml. Si forma precipitado, disolver el mismo mediante el agregado, gota a gota, de ácido sulfúrico diluido, preparado

disolviendo 5,5 ml de ácido sulfúrico en 100 ml de agua. Transferir la solución obtenida a un erlenmeyer de 250 ml y enjuagar el recipiente de combustión con 25 ml de agua. Agregar 25 ml de edetato disódico 0,02 M, 10 ml de una solución reguladora de acetato (SR1) y algunas perlas de vidrio. Mantener a ebullición suave durante 3 minutos. Agregar 0,1 ml de una solución de 1 mg de 1-(2-piridilazo)-2-naftol por ml de alcohol y titular con sulfato de cobre 0,02 M (SV) hasta viraje a color pardo púrpura. Realizar el ensayo con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada ml de edetato disódico 0,02 M (SV) equivale a 0,5396 mg de aluminio (Al). No debe contener más de 1,25 mg de aluminio (Al) por dosis humana, cuando un adsorbente de aluminio se haya utilizado en la vacuna, salvo otro caso indicado.

Determinación de calcio en vacunas adsorbidas

Homogeneizar una porción de la muestra en ensayo, transferir 1 ml a un recipiente apropiado, agregar 0,2 ml de ácido clorhídrico diluido y diluir a 3 ml con agua. Medir las absorbancias a 620 nm utilizando un espectrofotómetro de absorción atómica (ver *Método I* en 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*) y calcular la cantidad de calcio presente. No debe contener más de 1,3 mg de calcio (Ca) por dosis humana, cuando un adsorbente cálcico se haya utilizado en la vacuna, salvo otro caso indicado.

Formaldehído libre

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, emplear el *Método I*. El *Método II* es conveniente para vacunas a las que se le ha agregado metabisulfito de sodio para neutralizar el exceso de formaldehído.

Método I

Realizar una dilución 1 en 10 de la vacuna en ensayo. Transferir 1 ml de la solución obtenida a un tubo de comparación, agregar 4 ml de agua y 5 ml de una solución de 0,2 ml de acetilacetona en 100 ml de acetato de amonio (SR1). Mantener en un baño de agua a 40 °C durante 40 minutos. Examinar la solución: no debe desarrollar coloración más intensa que la de un control preparado del mismo modo pero con 1 ml de una solución de formaldehído que contenga 20 µg de formaldehído (CH₂O) por ml.

Método II

Soluciones estándar - Preparar soluciones que contengan aproximadamente 0,25; 0,50; 1,00 y 2,00 mg de formaldehído por ml. Realizar una dilución 1 en 200 de cada solución, respectivamente.

Solución muestra - Realizar una dilución 1 en 200 de la vacuna en ensayo. Si la vacuna es una emulsión, realizar una dilución 1 en 20 empleando la fase acuosa obtenida por uno de los siguientes procedimientos: a) agregar 1 ml de la vacuna en ensayo a 1 ml de miristato de isopropilo y mezclar. Agregar 1,3 ml de ácido clorhídrico 1 N, 2 ml de cloroformo y 2,7 ml de una solución de 9 mg de cloruro de sodio por ml. Mezclar y centrifugar a 15.000 g durante 1 hora. Transferir la fase acuosa a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua. Si la separación no se logra, agregar una cantidad adecuada de una solución de 100 mg de polisorbato 20 por ml a la solución de cloruro de sodio empleada y repetir el procedimiento pero centrifugando a 22.500 g; b) agregar 1 ml de la vacuna en ensayo a 1 ml de una solución de 100 mg de cloruro de sodio por ml y mezclar. Centrifugar a 1.000 g durante 15 minutos. Transferir la fase acuosa a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua; c) agregar 1 ml de la vacuna en ensayo a 2 ml de una solución de 100 mg de cloruro de sodio por ml, agregar 3 ml de cloroformo y mezclar. Centrifugar a 1.000 g durante 5 minutos, transferir la fase acuosa a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua.

Procedimiento - Transferir 0,5 ml de la *Solución muestra* y 0,5 ml de cada una de las *Soluciones estándar* a sendos tubos de ensayo, agregar 5 ml de una solución recientemente preparada de 0,5 mg de cloruro de metilbenzotiazolona-hidrazona por ml. Tapar los tubos, agitar y dejar reposar durante 1 hora. Agregar 1 ml de cloruro férrico-ácido sulfámico (SR) y dejar reposar durante 15 minutos. Medir la absorbancia a 628 nm (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*), realizar la curva de calibración con las *Soluciones estándar* y calcular el contenido de formaldehído en la vacuna en ensayo. El ensayo sólo es válido si el coeficiente de correlación de la curva de calibración es mayor de 0,97.

La vacuna no debe contener más de 0,2 g por litro de formaldehído libre en el producto final, cuando se haya utilizado formaldehído en la preparación de la vacuna, salvo otro caso indicado.

Fenol

Soluciones estándar - Preparar una serie de soluciones de *Fenol* que contengan aproximadamente 5, 10, 15, 20 y 30 µg de fenol por ml.

Solución muestra - Homogeneizar una porción de la muestra en ensayo, preparar una solución que contenga aproximadamente 15 µg de fenol por ml.

Procedimiento - A 5 ml de la *Solución muestra* y a 5 ml de cada *Solución estándar*, agregar 5 ml de *Solución reguladora alcalina de borato pH 9,0* (ver

Soluciones reguladoras), 5 ml de aminopirazolona (SR) y 5 ml de una solución de ferricianuro de potasio al 5,3 %. Dejar reposar durante 10 minutos y medir la absorbancia a 546 nm. Realizar una curva de calibración y calcular el contenido de fenol en la porción en ensayo. La vacuna no debe contener más de 2,5 g por litro en el producto final, cuando se haya utilizado fenol en la preparación de la vacuna, salvo otro caso indicado.

ROTULADO

Indicar en el rótulo el nombre de la preparación; una referencia identificando el lote final; la dosis humana recomendada y la ruta de administración; las condiciones de almacenamiento; la fecha de vencimiento; el nombre y la cantidad de cualquier conservante antimicrobiano utilizado; el nombre de cualquier antibiótico, adyuvante, saborizante o estabilizador presente en la vacuna; el nombre de cualquier constituyente que pueda causar reacciones adversas y cualquier contraindicación para el uso de la vacuna.

Para vacunas liofilizadas, indicar el nombre o composición y el volumen del líquido reconstituyente a ser agregado; indicar el tiempo dentro del cual la vacuna puede ser utilizada luego de la reconstitución.

TEXTOS DE INFORMACIÓN GENERAL

1005. AGUA CALIDAD FARMACÉUTICA

El agua es la principal materia prima utilizada en la industria farmacéutica. Puede ser empleada como excipiente, en pasos de síntesis, en la manufactura de productos terminados o como agente de limpieza de reactores, equipamiento, materiales de envase primario y otros.

Según el proceso farmacéutico del que se trate, se requerirán distintos grados de calidad de agua. El control de la calidad del agua, incluyendo su calidad microbiológica, es un importante desafío para la industria farmacéutica.

CLASIFICACIÓN Y REQUERIMIENTOS DEL AGUA

Agua Potable

Con la denominación de Agua Potable de suministro público y Agua Potable de uso domiciliario, se entiende la que es apta para la alimentación y uso doméstico: no deberá contener sustancias o cuerpos extraños de origen biológico, orgánico, inorgánico o radiactivo en tenores tales que la hagan peligrosa para la salud. Deberá presentar sabor agradable y ser prácticamente incolora, inodora, límpida y transparente (*Art. 982 – Res MSyAS N°494 del 7.07.94*).

El Agua Potable no está descripta por una monografía de la Farmacopea Argentina pero debe cumplir con los requisitos especificados para *Agua Potable* en *Código Alimentario Argentino. Ley Nacional 18.284/69, Capítulo XII: Bebidas Hídricas, Agua y Agua Gasificada*. Sin embargo, debe analizarse la calidad del Agua Potable en el lugar de manufactura para corroborar su adecuación a los parámetros de calidad establecidos. El agua potable puede ser empleada en la síntesis química y en las primeras etapas de limpieza de los equipos empleados en los procesos farmacéuticos de manufactura a menos que existan requerimientos técnicos específicos o requerimientos de mayor calidad de agua. Es el agua de alimentación definida para la producción de Agua Calidad Farmacéutica.

Agua para Inyectables

El Agua para Inyectables es el agua utilizada para la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral y cualquier otro uso indicado en esta Farmacopea.

Durante la producción y almacenamiento del *Agua para Inyectables* deben tomarse las medidas

apropiadas para asegurar un adecuado control y monitoreo del conteo microbiológico de aerobios totales. En condiciones normales, un límite de acción apropiado es un conteo de aerobios viables de 10 microorganismos cada 100 ml, determinados por filtración por membrana.

El Agua para Inyectables debe cumplir con los requisitos especificados en la monografía de *Agua para Inyectables* en esta farmacopea.

Agua Purificada

El Agua Purificada es el agua para la preparación de todos los medicamentos que no requieran el uso de *Agua para Inyectables* a menos que la monografía del producto especifique otra calidad de agua.

Durante la producción y almacenamiento del *Agua Purificada* deben tomarse las medidas apropiadas para asegurar un adecuado control y monitoreo del conteo microbiológico de aerobios totales. En condiciones normales, un límite de acción apropiado es un conteo de aerobios viables de 100 microorganismos por mililitro, determinados por filtración por membrana.

El Agua Purificada debe cumplir con los requisitos especificados en la monografía de *Agua Purificada* en esta Farmacopea.

CALIDAD DE AGUA SEGÚN EL USO FARMACÉUTICO

La calificación y validación de los sistemas de obtención, almacenamiento y distribución de agua resultan fundamentales para el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Fabricación.

La calidad de agua a emplear se determina en función de la naturaleza y del uso especificado del producto final y de la etapa del proceso en la cual el agua es empleada.

A continuación se especifica la calidad de agua requerida según el uso de la misma.

Agua utilizada como excipiente en la formulación final

El agua es el excipiente más comúnmente empleado en la fabricación de productos farmacéuticos y la calidad requerida depende del uso para el cual esté definido el producto final. En este se distinguen dos grupos: el de productos medicinales estériles y el de productos medicinales no estériles.

Tabla 1. Agua utilizada en la preparación de Productos Medicinales Estériles

Productos	Calidad de Agua Requerida
Parenterales	Agua para Inyectables
Oftálmicos	Agua Purificada
Soluciones de Hemofiltración	Agua para Inyectables
Soluciones de Hemodiafiltración	Agua para Inyectables
Soluciones de Irrigación	Agua para Inyectables
Soluciones para Diálisis Peritoneal	Agua para Inyectables
Soluciones para Nebulizar	Agua Purificada
Preparaciones Óticas y Nasaes	Agua Purificada
Preparaciones de uso dérmico	Agua Purificada

Tabla 2. Agua utilizada en la preparación de Productos Medicinales no Estériles

Productos	Calidad de Agua Requerida
Preparaciones Orales	Agua Purificada
Preparaciones de uso dérmico	Agua Purificada
Preparaciones Óticas y Nasaes	Agua Purificada
Preparaciones de uso Vaginal y Rectal	Agua Purificada
Preparaciones de soluciones concentradas para hemodiálisis	Agua Purificada

Tabla 3. Agua utilizada durante la elaboración de productos medicinales que no se encontrará presente en la formulación final

Elaboración	Calidad de Agua Requerida
Granulación	Agua Purificada
Recubrimiento de Comprimidos	Agua Purificada
Usada en la formulación previo a una liofilización no estéril	Agua Purificada
Usada en la formulación previo a una liofilización estéril	Agua para Inyectables

Tabla 4. Agua utilizada en el lavado de equipos, envases, insertos, tapas y tapones.

Etapas de limpieza	Producto	Calidad de Agua Requerida
Iniciales de lavado	No estéril	Agua Potable
Final de lavado	No estéril	Agua Purificada o la misma calidad de agua que se utiliza en la elaboración del producto si es de mayor calidad que el Agua Purificada.
Iniciales de lavado	Estéril	Agua Purificada
Final de lavado	Estéril no parenteral	Agua Purificada o la misma calidad de agua que se utiliza en la elaboración del producto si es de mayor calidad que el Agua Purificada.
Final de lavado	Estéril parenteral	Agua para Inyectables.

1013. BUENAS PRÁCTICAS DE DISPENSACIÓN EN LA FARMACIA OFICINAL COMUNITARIA Y HOSPITALARIA

Consideraciones Generales

Los medicamentos deben ser dispensados solamente por establecimientos habilitados por la autoridad sanitaria competente y cuyas actividades serán inspeccionadas regularmente por la autoridad jurisdiccional

En el ámbito comunitario y hospitalario, los servicios Farmacéuticos comprenden toda gestión que garantice la adquisición, preparación, conservación y dispensación de los medicamentos, ayudando a la sociedad a emplearlos adecuadamente para el uso previsto y en cumplimiento de la legislación vigente.

Este capítulo introduce términos y definiciones que son normas indispensables en el cumplimiento de las condiciones exigidas por las Buenas Prácticas de Dispensación, lo cual constituye una herramienta que permite establecer criterios que abarcan diversos aspectos para la adquisición, preparación, conservación y dispensación de los medicamentos.

Las Buenas Prácticas de Dispensación no son un elemento estático, todo lo contrario, son metodologías de trabajo susceptibles de una actualización continua.

Glosario

Las definiciones dadas a continuación se aplican a los términos empleados en esta norma. Es posible que tengan significados diferentes en otros contextos.

Servicios Farmacéuticos: resultado tangible o intangible de un proceso en el cual se participa en la investigación, preparación, distribución, dispensación, control y utilización de los medicamentos y otros productos para la salud, ofreciendo información y asesoramiento a quienes los prescriben, indican o usan.

Habilitación de la Farmacia: documento legal emitido por la autoridad sanitaria, que establece la autorización del establecimiento y su director técnico.

Dispensación: es el servicio Farmacéutico que consiste en la entrega del medicamento y la información sobre su buen uso y que incluye la interpretación de una receta en los casos que correspondiere.

Persona autorizada: es del Director Técnico Farmacéutico o el Farmacéutico Auxiliar que él

designa a los efectos de realizar y/o autorizar la dispensación.

Procedimiento operativo para la dispensación: es el procedimiento escrito que contiene las instrucciones para realizar aquellas operaciones que no necesariamente son específicas de la dispensación.

Farmacovigilancia: es la ciencia y actividades relacionadas con la prevención, conocimiento, detección y evaluación de reacciones adversas y otros posibles problemas relacionados con medicamentos.

Problema relacionado con medicamentos: es cualquier evento indeseable que presenta el paciente en el cual está involucrado el tratamiento farmacológico o se sospecha que lo está y que interfiere de manera real o puede interferir en la evolución deseada del paciente.

Intervención farmacéutica: es la estrategia que incluye procedimientos educativos y/o informativos abordados por el Farmacéutico para intentar resolver un problema relacionado con medicamentos, tendiente a mejorar el resultado clínico del tratamiento farmacológico.

Promoción de la Salud: es el proceso que capacita a las personas para controlar y mejorar su salud.

Educación Sanitaria: es un instrumento que posibilita la promoción de la salud. Es el aprendizaje que supone no sólo la transmisión de información, sino también el fomento de la motivación de las habilidades personales y la autoestima, necesarias para adoptar medidas destinadas a mejorar la salud.

Información: es el asesoramiento brindado para prevenir incompatibilidades o interacciones frente a otros medicamentos y/o alimentos, para lograr el cumplimiento de los objetivos terapéuticos buscados, así como también incluye la consulta o derivación del paciente al profesional que corresponda según su incumbencia.

Servicios orientados al medicamento, materias primas, y productos sanitarios, previos a la dispensación en donde el Farmacéutico garantiza la calidad de los productos que dispensa dando cumplimiento a las siguientes actividades:

Evaluación de la procedencia y adquisición: el Farmacéutico es el responsable de garantizar la calidad y legitimidad de los productos que dispense

siendo éstos adquiridos a través de proveedores debidamente habilitados por la autoridad sanitaria.

El Farmacéutico debe además cooperar en la detección y denuncia de medicamentos ilegítimos y de medicamentos con problemas de calidad o efectividad.

Custodia, almacenamiento y conservación: el Farmacéutico asegurará que las condiciones de almacenamiento y conservación sean las adecuadas en cada caso e instrumentará los mecanismos para detectar las fechas de vencimiento previas a la dispensación. Asimismo el Farmacéutico tendrá bajo su custodia todos los productos acorde a las normativas vigentes.

Descarte, devolución, destrucción: el Farmacéutico evitará la adquisición y dispensación de medicamentos y productos para la salud que presenten modificaciones no indicadas expresamente en sus rótulos y/ o prospectos. Se considera que la detección de cambios en el aspecto físico de los medicamentos o sus envases podría ser evidencia de una posible inestabilidad o alteración en su composición, por lo que se debe observar:

- cambios en caracteres físicos como modificaciones de color u olor, coberturas deterioradas, cápsulas rotas, aparición de precipitados, separación de emulsiones, polvos que no se reconstituyen adecuadamente, entre otros;
- modificaciones en el envase primario como pérdida del contenido del envase, deterioro de su aspecto, adulteraciones de fecha de vencimiento, lote, partida o rótulos.
- modificaciones en el envase secundario, como toda evidencia que permita suponer una mala conservación, fallas de impresión, adulteraciones de fecha de vencimiento, lote o partida, ó rótulos.

Comprobadas estas irregularidades, el Farmacéutico deberá abstenerse de dispensar estos medicamentos y notificar a la autoridad sanitaria competente sobre las anormalidades observadas o sospechadas.

Deberá cumplir con los retiros del mercado indicados por la autoridad sanitaria pertinentes e instrumentará los mecanismos necesarios para la devolución de los medicamentos, materias primas y productos sanitarios, así como la eliminación de los residuos peligrosos, acorde a la legislación vigente.

Preparación de medicamentos magistrales y oficinales: el Farmacéutico es responsable de la preparación de medicamentos magistrales y oficinales, dando cumplimiento a las Normas de Buenas Prácticas de Preparación.

1025. BUENAS PRÁCTICAS PARA LA MANIPULACIÓN DE MEDICAMENTOS CITOSTÁTICOS ENDOVENOSOS EN CENTROS ASISTENCIALES

CONSIDERACIONES GENERALES

Los medicamentos citostáticos actúan alterando la capacidad de división celular en forma no selectiva, afectando las células tumorales y también interfiriendo en los circuitos bioquímicos de las células normales, en especial en los tejidos con mayor recambio celular, como por ejemplo, piel, médula ósea, epitelio del tracto gastrointestinal, folículos pilosos y estructuras embrionarias.

La eficacia de la terapia oncológica con fármacos plantea diversos inconvenientes tal como la toxicidad elevada que se manifiesta incluso cuando la aplicación terapéutica es correcta y puede conducir a consecuencias graves si se verifican errores en la dosis, o en el proceso de reconstitución y administración o contaminación por manipuladores.

La mayoría de los tratamientos farmacológicos consisten en una terapéutica combinada con efecto sinérgico de los distintos principios activos citostáticos, con diferente toxicidad, dosis limitante y menor posibilidad de resistencias.

Los medicamentos que se utilizan para el tratamiento del cáncer pueden ser indicados con fines curativos, paliativos, o como coadyuvantes de otras terapias.

Los pacientes con tratamiento oncológico pueden recibir medicación citostática en tres modalidades diferentes de internación: hospitalizado, en internación ambulatoria (Servicio Hospital de Día) y en internación domiciliaria. Esto dependerá del estado general del paciente, de las patologías concomitantes y del tipo de medicación a recibir, y tratándose de internación domiciliaria, de las condiciones culturales y socioeconómicas.

Las unidades de reconstitución de citostáticos de los servicios de Farmacia Hospitalaria y los centros prestadores de Servicios de Farmacia Hospitalaria, son las responsables de proveer las mezclas intravenosas de los medicamentos utilizados en el tratamiento de cáncer para los tres tipos de internación, prevenir la contaminación del medio ambiente durante la reconstitución y proteger al personal de salud durante la manipulación de principios activos citostáticos.

GLOSARIO

Agentes quimioterápicos antineoplásicos: son activos capaces de dañar células malignas afectando también a las células normales del organismo por lo que se los denomina agentes **citotóxicos** y dado que poseen la propiedad de inhibir el crecimiento de tumores malignos, por analogía se los llama **citostáticos**.

Carcinogénico: es toda aquella sustancia que pueda producir cáncer.

Citotóxico: es todo aquel agente que tenga capacidad de producir genotoxicidad, oncogenicidad y mutagenicidad.

Desinfección: este término suele usarse para designar los resultados de la aplicación de agentes químicos sobre objetos inanimados con el fin de eliminar los microorganismos incluyendo formas esporuladas.

Dispensación: es el acto farmacéutico asociado a la entrega y distribución de los medicamentos con las consecuentes prestaciones específicas, como son: el análisis de la orden médica, información para su correcta utilización y preparación de las dosis que se deben administrar.

En este acto, el farmacéutico informa y orienta al paciente, enfermera o médico, sobre el uso adecuado de dicho medicamento. Son elementos importantes de esta orientación, entre otros, el énfasis en el cumplimiento del régimen de dosificación, la influencia de los alimentos, la interacción con otros medicamentos, el reconocimiento de reacciones adversas potenciales y las condiciones de conservación del producto.

Distribución: es el sistema implementado para la entrega intrahospitalaria de los medicamentos requeridos por las unidades de internación u otros servicios del hospital para su posterior administración al paciente.

Dispositivos médicos (material descartable): instrumento, aparato, implemento, máquina, artefacto, implante u otro artículo similar o relacionado, incluidos los componentes, partes o accesorios de éstos.

Dosificación / posología: describe la dosis de un medicamento, los intervalos entre las administraciones y la duración del tratamiento. No debe confundirse con el término dosis.

Dosificación, régimen de: se define como la magnitud de las dosis administradas de un medicamento, el número de ellas y los intervalos de administración.

Dosis: cantidad total de medicamento que se administra de una sola vez o total de las cantidades fraccionarias administradas durante un período determinado.

Dosis, intervalo de: tiempo que transcurre entre una y otra administración de medicamentos en un régimen de dosificación de dosis múltiples.

Dosis Terapéutica: es la que produce el efecto deseado en el paciente; dosis mínima es la menor dosis que produce el efecto terapéutico y dosis máxima es la mayor dosis que puede ser tolerada sin aparición de efectos adversos o tóxicos. Los límites de dosis terapéuticas están dadas por la dosis máxima y dosis mínima e indican el margen de utilización de las drogas.

Dosis Tóxica: es la que produce efectos indeseables o peligrosos.

Establecimiento asistencial: son establecimientos con internación ya sean públicos o privados.

Esterilización: proceso por el cual se eliminan o se destruyen todas las formas viables de microorganismos, basado en una función de probabilidad.

Farmacia hospitalaria: es una especialidad farmacéutica que se ocupa de la selección, preparación, adquisición, control, dispensación, información de medicamentos y otras actividades orientadas a conseguir una utilización apropiada, segura y costo-efectiva de los medicamentos y productos sanitarios, en beneficio de los pacientes atendidos en los establecimientos asistenciales.

Farmacovigilancia: identificación y valoración de los efectos del uso, agudo y crónico, de los tratamientos farmacológicos en el conjunto de una población o en subgrupos de pacientes expuestos a tratamientos específicos. Se debe distinguir entre monitorización y farmacovigilancia.

Forma farmacéutica: es la forma del producto farmacéutico completo. (Por ejemplo. comprimido, cápsula, supositorio, etc.).

Filtro HEPA: filtro de alta eficiencia de partículas de aire compuesto por pliegues de filtros medios separados por lámina o papel corrugado o hoja de aluminio en el que el flujo directo del aire es forzado a través del filtro en un flujo paralelo uniforme. Los filtros HEPA retienen el 99,99 % de las partículas mayores a 0,3 micrones de diámetro.

Mutagénico: agente químico o físico que induce o incrementa mutaciones genéticas por cambios causados en el ADN.

Prescripción: es el acto de expresar qué medicamento debe recibir el paciente, la dosificación

correcta y duración del tratamiento. En el caso de pacientes ambulatorios, el acto de prescripción se traduce en la elaboración de una receta médica; en los pacientes hospitalizados, la prescripción es consignada en la historia clínica.

Reconstitución: es la adición del disolvente sobre un producto en polvo o liofilizado, para lograr su disolución.

Relación riesgo/beneficio: esta relación se aplica al uso de un medicamento, está basada en los datos de eficacia y seguridad, además del uso potencial indebido, severidad y evolución de una enfermedad, etc. El concepto puede ser aplicado a un solo medicamento o en comparaciones entre dos o más medicamentos usados en la misma condición.

Vida útil: es el intervalo de tiempo durante el cual se espera que un medicamento almacenado correctamente satisfaga las especificaciones preestablecidas.

PREPARACIÓN DE CITOSTÁTICOS ENDOVENOSOS

PERSONAL

Selección del personal

El personal debe ser seleccionado y previamente entrenado en la técnica de preparación y manejo de citostáticos.

No podrán ingresar al área personal con procesos infecciosos ni personal dedicado a otras tareas de riesgo ocupacional, como por ejemplo, técnicos radiólogos.

Las mujeres que amamantan o embarazadas no deben trabajar con relación a la manipulación de estos fármacos.

Exámenes de salud para el personal

Uno de los aspectos relacionados con este tema, es el riesgo a que está expuesto el personal sanitario que debe manipular citostáticos. Éste ha sido un motivo de preocupación creciente en los últimos años que tiene su origen en la abundante evidencia científica internacional que indica que la exposición crónica y masiva con estos activos, puede causar efectos mutagénicos, carcinogénicos y teratogénicos. Estos efectos nombrados precedentemente sólo se producen en casos de exposiciones muy altas y no existe evidencia de que ocurran en el caso de niveles bajos exposición. Sin embargo, debe constituir un llamado de atención sobre los posibles peligros que enfrentan los profesionales relacionados a la manipulación de citostáticos.

Existen pocas dudas de que los trabajadores expuestos a agentes citotóxicos al preparar y adminis-

trar las dosis terapéuticas para ser utilizados en la quimioterapia de pacientes con cáncer, pueden absorber cantidades mensurables de los mismos. La absorción se puede realizar por piel, mucosas o pulmones. Adicionalmente, es objeto de controversia los daños que puede causar la absorción involuntaria de pequeñas cantidades de estos agentes.

Distintas variables determinan la posibilidad de intoxicación de los individuos con respecto a estos activos:

- *Características de los Principios Activos*

El riesgo potencial depende de las propiedades fisicoquímicas de los fármacos. No todos los citostáticos son igualmente agresivos. Según diferentes estudios realizados tienen mayor potencial carcinogénico y teratogénico los agentes alquilantes y los derivados de la vinca, considerándose los menos agresivos los antimetabolitos.

- *Susceptibilidad del individuo*

Las distintas generalidades relacionadas con estas variables son la edad, el sexo, el origen étnico, etc.

- *Cofactores*

Tales como hábitos alimentarios o hábitos de vida, como el fumar, pueden alterar la susceptibilidad del individuo a los efectos de estos fármacos.

- *Número de exposiciones*

Tiene que ver con la magnitud de la exposición o la suma acumulada de las mismas.

- *Vías de exposición y efectos*

Vías de exposición

Ingestión

Se puede producir por el consumo de alimentos o bebidas, o el uso de cigarrillos o cosméticos contaminados.

Inhalatoria

Por las partículas aerosolizadas que se forman durante el proceso de reconstitución y preparación de las dosis terapéuticas, ya sea al retirar la aguja del vial, al romper una ampolla, etc.

Absorción dérmica

Por contacto con derrames por ruptura de ampollas o contaminación de los equipos durante la manipulación, administración, limpieza rutinaria o eliminación de los desechos.

Efectos

Locales

Son los que se producen como consecuencia de derrames o accidentes que ponen al citostático en contacto con la piel o las mucosas. Según las características del activo pueden cau-

sar irritación local en caso de citotóxicos irritantes y ulceración con posterior necrosis de la zona en el caso de activos vesicantes, como por ejemplo, antraciclina.

Sistémicos

Son los que se producen tras un largo período de tiempo por repetidas exposiciones a bajas dosis. En este caso es más difícil demostrar la relación causa-efecto por las dificultades que plantea su estudio.

El servicio de Higiene y Medicina Laboral deberá ser informado de todos los accidentes debidos a manipulación de agentes citotóxicos.

El riesgo demostrado de estos agentes de producir los efectos previamente mencionados, unido al hecho de que estas sustancias pueden ser absorbidas como consecuencia de exposiciones profesionales, justifica la adopción de controles periódicos de salud sugiriéndose su realización por lo menos una vez al año.

Deben existir registros de los resultados de los exámenes de salud a los que es sometido el personal en el ámbito del sector.

INSTALACIONES

Es recomendable que el servicio de reconstitución y formulación de citostáticos esté compuesto por los siguientes sectores:

- Vestuario general para el acceso exclusivo del personal del servicio o personas autorizadas.
- Pasillo interno que se comunique con la oficina técnica, depósitos, sector de preparación de materiales y el vestuario específico.
- Depósito de medicamentos.
- Depósito de materiales.
- Sector de preparación de materiales.
- Vestuario específico que comunique el pasillo interno con el área de preparación de soluciones.
- Sector de preparación de soluciones, donde se efectuará la reconstitución y / o formulación de citostáticos.
- Sector de almacenamiento de soluciones terminadas.

Características edilicias de cada sector:

Vestuario general

Deberá ser de acceso restringido, y se instaurará un sistema de registro de control de ingreso.

En el mismo, el personal se quitará la ropa de calle y se colocará ropa diferenciada del resto de los

sectores para tener acceso a los sectores de depósito de materiales, depósito de medicamentos, sector de preparación de materiales y sector de almacenamiento de soluciones terminadas.

Pasillo interno

Su función es comunicar los diferentes sectores de acceso común y servir de ingreso a través de un vestuario específico al área restringida (área de preparación de soluciones).

Depósito de materiales

Deberá ser de acceso restringido.

Poseerá estanterías metálicas o armarios donde almacenar los materiales que se utilizarán en las tareas de reconstitución durante un período no mayor a una semana.

Depósito de medicamentos

Deberá cumplir con lo especificado para el depósito de materiales. En caso de utilizarse medicamentos que requieran refrigeración deberá contar con una heladera de capacidad adecuada al volumen de los medicamentos a almacenar.

Deberá controlarse y registrarse periódicamente la temperatura a fin de verificar que la misma condiga con la necesaria para los productos allí almacenados.

Sector de preparación de materiales

Se utilizará para la desinfección externa de los medicamentos y envases a introducir al sector de preparación.

Deberá contar con una pileta con provisión de agua fría y caliente, y con sifón sanitario.

Se comunicará con el pasillo interno o con el depósito y con el sector de preparación de soluciones mediante pasabandejas con doble puerta y sistema de enclavamiento que impida la apertura simultánea de las mismas.

Todas las superficies de trabajo serán lisas y libres de discontinuidades. Deberán ser de materiales resistentes a los productos de trabajo y a los desinfectantes de rutina e inactivantes de uso en caso de derrames.

El piso y paredes estarán contruidos con materiales que presenten superficies lisas y libres de discontinuidades, y recubiertos por materiales que resistan el tránsito y los agentes desinfectantes.

Los encuentros cóncavos entre piso, paredes y cielorraso deberán ser redondeados con un radio de curvatura no inferior a los 5 cm para facilitar su limpieza.

El sistema de ventilación asegurará una temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$.

Sector de almacenamiento de soluciones terminadas

En este sector se reciben, almacenan y distribuyen las soluciones terminadas.

Debe poseer una superficie de apoyo de dimensiones adecuadas para disponer en forma ordenada dichas soluciones, ya rotuladas dentro del sector de preparación de soluciones, de modo de evitar confusiones.

Deberá estar equipado con una heladera de ser necesario, una selladora térmica de plásticos para el cierre hermético del envase protector de la mezcla preparada o bolsas plásticas con sistemas de auto sellado.

Sector de preparación de soluciones

Vestuario específico: es recomendable que conste de dos etapas, en la primera de las cuales el personal que ingrese al sector de preparación de materiales se quitará la ropa de circulación, en la segunda etapa se colocará la ropa estéril incluyendo, cofia o escafandra, cubrebotas y se lavará las manos con solución jabonosa desinfectante, colocándose un primer par de guantes quirúrgicos sin talco ubicados por encima del puño y protección respiratoria si fuese necesario. Luego pasará al área de preparación donde se colocará el segundo par de guantes.

El personal, al salir del área de preparación, deberá disponer la vestimenta utilizada de forma de ser inactivada previo a la salida del sector de preparación para ser luego lavada, secada y esterilizada por procedimientos específicos.

Es recomendable que este vestuario cuente con un sistema de duchas para ser utilizadas por el personal después de retirarse la ropa específica del área de preparación y antes de colocarse la de circulación general.

Los materiales constructivos y los detalles de terminación deben ser similares a los ya descriptos para los sectores de preparación de materiales.

Área de preparación: es el local donde se efectuará la reconstitución y/o formulación de los citostáticos.

El mismo deberá poseer la amplitud necesaria para asegurar el movimiento del personal y los materiales, y facilitar las tareas de limpieza y descontaminación de todas las superficies.

Las características referentes a superficies de trabajo, piso, paredes y encuentros cóncavos entre piso, paredes y cielorraso deberán ser las mismas que las descriptas para *Sector de preparación de materiales*.

El sistema de ventilación asegurará una temperatura ambiente de $20 \pm 2^\circ\text{C}$, y el local cumplirá

con un nivel de limpieza clase D o mejor (clase 10.000).

La inyección se realizará mediante filtros HEPA terminales, que serán verificados en forma periódica por personal especializado.

El aire podrá recircularse sólo si no se generan gases o vapores tóxicos, inflamables o explosivos dentro del sector. No se recirculará el aire a otros sectores.

Si el aire o parte de él debe expulsarse al exterior, se hará mediante filtros HEPA colocados en las bocas de extracción del local (en forma previa al motoventilador de extracción) y con un sistema de cambio que evite la exposición del operador a los productos allí retenidos.

Este local poseerá una presión diferencial negativa de 15 a 25 Pa respecto del vestuario.

El sistema de iluminación deberá ser de tipo estanco y quedar a ras del cielorraso.

Todas las acometidas de servicios deberán ser selladas en su punto de ingreso al sector, a fin de evitar la entrada de contaminantes.

Los residuos peligrosos se deben descartar en envases plásticos de cierre hermético y luego en bolsas rojas de 50 a 100 µm para su posterior incineración.

Las operaciones que involucren citostáticos deberán ser realizadas dentro de gabinetes de seguridad biológica clase II del tipo adecuado, siendo de extracción total (tipo B2) si durante las operaciones se generan gases o vapores peligrosos.

En caso contrario, será suficiente con un gabinete clase II tipo A/B3.

Los mismos deberán ser construidos de acuerdo a la normativa vigente, y deberán ser reverificados por personal especializado en forma periódica.

Controles ambientales

- Controles de partículas

Se deberá efectuar un control de la cantidad de partículas inertes y tamaño de las mismas por medio de instrumental electrónico. Dicho control debe efectuarse, al menos, una vez al año y toda vez que dentro del área se produzcan modificaciones significativas.

- Controles microbiológicos

Los controles ambientales se realizarán por captación espontánea mediante placas de Petri o captación forzada para determinar la biocarga del área. Los controles de superficies planas se harán mediante placas de impresión y los de superficies irregulares (manijas de puertas y aberturas) mediante hisopado de las mismas.

Estos controles deberán ser efectuados como mínimo cada seis meses o inmediatamente después

de realizar modificaciones en el área, reparaciones o servicios técnicos de mantenimiento en cabinas de flujo laminar o cualquier otro cambio significativo.

Se establecerán niveles de alerta y acción, con exhaustiva revisión para determinar causales, y medidas correctivas, aplicadas de manera rigurosa para volver a los niveles preestablecidos.

Controles al personal

- Determinación de las destrezas del personal

Método: para este fin se prepararán equipos de entrenamiento que deberán contar con ampollas conteniendo una solución fluorescente incolora a la luz visible. Se procederá a realizar una simulación de trasvasamiento de contenidos y operaciones de llenado aséptico observando, luego de finalizada la tarea, la superficie de la cabina o lugar de simulación con luz ultravioleta. En caso de no cumplirse el estándar de calidad interno se procederá a un nuevo entrenamiento del personal. Se deberá establecer un monitoreo cada seis meses registrándose los datos obtenidos.

EQUIPAMIENTO

El equipamiento necesario para la Reconstitución de medicamentos citostáticos incluye **equipos de aire unidireccional vertical o Cabinas de seguridad biológica de Clase II**.

Los gabinetes de seguridad biológica Clase II son equipos que se distinguen por poseer una abertura anterior, por la que el operador introduce sus manos y antebrazos para manipular objetos en su interior.

En estos equipos se combinan dos necesidades o características: se protege al producto del operador y del ambiente, y se protege al operador y al ambiente del producto.

Si bien todos los gabinetes de seguridad biológica Clase II poseen un flujo laminar vertical, hay que considerar que existen equipos de flujo laminar vertical para protección del producto que no protegen ni al operador ni al ambiente.

Los gabinetes de seguridad biológica Clase II tipo B3 poseen un filtro HEPA de inyección ubicado en la cara superior de la zona de trabajo, que envía aire en flujo unidireccional sobre la superficie de trabajo. La velocidad de aire de esta cortina no debe ser, en ningún punto, inferior a los 0,50 m/s. El aire aspirado se distribuye un 70 % hacia el filtro HEPA de inyección recirculando internamente, mientras que el 30 %, que es el mismo caudal aspirado desde el exterior, es expulsado al exterior del ambiente a través de un segundo filtro HEPA de extracción.

SANEAMIENTO

La limpieza del área y equipos debe ser realizada por personal calificado perteneciente a la unidad, con una frecuencia diaria, previo al inicio de las actividades y al finalizar la jornada de trabajo o cuando se requiera de acuerdo a las manipulaciones realizadas.

Dada la índole de trabajo realizado en la zona de cabinas de flujo laminar de la Unidad de Reconstitución de Citostáticos y el riesgo que puede implicar para los pacientes la acumulación de partículas, la limpieza de dicha zona se hará de acuerdo a Normas que se establezcan en el sector para dar cumplimiento a los indicadores de calidad preestablecidos verificando que la misma sea efectiva. Se deberá contar con los registros correspondientes.

PROCEDIMIENTOS DE MANIPULACIÓN

Se entiende como manejo de citostáticos al conjunto de operaciones que incluyen desde la recepción del medicamento hasta la eliminación de los residuos. La manipulación debe realizarse de modo de asegurar la protección al paciente, al ambiente y al personal de salud encargado de la preparación de estos fármacos.

Comprende las siguientes operaciones

- Recepción y almacenamiento de medicamentos
- Control farmacéutico de la indicación médica
- Generación de la orden de preparación, reconstitución de citostáticos y preparación de la dosis terapéutica
- Dispensación y distribución
- Recomendaciones para la administración.

La recepción de **medicamentos citostáticos** se realizará siguiendo el mismo procedimiento que para otras especialidades medicinales (en lo referente al aspecto, integridad del envase, caducidad, etc.)

Para su almacenamiento se deberá reservar un sector especial separado para este tipo de fármacos y contar con un refrigerador, de ser necesario. Los envases deberán disponerse de forma tal que se prevenga su ruptura por causas accidentales. Se tendrán en cuenta las características de cada medicamento: termolábiles, fotosensibles, etc.

El **material** deberá ser almacenado en el depósito correspondiente, limpio y cuando corresponda, estéril.

Cuando el material sea recibido en cajas, las mismas deberán ser eliminadas y reemplazadas por

otro contenedor de material apropiado (que no libere partículas).

Se deberá llevar un informe escrito de las prescripciones médicas que se reciban y deberán ser interpretadas por el profesional farmacéutico del servicio.

El farmacéutico debe validar la prescripción, cuando se observe alguna diferencia en la dosis, inestabilidad por el tipo de solvente indicado o falta de algún dato del paciente se comunicará con el médico tratante.

Se confeccionará una **Planilla de Registro** por paciente donde conste número de historia clínica, nombre del médico, datos de filiación del paciente, diagnóstico, ubicación dentro de la institución o el domicilio (si se trata de un paciente ambulatorio), nombre genérico del medicamento a preparar, dosis, vehículo, volumen total, vía de administración, protocolo de indicación médica y día del ciclo.

A partir de la prescripción médica se confeccionará un **Orden de Preparación** que deberá incluir, además de los datos mencionados anteriormente, las dosis del medicamento en las unidades correspondientes (g, mg, UI, etc.), el solvente para la reconstitución (si se trata de un frasco ampolla con liofilizado o polvo), el volumen a utilizar de esa reconstitución y el volumen total en ml y tipo de solvente para hacer la dilución. También se deben registrar, tanto en la Orden de Preparación, para información del farmacéutico, como en el rótulo, para comunicación a enfermería, las alertas de incompatibilidades, estabilidad, condiciones de conservación, ritmo de infusión, fecha y horario de caducidad, y otras observaciones.

Se recomienda redactar un manual de procedimientos donde se contemplen todas las operaciones que se realizan en el servicio.

Los viales deben ser venteados con una aguja para eliminar presiones que pudieran provocar proyecciones del activo o aerosoles hacia el operador. Para evitar sobrepresiones en la etapa de reconstitución de los viales con el objeto de reducir el riesgo de formación de aerosoles, se recomienda utilizar agujas con filtro de venteo o la técnica de presión negativa introduciendo dentro del vial un volumen de aire idéntico al volumen del líquido a extraer. Colocar una gasa estéril alrededor de la aguja y sobre el tapón del vial cuando se retira la solución de citostático del mismo. Las proyecciones de medicamentos citostáticos hacia las paredes o el filtro de la cabina de flujo laminar puede provocar su deterioro y riesgo de toxicidad. El volumen final en la jeringa se mide antes de retirar la aguja del vial, con el fin de no descartar medicación al medio ambiente. Las jeringas y los recipientes que contie-

nen las soluciones deben ser rotuladas de inmediato. Las jeringas y agujas usadas deben ser descartadas en un dispositivo dispuesto para ese fin no reutilizable. Todos los elementos utilizados deben ser desechados en bolsas rojas reservadas para tal fin. Se debe registrar inmediatamente las preparaciones efectuadas, indicando cantidad preparada, datos del paciente y técnico responsable en un libro habilitado a tal fin.

ESTABILIDAD

Se recomienda consultar bibliografía específica y confeccionar protocolos de estabilidad y compatibilidad de los medicamentos citostáticos.

CONTROL DE CALIDAD

Se deberá establecer un programa de control periódico referente a la identificación del principio activo y las dosis.

La reconstitución de fármacos citostáticos puede ocasionar errores de medicación que impliquen graves consecuencias para los pacientes debido a su estrecho margen terapéutico. En el proceso global de tratamiento con quimioterapia existen distintos pasos en los cuales se puede producir un error potencial. Por este motivo, es necesario establecer estrategias para reducir la probabilidad de que esto último ocurra. La preparación es uno de los puntos más críticos de todo el proceso, y por tanto resulta imprescindible la implementación de controles de calidad para reducir la probabilidad de que se produzca un error. Se han establecido diferentes sistemas para controlar la calidad de los preparados: control de volúmenes, control de viales utilizados, control de pesada y controles de rótulo. No obstante, no existe hasta el momento ningún método infalible para detectar errores de dosificación.

- **Inspección visual**

Se deberá inspeccionar cambio de coloración, presencia de partículas visibles, turbidez, formación de gas, integridad del envase y del cierre.

- **Control de rótulo**

En el proceso de preparación, además de establecer medidas para disminuir errores de dosificación con el rotulado de los viales previo a su preparación, también es importante establecer un control de etiquetado previo a la dispensación por comparación del rótulo con la prescripción y la orden de preparación.

DISTRIBUCIÓN Y DISPENSACIÓN

El profesional farmacéutico es responsable de la distribución y dispensación de los medicamentos citostáticos preparados:

- Se deberán entregar corroborando nombre del paciente y número de cama o habitación y servicio, dispuestos dentro de un envase herméticamente cerrado y rotulado.
- Se confeccionará un listado global diario de los pacientes que reciben tratamiento y de los medicamentos citostáticos preparados. Estos listados servirán como control de dispensación y serán firmados por la enfermera o auxiliar que los reciba.
- Se recomienda que el producto terminado sea entregado con el dispositivo médico adecuado.

ADMINISTRACIÓN

La administración estará a cargo del personal de enfermería calificado.

El farmacéutico especializado en oncología, trabajará en forma conjunta con el equipo de salud para lograr la administración óptima del medicamento al paciente.

Se enumerarán a continuación algunas recomendaciones generales para la administración por parte del personal de enfermería y sobre el manejo de las excretas.

Recomendaciones para la administración de citostáticos

- Utilizar guantes estériles y descartarlos después de cada uso.
- Utilizar barbijo para protección de pacientes inmunocomprometidos.
- Usar camisolín de mangas largas con puños elastizados, tener en cuenta que los guantes deben ir por debajo del puño del camisolín.
- Controlar la administración, para detectar posibles extravasaciones.
- La orina y heces de estos pacientes deben manipularse con sumo cuidado y usando guantes.

BIOSEGURIDAD

Exposición accidental

Después de una exposición sin contacto con la piel, se deben quitar los guantes y prendas contaminadas, lavar las manos y colocar guantes nuevos. Si el citostático tomara contacto directo con la piel del manipulador se recomienda seguir las indicaciones descriptas en la *Tabla* . Si el área afectada está lacerada o irritada es conveniente consultar inme-

diatamente al médico. En el caso de producirse un corte con aguja o con vidrio hay que lavar la zona con abundante agua tibia y jabón, y consultar inmediatamente al médico.

Derrames

Pueden producirse derrames por accidente, durante la preparación, administración o transporte de los medicamentos citotóxicos. Todo el personal implicado en la limpieza de un derrame debe llevar material protector (barbijo de baja porosidad, doble guante y camisolín). El material conteniendo el agente citotóxico, se considerará contaminado y por tanto, se colocará en una bolsa, de polietileno color rojo de no menos de 100 µm de espesor, para su destrucción.

El equipo para derrames estará convenientemente acondicionado e identificado en un lugar fácilmente accesible.

Composición:

- Protocolo de actuación en caso de derrames
- Barbijo de baja porosidad
- Anteojos protectores
- Doble par de guantes, de polivinilo o neopreno
- Botas o cubre calzados
- Pala para recolectar restos de material y vidrios
- Doble bolsa descartable para restos de citostáticos
- Paños y gasas absorbentes
- Escobilla recolectora
- Kit de neutralizantes químicos
- Sachet de agua

Desechos

Los desechos deben colocarse en recipientes de paredes rígidas para su posterior incineración.

Nunca deberán arrojarse medicamentos ni desechos citostáticos a la red cloacal o desagües.

Tabla - Recomendaciones a seguir en caso de exposición accidental con contacto directo con la piel.

[NOTA: en todos los casos de contacto con citostáticos se recomienda consultar rápidamente al servicio de Medicina Laboral.]

<i>Farmaco</i>	<i>Acción en la piel</i>	<i>Norma de actuación en caso de contacto con la Piel</i>
Actinomicina - D	Vesicante	Sumergir 10' en buffer fosfato , luego lavar con agua y jabón
Amsacrina	Vesicante	Lavar con agua y jabón
Bleomicina	Tóxico local , Alergígeno	Lavar enérgicamente con agua y jabón
Carboplatino	No Irritante	Lavar con agua
Carmustina	Vesicante	Lavar con agua . Si aparece irritación aplicar solución de CO ₃ HNa
Ciclofosfamida	Irritante	Lavar con agua
Cisplatino	Potencial alergénico	Lavar con abundante agua
Citarabina	Irritante	Lavar con abundante agua y jabón
Dacarbazina	Irritante	Lavar con agua y jabón
Daunorubicina	Irritante - Vesicante	Lavar rápidamente con agua y jabón
Doxorubicina	Irritante - Vesicante	Lavado abundante con agua y jabón
Epirubicina	Irritante - Vesicante	Lavado abundante con agua y jabón
Etopósido	Irritante	Lavar con abundante agua
Fluorouracilo	Inflamación en la piel	Lavar con agua
Idarubicina	Irritante - Vesicante	Lavado abundante con agua y jabón
Ifosfamida	Irritante	Lavar con agua
Irinotecan	No Irritante	Lavar con agua
L - Asparaginasa	No Irritante	Lavar con agua
Mecloretamina	Vesicante	Lavar rápidamente con agua y jabón

Melfalán	Vesicante	Lavar rápidamente con agua y jabón
Metotrexato	No Vesicante	Lavado con abundante agua
Mitomicina	Vesicante	Lavar con CO_3HNa 1M , luego con abundante agua y jabón
Mitoxantrona	Irritante	Lavar con agua
Oxaliplatino	No Irritante	Lavar con agua
Paclitaxel	Irritante	Lavar con abundante agua
Tenipósido	Irritante	Lavar con abundante agua
Thiotepa	No Irritante	Lavar con agua
Vinblastina	Irritante - Vesicante	Lavar con abundante agua
Vincristina	Irritante - Vesicante	Lavar con abundante agua
Vindesina	Irritante - Vesicante	Lavar con abundante agua

1027. BUENAS PRÁCTICAS DE PREPARACIÓN DE MEDICAMENTOS MAGISTRALES

ALCANCE Y DEFINICIONES

Buenas Prácticas de Preparación de medicamentos magistrales: es el conjunto de normas y procedimientos que contribuyen a asegurar la calidad de los medicamentos magistrales.

Medicamento magistral: es todo medicamento prescripto en una receta magistral para un paciente individualizado, posteriormente preparado, envasado y rotulado por un Farmacéutico en el laboratorio de su Farmacia y dispensado en la misma.

Receta magistral: la receta magistral debe indicar claramente la composición cuali-cuantitativa de los principios activos, utilizando los nombres establecidos en la Farmacopea Argentina o la Denominación Común Internacional (DCI) de la OMS. Sólo se aceptan sinonimias contempladas en la Farmacopea Argentina. Debe respetar las dosis habituales y máximas, indicadas en la Farmacopea o, en su ausencia en bibliografía internacional de referencia.

Debe indicar la vía e indicaciones de administración, los datos completos del profesional prescriptor, los datos del paciente y la fecha de emisión.

CAPÍTULO 1°

PERSONAL

La preparación de medicamentos magistrales puede ser efectuada por el Farmacéutico Director Técnico o por los Farmacéuticos Auxiliares. La Farmacia debe estar debidamente habilitada a tal efecto por la Autoridad Sanitaria jurisdiccional competente.

El Director Técnico es el responsable de la calidad y seguridad de los preparados magistrales, siendo por ello responsable del origen, la calidad y la pureza de los principios activos, excipientes, envases y otros materiales que utilice, del diseño galénico, de la preparación de los productos y del aseguramiento de su calidad.

El Director Técnico debe organizar las tareas relacionadas con la preparación de medicamentos magistrales, debiendo precisar por escrito las funciones de los Farmacéuticos Auxiliares y del resto del personal, y supervisar su cumplimiento.

El Director Técnico debe asegurar la aptitud de todo el personal involucrado en la preparación de medicamentos magistrales y el cumplimiento por

parte de éste de las Buenas Prácticas de Preparación de Medicamentos Magistrales.

CAPÍTULO 2°

LOS PREPARADOS MAGISTRALES

Para la preparación de cada medicamento magistral es necesario contar con la receta correspondiente, la cual deberá estar completa en todas sus partes y contener toda la información necesaria para llevar a cabo la preparación y rotular adecuadamente la misma, correspondiendo al Director Técnico completar la fórmula con los excipientes adecuados, debiendo respetar las dosis habituales y máximas recomendadas para los principios activos.

La preparación del medicamento magistral debe registrarse en el libro recetario.

Por la propia naturaleza de estos medicamentos y el conocimiento específico que dispone el Farmacéutico que lo prepara, es de su competencia proveer al paciente la información necesaria para su correcta utilización y conservación.

CAPÍTULO 3°

LABORATORIOS

3-1 Consideraciones generales

La preparación y el control de los preparados magistrales deben efectuarse en laboratorios que forman parte de la estructura edilicia de la Farmacia y estar emplazados en salas totalmente independientes del lugar de atención al público, separados del depósito y aislados de otras dependencias de la Farmacia.

Todas las áreas de la Farmacia destinadas a las preparaciones magistrales deben contar con espacios adecuados para la disposición ordenada de los equipos y materiales, y deben poseer condiciones de temperatura y humedad apropiadas.

3-2 Instalaciones

Para la preparación de medicamentos magistrales la Farmacia debe disponer de un laboratorio general, destinado a la preparación de formas farmacéuticas no estériles, al fraccionamiento de materias primas y excipientes y al aseguramiento de la calidad, pudiendo contar con otros laboratorios especiales.

3-3 Características

El laboratorio debe contar con buena iluminación, adecuada renovación de aire y mallas metálicas en todas las aberturas de ventilación e instrumentos para medir la temperatura y humedad del ambiente de trabajo. Sus pisos, paredes y

techos deben ser lisos con bordes sanitarios y las mesas de trabajo deben ser lisas, impermeables y resistentes a agentes químicos.

Los laboratorios especiales deben cumplir con requisitos adicionales que los hagan aptos para la actividad a desarrollar.

3-4 Materiales y Equipos

Deben ser acordes con el tipo de medicamentos a preparar, suficientes en cantidad y calidad y apropiadamente acondicionados e instalados. En los equipos que requieren calibración, ésta debe realizarse con la periodicidad adecuada y su calibración debe verificarse y documentarse regularmente.

3-5 Higiene y Seguridad

La Farmacia debe contar con directrices escritas sobre higiene y seguridad, las cuales deben ser acordes con el tipo de medicamento a preparar y exhibirse en lugar visible del laboratorio. El Director Técnico es responsable de generar, documentar, hacer cumplir y llevar un registro del cumplimiento de dichas directrices.

3-6 Limpieza

La Farmacia debe contar con procedimientos de limpieza del área de preparación de medicamentos magistrales acordes con el tipo de preparaciones que se realicen. El Director Técnico es el responsable de generar y documentar dichos procedimientos y de asegurar y documentar debidamente su cumplimiento.

3-7 Residuos

La Farmacia deberá contar con mecanismos para el manejo interno y la disposición de residuos considerados peligrosos. El Director Técnico es responsable de generar e implementar los procedimientos apropiados y necesarios para tal fin y de asegurar y documentar debidamente su cumplimiento.

CAPÍTULO 4°

DOCUMENTACIÓN

4-1 General

La documentación constituye una parte fundamental del sistema de aseguramiento de la calidad. Son aceptables los registros computarizados y los producidos mediante microfilmación.

Toda la documentación referida a materias primas y excipientes debe utilizar los nombres oficiales de la FA o la Denominación Común Internacional (DCI) para sustancias no codificadas.

4-2 Manuales, procedimientos y registros

La Farmacia debe contar con un manual operativo general y manuales de uso, mantenimiento y calificación de sus equipos.

La Farmacia debe poseer procedimientos operativos estandarizados para el uso de cada uno de sus equipos, para la preparación de medicamentos magistrales de uso corriente y para las actividades de limpieza, disposición de residuos, higiene y seguridad.

La Farmacia debe contar con registros individuales de entrenamiento y calificación del personal.

En la Farmacia se deben almacenar los registros de mantenimiento y calificación de equipos, y los registros que permitan verificar el cumplimiento de las actividades de limpieza, disposición de residuos, higiene y seguridad.

En la Farmacia se debe llevar todo libro oficial que asegure y avale el debido cumplimiento de las regulaciones vigentes.

4-3 Materias primas, envases y materiales de acondicionamiento

Todos los materiales que ingresan a la Farmacia para ser empleados en la preparación, envasado y acondicionamiento de medicamentos deben contar con una ficha individual de registro que incluya la fecha de ingreso.

Toda materia prima y excipiente que ingresa a la Farmacia debe contar con su correspondiente certificado de análisis del proveedor firmado por su Director Técnico; caso contrario, el Director Técnico de la Farmacia deberá realizar los controles pertinentes.

La documentación correspondiente a todos los materiales utilizados en la preparación de los medicamentos magistrales debe ser debidamente archivada.

CAPÍTULO 5°

MATERIAS PRIMAS, ENVASES Y MATERIAL DE ACONDICIONAMIENTO

La calidad de las materias primas, envases y materiales de acondicionamiento inciden en la calidad del producto final, por lo que el Farmacéutico debe tener especial cuidado en todos los aspectos del manejo de los mismos.

5-1 Materias primas

Sólo pueden ser empleadas aquellas materias primas, principios activos y excipientes, codificadas en el Código ANMAT o descritas en textos de reconocida jerarquía.

Todas las materias primas que ingresan a la Farmacia deben ser puestas en cuarentena, debidamente rotuladas y en una ubicación especial, hasta tanto se haya verificado su identidad con la documentación que respalda su calidad. El Director Técnico es responsable de la realización de todo esfuerzo razonable en procura de la identificación

de toda materia prima que ingresa a la Farmacia. El período de cuarentena finaliza con la aceptación o rechazo de la materia prima.

Las materias primas rechazadas deben ser almacenadas separadamente, hasta su disposición como residuo o devolución al proveedor.

Toda materia prima que haya superado la fecha de reválida o reanálisis, (ver 1040. *Estudios de Estabilidad*) debe ser puesta en cuarentena hasta tanto se determine analíticamente su aptitud y una nueva fecha de reanálisis; en caso de no ser apta debe almacenarse separadamente para su disposición como residuo.

La utilización, en casos debidamente justificados, de una especialidad medicinal como materia prima, para la preparación de un medicamento magistral, quedará a criterio del Director Técnico.

5-2 Rotulado

Todo envase de materia prima o excipiente debe contener todos los datos que permitan su correcta identificación, debiendo consignarse de manera obligatoria su nombre, proveedor, número de lote o partida, fecha de reanálisis y número de registro.

5-3 Almacenamiento

Las materias primas deben ser almacenadas bajo condiciones apropiadas, que aseguren su estabilidad durante su período de vida útil. (ver *Consideraciones Generales*)

5-4 Envases

El medicamento magistral debe ser envasado en envase apto (ver *Consideraciones Generales*, 420. *Envases primarios de plástico* y 430. *Envases de vidrio*), de acuerdo a las propiedades físicas y químicas del preparado farmacéutico, de modo de evitar se alteren la calidad, la concentración o la pureza de la preparación. Se debe considerar la posible interacción de los productos activos con el envase.

CAPÍTULO 6°

PREPARACIÓN

6-1 Diseño de la fórmula

La correcta preparación de una fórmula magistral comienza con el diseño de la misma, tras la recepción de la receta magistral.

La fórmula debe evaluarse para determinar la factibilidad de su preparación y debe emplearse un diseño galénico que tenga en cuenta el comportamiento fisicoquímico de sus componentes, sus posibles incompatibilidades y las eventuales interacciones con el envase.

Para el ajuste de la fórmula cuantitativa se debe tener en cuenta la expresión correcta de la dosis

establecida en el presente Código o en la bibliografía internacional de referencia.

6-2 Preparación del medicamento magistral

Debe hacerse en una zona de trabajo limpia y libre de cualquier producto, material o documento ajeno a la preparación, debiendo estar asegurada previamente la provisión de todos los elementos y documentación necesarios como así la limpieza y el adecuado funcionamiento de los equipos a utilizar.

6-3 Vencimiento del medicamento magistral

Los preparados magistrales se realizan para una administración a plazo definido y corto, por lo que deben poseer fechas de vencimiento asignadas acordes al período de tratamiento.

6-4 Rotulado

Los medicamentos magistrales deben estar debidamente rotulados (ver *Consideraciones Generales*) para asegurar su correcta identificación, haciendo constar en el rótulo la composición cuali-cuantitativa de sus principios activos, la composición cualitativa de sus excipientes, su forma farmacéutica y su vía de administración, posología y condiciones de conservación, fecha de preparación y vencimiento, y su número de registro en el libro recetario, como así datos del paciente, del médico que lo prescribió, la Farmacia donde se preparó y su Director Técnico.

CAPÍTULO 7°

ASEGURAMIENTO DE CALIDAD

Se debe poner especial énfasis en asegurar la calidad de todos los pasos de la preparación, documentando apropiadamente cada uno.

Para las diferentes formas farmacéuticas, se exigen los siguientes ensayos:

7-1 Cápsulas y comprimidos

Aspecto

Control de peso

Prueba de desintegración

7-2 Polvos

Aspecto

Control de peso

Reconstitución: en el caso que sea aplicable.

7-3 Inyectables en ampollas y viales

Aspecto y examen de partículas por observación visual.

pH del inyectable.

Control de cierre de las ampollas.

Control de contenido.

Control de esterilidad, para inyectables obtenidos por llenado aséptico.

Validación de procesos de esterilización para inyectables obtenidos por esterilización final.

Control de endotoxinas bacterianas. Se debe realizar para aquellos preparados que por la naturaleza de sus componentes, por el volumen de administración, o por las particularidades del tratamiento, así lo justifiquen.

7-4 Cremas, geles, ungüentos y pastas

Aspecto

pH

Control de contenido.

7-5 Supositorios y óvulos

Aspecto y homogeneidad por examen visual

Control de peso

Tiempo de fusión o Prueba de Disgregación

7-6 Soluciones, suspensiones y emulsiones (orales y tópicos)

Aspecto

pH

Hermeticidad del cierre

Control de contenido

7-7 Observaciones

Los preparados no inyectables estériles deben cumplir con el ensayo de esterilidad o la validación del proceso de esterilización según corresponda. Los colirios deben cumplir las condiciones de inyectables con excepción de endotoxinas bacterianas.

CAPÍTULO 8º

FUENTES DE INFORMACIÓN

La Farmacia debe disponer de la última edición de la FA, recomendándose además otros códigos y textos actualizados de reconocida jerarquía, que provean una razonable cobertura de información específica.

Deberá contemplar disponer de los medios apropiados para acceder a bases de datos y centros de información sobre medicamentos que provean información farmacéutica y farmacoterapéutica actualizada y pertinente que contribuyan a garantizar la calidad y seguridad de los medicamentos.

CAPÍTULO 9º

Las Farmacias que preparan medicamentos magistrales, además de cumplir las Buenas Prácticas de Preparación de medicamentos magistrales establecidas en este Código, deberán cumplimentar los requerimientos legales establecidos por la Autoridad Sanitaria jurisdiccional competente para este tipo de actividades.

1030. CRIADEROS DE POLLOS LIBRES DE PATOGENOS ESPECIFICADOS PARA LA PRODUCCIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DE LAS VACUNAS

Cuando se especifica en una monografía, los pollos, embriones o cultivos de células utilizados para la producción o control de calidad de vacunas se deben obtener a partir de huevos producidos por criaderos de pollos libres de patógenos especificados (LPE).

PRINCIPIOS GENERALES Y MÉTODOS

Un grupo de pollos LPE se define como aquel conjunto de aves de un mismo criadero y que por tanto comparten el mismo ambiente y son atendidos por las mismas personas, las cuales no tienen contacto con ningún otro grupo de pollos que no sea LPE.

Para los criaderos LPE establecidos sobre una base de rotación, la eclosión y la cría de todos los reemplazos se deben realizar siempre en el gallinero de ambiente controlado.

El criadero debe mantenerse en condiciones que reduzcan al mínimo el riesgo de contaminación. No puede estar situado en la proximidad de criaderos de aves no-LPE, debiendo disponer de instalación de aislamiento provista de aire filtrado con presión positiva. Se deben tomar las medidas oportunas para impedir el acceso de roedores, aves silvestres, insectos y personas no autorizadas.

El personal cuya entrada esté autorizada no debe tener ningún contacto con otras aves o con agentes que pudieran infectar al criadero. Se recomienda al personal al cuidado del criadero ducharse y cambiarse de ropa o vestir ropa de protección antes de entrar en la instalación de cría de los pollos.

Los objetos que se introducen en el gallinero deben estar esterilizados. El alimento debe someterse a un tratamiento adecuado a fin de evitar la introducción de microorganismos indeseables, y el agua debe ser clorada. No se debe administrar medicación que pueda interferir con la detección de enfermedades en el criadero.

Debe llevarse un registro permanente del estado de salud general del criadero, investigándose cualquier anomalía que surja. Los factores objeto de seguimiento incluyen la morbilidad, la mortalidad, el estado físico general, el consumo de alimento, la producción diaria de huevos y la calidad, fertilidad y capacidad de eclosión de los mismos. Los huevos sucios deben descartarse; puede desinfectarse la superficie de los huevos limpios mientras están todavía calientes.

El criadero se inicia con animales, para los que se haya demostrado que están libres de agentes infecciosos de transmisión vertical.

1033. CUIDADOS PALIATIVOS

Introducción

Los Cuidados Paliativos surgen en la década del 50 como una respuesta científica y humanista para los enfermos adultos con cáncer avanzado y terminal. El fracaso en la farmacoterapia contra el dolor en los pacientes agonizantes genera el nacimiento de una nueva especialidad en donde los fármacos opioides cobran protagonismo.

El cambio del objetivo terapéutico de curar por el objetivo de brindar alivio tanto del dolor como de cualquier otro síntoma que tuviera el paciente y el compromiso de acompañamiento para él y su familia durante el transcurso de su enfermedad son los pilares básicos de la Medicina Paliativa. A éstos debemos agregar el Cuidado de los que asisten al enfermo; éste constituye el tercer pilar en el cual se establecen las estrategias que permiten al equipo de salud que asiste a estos enfermos y familias no agotarse en el trabajo.

Dar jerarquía e importancia a los síntomas y su alivio frente a una enfermedad que no tiene posibilidades de curación es el mayor aporte que esta nueva especialidad ha dado a la medicina a finales del siglo pasado.

El modelo se extendió hacia la asistencia a otras enfermedades y grupos de pacientes. Enfermedades crónicas evolutivas: Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica, enfermedades neurológicas invalidantes, cardiopatías, enfermos con Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (HIV), etc.

En Pediatría desde su comienzo a fines de la década del 70 se aplicaron no sólo para niños con enfermedad terminal sino también para niños con enfermedades crónicas amenazantes para la vida (enfermedades genéticas, neurológicas evolutivas, Cardiopatías, Fibrosis Quística Pulmonar, etc.). Sus bases filosóficas y metodológicas son iguales: alivio de síntomas, acompañamiento del niño y su familia y cuidado del equipo asistencial.

Los Cuidados Paliativos por lo tanto, se ocupan de la asistencia de personas con enfermedad en etapa incurable y terminal, a fin de garantizar la máxima calidad de vida posible al enfermo y a su grupo familiar.

La Organización Mundial de la Salud define a los Cuidados Paliativos como la *“asistencia integral, individualizada y continuada de las personas enfermas en situación avanzada y terminal, teniendo en el enfermo y su familia la unidad a tratar, desde un punto de vista activo, vivo y rehabilitador con objetivos de confort”*.

Los Cuidados Paliativos son brindados por

equipos interdisciplinarios de salud, que deben garantizar:

1. *Control de síntomas*: el dolor y un conjunto de síntomas discapacitantes aparecen con marcada frecuencia en estos enfermos: su alivio apropiado es una de las funciones principales del programa, mejorando los síntomas y el nivel de actividad.

2. *Acompañamiento*: se trata de la táctica de cuidados psicológicos y espirituales que, con absoluto respeto a la personalidad y las creencias de los pacientes y sus familiares, facilita el nivel de adaptación a la situación presente y ayuda a prever complicaciones evitables (ej.: claudicación de la familia, trastornos en los niños, duelo patológico, imposibilidad de hallar un sentido personalizado a la dolencia).

3. *Cuidado del equipo asistencial*, tercer pilar de la medicina paliativa estableciendo estrategias que permitan al equipo de salud que asiste a estos enfermos y familias no agotarse por el trabajo.

DOLOR

“El dolor es una desagradable experiencia sensorial y emocional que se asocia a un daño real o potencial de los tejidos o que se describe en términos de dicho daño”. (Asociación Internacional para el Estudio del Dolor)

El dolor es siempre subjetivo. Cada individuo aprende a aplicar este término a través de experiencias traumáticas en los primeros años de vida. Indudablemente se trata de una sensación en una o más partes del cuerpo, pero también es siempre desagradable y por lo tanto supone una experiencia emocional.

Generalmente se asocia el dolor a la llegada de un estímulo nociceptivo al Sistema Nervioso Central. Sin embargo existen ocasiones en las que el cerebro puede generar dolor en ausencia de esta aferencia. Esto es debido a la existencia en el cerebro de una representación de la imagen corporal denominada neuromatriz.

Es fácil de comprender entonces que la percepción del dolor puede ser modificada de varias maneras, ya sea modificando las aferencias (analgésicos, kinesioterapia) o las diversas influencias corticales (psicoterapia, técnicas cognitivas conductuales) que recibe la neuromatriz.

Componentes del dolor

Se pueden distinguir cuatro componentes del síntoma:

Nocicepción: es la detección del daño tisular por parte de transductores especializados ubicados en las fibras Aδ y C (nociceptores). Estos transductores son activados cuando hay cambios neurales e inflamatorios en el entorno. Y el neuropático provocado por la transmisión misma de los mediadores químicos dando una sensación punzante, quemante o eléctrica diferente a los estímulos descritos anteriormente.

Percepción del dolor: es desencadenada por un estímulo nociceptivo (lesión o enfermedad) o por lesiones del sistema nervioso central.

Sufrimiento: es una respuesta negativa al dolor pero también al temor, ansiedad, estrés, pérdidas, etc. Aparece cuando la integridad física se encuentra amenazada. Frecuentemente se lo equipara de manera errónea al dolor.

Conducta frente al dolor: son las acciones que una persona hace o deja de hacer y que pueden ser atribuidas a la presencia de daño tisular (llorar, gritar, consultar al médico). Son conductas reales, observables y cuantificables por otros. Es el único componente que podemos evaluar.

Partiendo de las conductas observadas y apoyándonos en la historia clínica y el examen físico inferimos la existencia de nocicepción, dolor y sufrimiento.

Mecanismos de dolor

Nociceptivo es producido por la activación de nociceptores secundaria a daño tisular. El tratamiento está orientado a resolver la patología de base y a aliviar el síntoma.

Una salvedad es el dolor por cáncer en la que la invasión a los tejidos es persistente por lo que se comporta como un dolor agudo continuo.

Neuropático: puede ser originado por la injuria pero es perpetuado por otros factores. No hay curación. La injuria puede exceder la capacidad de cicatrización ya sea por pérdida de la región (amputación), lesiones extensas con pérdida de sustancia y cicatrización dificultosa o lesión del sistema nervioso (sección medular, neuritis)

Puede haber dolor mixto con la presencia de ambos componentes antes mencionados

El tratamiento provee alivio transitorio (no resuelve la patología de base). La terapia psicológica puede disminuir el impacto del dolor sobre la vida cotidiana.

Causas:

1. Por la enfermedad neoplásica subyacente: en partes blandas (metástasis dérmicas), visceral (obstrucción intestinal tumoral), óseo (metástasis o tumor primario), neuropático (infiltración de nervio).

2. Debido a la terapéutica: ej.: mucositis post-quimioterapia, neuritis actínica,

3. Por la debilidad asociada al cáncer: ej.: dolor por constipación, espasmo muscular,

4. Por patología concurrente: ej.: osteoartritis, espondilosis.

El Concepto de Dolor Total: implica las diferentes dimensiones que modifican la percepción y manifestación del dolor, integrado en el concepto de “sufrimiento”. Cuando se identifica la presencia de dolor en enfermo con cáncer, existen dos riesgos: suponer que el mismo responde sólo a una naturaleza biológica, modificable por fármacos o ignorar la base somática del dolor y presuponer que se trata sólo de una expresión emocional o existencial, siendo en realidad el dolor una suma de componentes físicos, psicológicos, sociales y espirituales, de ahí su componente emocional que lo hace siempre subjetivo, siendo esto un desafío para su tratamiento.

Manejo terapéutico:

1. Tratamiento de la causa.
2. Medidas no farmacológicas: físicas, kinesiológicas, psicológicas, etc.
3. Tratamiento farmacológico del dolor: es la piedra angular del alivio del síntoma

Protocolo Terapéutico Farmacológico:

Considerar:

1. Tipo del dolor según mecanismos
2. Intensidad del dolor
3. Tratamiento analgésico previo
4. Criterio de “analgésia de amplio espectro”
5. Principios para el uso de analgésicos

De acuerdo con la fisiopatología del dolor (receptores estimulados, vías aferentes) se describen dos tipos fundamentales: dolor nociceptivo y dolor neuropático. En los pacientes con dolor neoplásico es frecuente la existencia de dolor mixto, por compresión del SNP o SNC provocada por el tumor primario o las metástasis.

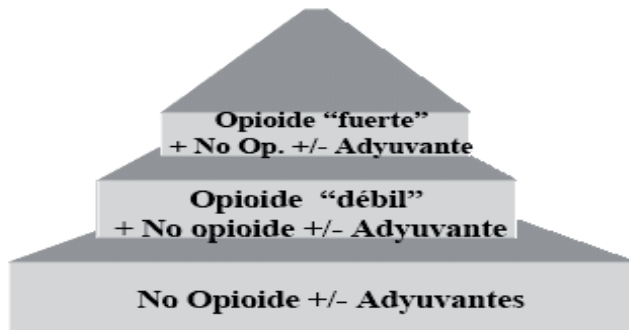
Tabla 1. Tipos y mecanismos del dolor

Relación de Respuesta analgésica vs. Mecanismo del dolor				
	Nociceptivo		Neuropático	
	Somático	Visceral	Compresión nerviosa	Destrucción Nerviosa
Patron	Localizado	Difuso	Irradiado	
AINES	+++	++	+	+/-
Opiáceos	++	+++	+	+/-
Corticoides	-	+/-	++	+/-
Adyuvantes	-	+	++	+++

Tratamiento farmacológico:

La Organización Mundial de la Salud propone una escalera para el tratamiento farmacológico adecuado:

1. No opioide con o sin adyuvante.
2. Opiode “débil” más no opioide con o sin adyuvante.
3. Opiode “fuerte” más no opioide con o sin adyuvante.



Método de la escalera analgésica de O.M.S

Tratamiento farmacológico analgésico:

El equipo de Cuidados Paliativos debe analizar la respuesta a los fármacos que recibe el paciente previo a la consulta actual. Debe optimizar posología (dosis, intervalo/dosis), agregar fármacos necesarios (ej.: adyuvantes) o modificar los fármacos prescritos.

- a) analgésicos no opioides (paracetamol, antiinflamatorios no esteroides (AINES))
- b) analgésicos opioides (débiles y fuertes, según vademécum)

c) adyuvantes (ej.: antidepresivos, anticonvulsivantes, corticosteroides; laxantes, antieméticos, psicoestimulantes)

Los *fármacos adyuvantes* cumplen dos objetivos: o bien se indican para favorecer el alivio de determinados dolores que responden parcialmente a los analgésicos (ejemplo: carbamacepina en dolor neuropático) o bien se prescriben para controlar efectos adversos de los analgésicos, favoreciendo que los mismos pueden ser administrados con menor riesgo y toxicidad. (Ej.: indicación de laxante para prevenir o controlar la constipación inducida por opioides).

Cuando se decida sustituir un opioide por otro (“rotación de opioides”), por considerar a un dolor como “resistente” a un determinado opioide, hay que tener en cuenta las recomendaciones internacionales sobre dosis a utilizar, especialmente si el opioide que se indica es metadona.

Una de las formas más comunes para tratar pacientes con enfermedades crónicas, en las que se presenta el dolor como un integrante infaltable al momento del control de síntomas, es el uso de opiáceos en forma de solución oral, preparado magistral que puede prepararse en la oficina de farmacia o en el laboratorio farmacéutico del hospital.

Como este no es el único motivo, existe un interés sanitario por la formulación magistral, que deriva sobre todo de los siguientes supuestos de preparación:

1. Formas farmacéuticas distintas a las comercializadas, para facilitar su administración a determinados pacientes

2. Formulaciones con excipientes que mejoran la eficacia y/o tolerancia respecto a la especialidad farmacéutica.

3. Formulaciones con fármacos que ya no se encuentran en el mercado farmacéutico

4. Formas farmacéuticas con dosis o concentraciones que no existen en el mercado.

De allí surgen algunas formulaciones para el tratamiento de mucositis como es la solución de clorhexidina, o el gel para mucositis para la cavidad oral, incluso las cremas para las erosiones rectales o rectitis.

Todas estas son conocidas como *Formulaciones Huérfanas*, que deben prepararse en el laboratorio de farmacia del hospital o en la oficina de farmacia (ver 1027. *Buenas Prácticas de Preparación de Medicamentos Magistrales*) tarea de gran responsabilidad, donde la calidad del producto terminado debe ser adecuada para la dosificación por parte del paciente y deberá asegurarse la estabilidad de la misma por un tiempo prudencial, como asimismo asegurar que la cantidad de principio activo por unidad de volumen no varíe en el tiempo ya que esto impedirá un buen control del síntoma por parte de los pacientes, y de los médicos en cuanto a cual será la dosis que realmente alivia el dolor.

FORMULACIONES

CLORHIDRATO DE MORFINA SOLUCIÓN ORAL (GOTAS)

Morfina, Clorhidrato de,
trihidrato.....c.s
Metilparabeno.....0,18 g
Propilparabeno.....0,02 g
Propilenglicol.....10,0 ml
EDTA disódico dihidrato.....0,01 g
Ácido cítrico anhidro.....0,32 g
Citrato de sodio dihidrato.....0,22 g
Agua Destilada c.s.p.....100,0 ml

Las dosis de morfina se ajustarán a las necesidades del paciente, por lo tanto no se establecen dosis máximas diarias.

Si el farmacéutico lo considera necesario, podrá agregar algunas gotas de saborizante en la solución antes de dispensar para mejorar el sabor, en cuyo caso el período de vencimiento no será superior al mes.]

Preparación:

Solución A - Disolver el metilparabeno y el propilparabeno en 10,0 ml de propilenglicol a temperatura ambiente, calentando suavemente para facilitar su disolución si fuera necesario.

Solución B - Disolver el ácido cítrico anhidro, el citrato de sodio y el EDTA disódico en 80 ml de agua destilada previamente hervida y enfriada.

Agregar la *Solución A* sobre la *Solución B* con agitación constante. El pH de la solución debe ser entre 3,4 y 3,8, si fuera necesario ajustar con hidróxido de sodio 0,1 N o ácido clorhídrico 0,1 N, según corresponda.

Agregar el clorhidrato de morfina a la solución de excipientes, calentando suavemente para facilitar su disolución si fuera necesario.

Controlar el pH final, si fuera necesario ajustar con hidróxido de sodio 0,1 N o ácido clorhídrico 0,1 N, filtrar y lavar el filtro con agua destilada hasta completar 100,0 ml.

Conservación - En envases inactivos de cierre perfecto, a temperatura ambiente.

Caracteres generales - Líquido límpido, libre de elementos extraños.

Determinación de pH - Entre 3,0 y 4,5

CLORHIDRATO DE MORFINA SOLUCIÓN ORAL (JARABE)

Morfina, Clorhidrato de,
trihidrato.....c.s
Metilparabeno.....0,08 g
Propilparabeno.....0,02 g
Sorbitol 70%.....25,0 ml
Agua Destilada c.s.p.....100,0 ml

Preparación - Disolver el metilparabeno y el propilparabeno en 40 ml de agua destilada calentada aproximadamente a 90 °C. Enfriar la solución, agregar el clorhidrato de morfina y agitar hasta disolución. Agregar el sorbitol, filtrar y lavar el filtro con agua destilada hasta completar 100,0 ml.

[NOTA: Podrá emplearse cantidad suficiente de Clorhidrato de Morfina para preparar soluciones de concentración deseada, las cuales no deben ser mayores a 4 %].

CLORHIDRATO DE METADONA 1 % SOLUCIÓN ORAL (JARABE)

Metadona, Clorhidrato de1,0 g
Benzoato de Sodio.....0,10 g
Sacarina Sódica.....0,20 g
Sorbitol 70%.....45 ml
Saborizante.....0,10 g

Agua Destilada c.s.p.....100,0 ml

Preparación - Disolver el benzoato de sodio en 40 ml de agua destilada previamente calentada aproximadamente a 90 °C. Enfriar, agregar la sacarina sódica y disolver. Agregar la metadona y agitar hasta disolución. Agregar el saborizante sobre el sorbitol, y éste sobre la solución de metadona. Filtrar y lavar el filtro con agua destilada hasta completar 100,0 ml.

Conservación - En envases inactínicos de cierre perfecto, a temperatura ambiente.

Caracteres generales - Líquido límpido, libre de elementos extraños.

CLORHIDRATO DE CODEÍNA DIHIDRATO, 0,3 % SOLUCIÓN ORAL (JARABE)

Codeína, Clorhidrato de,
dihidrato.....0,30 g
Metilparabeno.....0,08 g
Propilparabeno.....0,02 g
Sorbitol 70%.....25,0 ml
Agua Destilada c.s.p.....100,0 ml

Preparación - Disolver el metilparabeno y el propilparabeno en 40 ml de agua destilada calentada aproximadamente a 90 °C. Enfriar, agregar el clorhidrato de codeína y agitar hasta disolución. Agregar el sorbitol, filtrar y lavar el filtro con agua destilada hasta completar 100,0 ml.

Conservación - En envases inactínicos de cierre perfecto, en un sitio frío.

Caracteres generales - Líquido límpido, libre de elementos extraños.

CLORHIDRATO DE CLORPROMAZINA Y ACETATO DE HIDROCORTISONA CREMA

Clorhidrato de Clorpromazina.....0,20 g
Acetato de Hidrocortisona.....0,25 g
Cera autoemulsionante aniónica.....10 g
Vaselina Líquida.....4,0 ml
Metilparabeno.....0,08 g
Propilparabeno.....0,02 g
Propilenglicol.....12,0 ml
Agua Destilada75,0 ml

Preparación

Base hidrosoluble - Disolver el metilparabeno y el propilparabeno en 75 ml de agua destilada calentada aproximadamente a 90 °C. Agregar

6,0 ml de propilenglicol y mezclar. Fundir la cera y agregar la vaselina líquida agitando hasta homogeneizar. Calentar las fases oleosa y acuosa aproximadamente a 70 °C, agregar la fase oleosa sobre la acuosa agitando en forma continua hasta que la emulsión se enfríe.

Crema - Transferir el acetato de hidrocortisona y la clorpromazina a un mortero y agregar lentamente 6,0 ml de propilenglicol, triturar hasta formar una mezcla homogénea. Agregar la *Base hidrosoluble* en porciones, agitando suavemente hasta homogeneizar. Llevar a peso final con la *Base hidrosoluble*.

GLUCONATO DE CLORHEXIDINA 0,12 % SOLUCIÓN (COLUTORIO)

Clorhexidina Gluconato, Solución 20%.....0,60 ml
Glicerina.....5,0 ml
Esencia de menta.....0,02 g
Agua Destilada c.s.p.....100,0 ml

Preparación - Disolver el mentol en la glicerina. Agregar esta solución, en porciones sucesivas y agitando hasta homogeneizar, en un recipiente apropiado que contiene la solución de gluconato de clorhexidina 20 % y 40 ml de agua. Completar a 100,0 ml con agua destilada y filtrar.

Conservación - En envases inactínicos de cierre perfecto, a temperatura ambiente controlada.

Rotulado - No debe ingerirse, descartar luego de enjuagarse.

SIMETICONA SUSPENSIÓN ORAL (JARABE)

Simeticona líquida15,0 ml
Hidróxido de Aluminio.....1,5 g
Carboximetilcelulosa sódica.....0,80 g
Polisorbato 20.....0,1 ml
Glicerina.....5,0 ml
Sorbitol 70%20,0 ml
Metilparabeno.....0,08 g
Propilparabeno.....0,02 g
Sacarina Sódica.....0,20 g
Agua Destilada c.s.p.....100,0 ml

Preparación - Disolver el metilparabeno y el propilparabeno en 60 ml de agua destilada calentada aproximadamente a 90 °C. Agregar la sacarina y agitar hasta disolución. Agregar el polisorbato 20 y agitar hasta homogeneizar. Suspender el hidróxido de aluminio, agitando hasta obtener una suspensión uniforme. Colocar la carboximetilcelulosa en un mortero y agregar la

glicerina hasta formar un gel homogéneo. Agregar el sorbitol al gel de carboximetilcelulosa agitando hasta homogeneizar. Agregar al gel, en etapas sucesivas y agitando hasta homogeneizar, la suspensión preparada inicialmente y posteriormente la simeticona. Llevar a 100,0 ml con agua destilada y agitar hasta lograr una preparación homogénea.

GEL PARA MUCOSITIS (TÓPICO)

Vitamina A, Palmitato de (1.000.000 UI/ml).....	0,125 ml
Nistatina.....	0,50 g
Vitamina E.....	10 g
Lidocaína, Clorhidrato de	20 g
Hidrocortisona.....	10 g
Sacarina Sódica.....	0,50 g
Metilparabeno.....	0,08 g
Propilparabeno.....	0,02 g
Carbómero	2,5 g
Polisorbato 20.....	0,20 g
Esencia de Limón.....	0,1 ml
Sorbitol 70 %.....	20 ml
Trietanolamina.....	2 ml
Agua Destilada c.s.p.....	100,0 ml

Preparación - Disolver el metilparabeno y el propilparabeno en 40 ml de agua destilada calentada aproximadamente a 90 °C. Agregar la sacarina sódica y agitar hasta disolución. Agregar el clorhidrato de lidocaína y agitar hasta disolución. Dejar enfriar. Agregar el carbómero, dejar humectar el tiempo necesario para que gelifique y agitar hasta obtener una suspensión uniforme.

Tamizar la nistatina, transferir a un mortero con la hidrocortisona y triturar con la mezcla de vitamina A, vitamina E y polisorbato 20 agregada a 20 ml de agua destilada. Homogeneizar. Agregar a la suspensión preparada inicialmente y agitar hasta homogeneizar. Agregar una solución preparada a partir de esencia de limón en sorbitol previamente homogeneizada y completar a 100,0 ml con agua destilada. Agregar la trietanolamina y agitar hasta que se forme el gel.

CLORHIDRATO DE AMITRIPTILINA SOLUCIÓN ORAL (GOTAS)

Amitriptilina, Clorhidrato de.....	c.s
Metilparabeno.....	0,18 g
Propilparabeno.....	0,02 g
Propilenglicol.....	0,86 g
Agua Destilada c.s.p.....	100,0 ml

[NOTA: No contiene correctores de sabor ya que ha sido diseñada para ser administrada en gotas con jugos o bebidas artificiales.]

Preparación - Disolver el metilparabeno, el propilparabeno y el propilenglicol en 40 ml de agua destilada calentada aproximadamente a 90 °C. Enfriar, agregar el clorhidrato de amitriptilina y agitar hasta disolución. Controlar el pH final, filtrar y lavar el filtro con agua destilada hasta completar 100,0 ml.

[NOTA: Podrá emplearse cantidad suficiente de Clorhidrato de Amitriptilina para preparar soluciones de concentración deseada, las cuales no deben ser mayores a 6 %].

Caracteres generales - Líquido límpido, incoloro o ligeramente amarillento, libre de elementos extraños.

Determinación de pH - Entre 4,0 y 6,0.

Conservación - En envases de cierre perfecto, a temperatura ambiente.

1035. EQUIVALENCIA ENTRE MEDICAMENTOS

La seguridad, eficacia y calidad de los productos multifuente se sustentan fundamentalmente sobre dos pilares: las Buenas Prácticas de Manufactura y los estudios de equivalencia *in vivo* y/o *in Vitro*.

Los estudios de equivalencia permiten caracterizar el comportamiento de un producto multifuente con respecto a uno de referencia de manera de obtener una predicción confiable de sus efectos y garantizar la equivalencia terapéutica.

Los estudios de equivalencia *in vivo* involucran estudios farmacocinéticos, farmacodinámicos o ensayos clínicos comparativos, mientras que los estudios de equivalencia *in vitro* se llevan a cabo en función de la forma farmacéutica, por ejemplo, mediante la comparación de los perfiles de disolución entre el producto multifuente y el producto de referencia, para formas farmacéuticas sólidas orales.

Para otros productos, por ejemplo las formulaciones parenterales de compuestos altamente solubles en agua, la seguridad y eficacia es adecuadamente garantizada por la implementación de las Buenas Prácticas de Manufactura, por el cumplimiento de los estándares de calidad y por las especificaciones de Farmacopea.

Para los productos de origen biológico, tales como vacunas, suero animal, productos derivados de sangre y plasma humano y biotecnológicos, se plantean otras consideraciones que no están incluidas en este capítulo.

Por último, resulta de fundamental importancia considerar que los productos de referencia empleados en los estudios comparativos (*in vivo* e *in vitro*) sean válidos y confiables, sustentando dichas cualidades con el aporte de datos que garanticen la calidad, seguridad y eficacia del producto seleccionado.

DEFINICIONES

Alto riesgo sanitario

Es la probabilidad de aparición de complicaciones amenazantes de la enfermedad para la vida o para la integridad psicofísica de la persona y/o de reacciones adversas graves (muerte, hospitalización del paciente, prolongación de la hospitalización, discapacidad significativa o persistente, incapacidad o amenaza de muerte), cuando la concentración sanguínea del principio activo no se encuentra dentro del rango terapéutico.

Biodisponibilidad

Puede ser definida como la velocidad y cantidad con la cual el principio activo es absorbido desde la forma farmacéutica y se encuentra disponible en forma inalterada en la circulación sistémica.

Alternativas farmacéuticas

Dos productos farmacéuticos son alternativas farmacéuticas si contienen la misma cantidad molar de principio activo, pero difieren en la forma farmacéutica (por ejemplo comprimidos, cápsulas) o en la forma química (por ejemplo sal, éster). Las alternativas farmacéuticas proveen la misma cantidad de porción activa por la misma vía de administración, pero no son equivalentes farmacéuticos. Ellos pueden o no ser equivalentes terapéuticos.

Equivalentes farmacéuticos

Dos productos farmacéuticos son equivalentes farmacéuticos si contienen la misma cantidad de principio activo en la misma forma farmacéutica, están destinados a ser administrados por la misma vía y cumplen con los requisitos establecidos en las farmacopeas en cuanto a identidad, potencia, calidad y pureza y, si es aplicable, uniformidad de contenido y tiempo de desintegración y/o disolución. Sin embargo, la equivalencia farmacéutica no necesariamente implica equivalencia terapéutica ya que diferencias en los excipientes, en el proceso de elaboración, u otras pueden determinar disparidades en el comportamiento de los productos.

Productos bioequivalentes

Dos productos farmacéuticos son bioequivalentes si son equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas y sus biodisponibilidades (velocidad y magnitud de absorción), cuando se administran en la misma dosis molar, bajo condiciones experimentales similares, se encuentran dentro de límites predefinidos aceptables. Dichos límites se establecen para asegurar comportamientos comparables *in vivo* en términos de seguridad y eficacia.

Equivalentes terapéuticos

Dos productos son terapéuticamente equivalentes si ellos son equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas y después de la administración en la misma dosis molar, sus efectos, con respecto a eficacia y seguridad, serán esencialmente los mismos cuando sean administrados a pacientes por la misma vía de administración, bajo las condiciones especificadas en el prospecto.

Principios activos de estrecho rango terapéutico

Son aquellos que presentan las siguientes características:

- La relación entre la dosis letal media DL_{50} y la dosis efectiva media DE_{50} es menor de 2.
- La relación entre la mínima concentración tóxica y la mínima concentración efectiva es menor de 2.

c) Requieren una cuidadosa dosificación y monitoreo del paciente

Estudios de equivalencia

Son estudios que permiten inferir la equivalencia terapéutica entre el producto multifuente y el producto de referencia, empleando metodología *in vivo* o *in vitro*.

Producto innovador

Es aquél que fue autorizado por primera vez en su país de origen, sobre la base de documentación de calidad, seguridad y eficacia.

Producto de referencia

Es el producto innovador para el cual la seguridad, eficacia y calidad han sido establecidas. Cuando el producto innovador no se encuentre disponible localmente, o bien se encuentre disponible pero no haya demostrado su equivalencia terapéutica con el producto innovador registrado en el país de origen, el líder del mercado puede ser utilizado como producto de referencia cuando su eficacia, seguridad y calidad hayan sido establecidas y documentadas.

La autoridad sanitaria nacional determinará cual es el producto de referencia para cada caso.

Productos multifuente

Productos farmacéuticos de fuentes múltiples (diferentes productores) son equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas que pueden o no haber demostrado equivalencia terapéutica. Los productos farmacéuticos de fuentes múltiples, que hayan demostrado equivalencia *in vivo* o *in Vitro* según corresponda, se consideran terapéuticamente equivalentes al producto de referencia.

Sistema de clasificación biofarmacéutica (SCB)

Es un marco científico para clasificar principios activos sobre la base de su solubilidad acuosa y su permeabilidad intestinal. Cuando se cumplen determinados criterios de solubilidad, permeabilidad y velocidad de disolución del medicamento el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica, (aplicable sólo a la forma farmacéutica sólida oral de liberación inmediata), puede ser usado como una herramienta para justificar la demostración de equivalencia mediante estudios *in vitro* (bioexenciones).

Los estudios de equivalencia *in Vitro* son estudios de disolución para obtener la similaridad de los perfiles de disolución entre el producto multifuente y el producto de referencia en diferentes medios.

1050. FORMAS FARMACEUTICAS

En este capítulo se establecen las definiciones de las formas farmacéuticas y los principios generales para la elaboración de algunas de ellas.

Forma Farmacéutica: Es el producto proveniente de la transformación de un principio activo o de una asociación de los mismos mediante procedimientos fármacotécnicos, a fin de conferirles características físicas y morfológicas particulares para su adecuada dosificación y conservación, y que faciliten su administración y acción farmacológica.

AEROSOLES

Los aerosoles farmacéuticos son soluciones o dispersiones conteniendo principios activos que se envasan bajo presión y que se liberan con la activación de una válvula apropiada. Están destinados a la aplicación sobre la piel y la aplicación local en las vías aéreas superiores (aerosoles nasales), la cavidad oral (aerosoles bucales y sublinguales) o los pulmones (aerosoles para inhalación).

El término aerosol se aplica corrientemente a los productos presurizados que liberan su contenido en forma de una fina niebla, espumas o líquidos semi-sólidos.

En los *Aerosoles para inhalación*, el tamaño de partícula debe ser controlado cuidadosamente y su diámetro medio debe ser menor de 10 μm (ver 390. *Ensayos farmacotécnicos para aerosoles*).

Los productos que emplean válvula dosificadora se conocen como aerosoles dosificadores.

Un sistema de aerosol consta de: envase, propelente, concentrado que contiene el principio activo o principios activos, válvula y disparador. La naturaleza de estos componentes determina características tales como la distribución de tamaños de partícula, uniformidad de la dosis (para aquellos con válvulas dosificadoras), velocidad de descarga, densidad de la espuma o viscosidad del líquido.

Tipos de aerosoles - En general, los aerosoles están constituidos por sistemas de dos fases (gas y líquido) o tres fases (gas, líquido y sólido o líquido).

Los aerosoles de dos fases contienen una solución del o los principios activos en el propelente licuado que puede ir acompañado por cosolventes como alcohol, propilenglicol y polietilenglicoles, en equilibrio con el propelente vaporizado, mientras que los sistemas de tres fases contienen una suspensión o emulsión del los principios activos.

En las suspensiones el o los principios activos pueden dispersarse en el propelente con la ayuda de

excipientes apropiados, como agentes humectantes y/o soportes sólidos como talco o sílice coloidal.

Una espuma en aerosol es una emulsión que contiene uno o varios principios activos, agentes tensioactivos, líquidos acuosos o no acuosos y propelentes. Si el propelente está en la fase interna (es decir, una emulsión del tipo aceite en agua) se descarga una espuma estable y si el propelente está en la fase externa (es decir, una emulsión del tipo agua en aceite) se obtiene un líquido pulverizable o una espuma que pierde sus características rápidamente después de la descarga.

Propelentes - Su función principal es proporcionar la presión necesaria dentro del sistema para expulsar el contenido del envase, mientras que la fracción licuada es uno de los componentes de la fase líquida. Los propelentes empleados incluyen diversos hidrocarburos, especialmente derivados del metano, etano y propano e hidrocarburos de bajo peso molecular, como butanos y pentanos y gases comprimidos como dióxido de carbono, nitrógeno y óxido nitroso. Los mismos deben ser autorizados por la Autoridad Sanitaria. Con frecuencia se emplean mezclas de propelentes para obtener las características farmacotécnicas del aerosol.

Válvulas - Regulan el flujo del contenido que se libera. En la mayoría de los aerosoles se emplean válvulas que operan en forma continua. Sin embargo, los aerosoles para inhalación oral o nasal a menudo emplean válvulas dosificadoras, las que permiten liberar una dosis predeterminada con cada activación, la que debe estar dentro de las tolerancias especificadas en <390>. *Ensayos farmacotécnicos para aerosoles*.

Disparador - Adaptador adjuntado al vástago de la válvula que cuando se oprime o se mueve abre la válvula y permite dirigir el aerosol al área deseada.

Envases - Se emplean envases de vidrio, plástico o metal, o una combinación de estos materiales. Los envases de vidrio deben proporcionar seguridad y resistencia a la presión y los golpes. Se pueden emplear plásticos para recubrir los envases de vidrio y obtener mayor seguridad o en el caso envases de metálicos para mejorar la resistencia a la corrosión y la estabilidad de la formulación.

Elaboración - Los aerosoles son elaborados por dos métodos generales.

En el método de llenado en frío, el concentrado (enfriado a una temperatura por debajo de 0 °C) y el propelente refrigerado se introducen en envases abiertos (enfriados). La válvula y el disparador son luego engarzados sobre el envase para formar un sello de cierre perfecto. Durante el intervalo entre el agregado del propelente y el sellado del envase, el propelente se volatiliza lo suficiente como para desplazar el aire del envase.

En el método de llenado a presión, el concentrado se introduce en el envase, éste se cierra y el propelente se introduce bajo presión a través del orificio de la válvula. En este caso, deben tomarse medidas para evacuar el aire, aplicando vacío o desplazándolo con una cantidad apropiada de vapor del propelente.

Los controles durante el proceso de elaboración incluyen: control de la formulación, peso de llenado del propelente, control de las presiones y ensayo de pérdida en el aerosol terminado. Los aerosoles deben cumplir con las especificaciones indicadas en <390>. *Ensayos farmacotécnicos para aerosoles.*

Sustancias extraíbles - La composición y la calidad de los materiales empleados en la elaboración de los componentes de las válvulas (como por ej. vástago, juntas, etc.) deben seleccionarse con cuidado debido a que en la formulación de aerosoles se emplean solventes orgánicos como propelentes o vehículos que pueden extraer materiales de los componentes elastoméricos y plásticos a la formulación. Las sustancias extraíbles, entre las cuales se pueden incluir hidrocarburos aromáticos, nitrosaminas, aceleradores de vulcanización, antioxidantes, plastificantes, monómeros, etc., deben identificarse y minimizarse en lo posible.

CAPSULAS

Las cápsulas son formas farmacéuticas sólidas que contienen el principio activo solo o acompañado por excipientes dentro de una cubierta soluble rígida o blanda. Generalmente la gelatina es el componente principal de las paredes de las cápsulas. Los tamaños de las cápsulas se designan mediante escala numérica desde el N° 5, el más pequeño, al N° 000, que es el más grande:

Las cápsulas rígidas pueden contener colorantes como, óxidos de hierro, agentes opacantes como dióxido de titanio, dispersantes, agentes de endurecimiento como la sacarosa y conservantes. Contienen normalmente entre 10 y 15% de agua.

Las cápsulas rígidas se llenan con polvos o gránulos. Generalmente las formulaciones contienen excipientes, lubricantes y deslizantes para facilitar el llenado. También pueden agregarse desintegrantes, para facilitar la disgregación y dispersión

en el tracto digestivo. Cuando el principio activo es hidrofóbico pueden agregarse agentes humectantes.

La formulación, el método de llenado y el grado de compactación influyen en la velocidad de liberación de los principios activos.

Las cápsulas blandas, preparadas a partir de gelatina u otro material apropiado requieren métodos de producción en gran escala. Las paredes de las cápsulas blandas de gelatina son más gruesas que en las cápsulas rígidas y pueden ser plastificadas mediante el agregado de un polialcohol como sorbitol o glicerina. La relación entre plastificante anhidro y gelatina seca determina la plasticidad y dureza y permite adecuarlas a las condiciones ambientales o a la naturaleza del contenido. La composición de las cápsulas blandas puede incluir colorantes aprobados, agentes opacantes como dióxido de titanio, saborizantes y conservantes. Las cápsulas blandas contienen normalmente entre 6 y 13% de agua. En la mayoría de los casos, las cápsulas blandas se llenan con líquidos, aunque pueden llenarse con sólidos particulados empleando equipos apropiados. Los principios activos se pueden disolver o se suspenden en vehículos oleosos, como por ej., aceite vegetal, sin embargo, los vehículos no acuosos, miscibles con agua, como por ej., polietilenglicol de bajo peso molecular son más comúnmente empleados debido a que presentan menores problemas de biodisponibilidad.

Los sellos, son un tipo de cápsulas de almidón de poco uso en la actualidad. Su empleo está limitado a la preparación de ciertas fórmulas magistrales con polvos muy voluminosos. Sus tamaños se designan mediante escala numérica desde el N° 00, el más pequeño, al N° 2 que es el más grande.

Cápsulas con cubierta entérica - Las cápsulas o los gránulos encapsulados pueden recubrirse para resistir la liberación del principio activo en el fluido gástrico cuando es importante evitar problemas potenciales de inactivación del principio activo o la irritación de la mucosa gástrica. El término liberación retardada se emplea en las monografías para las cápsulas y los gránulos con cubierta entérica que están destinadas a retardar la liberación del principio activo hasta que la cápsula y gránulos encapsulados haya pasado a través del estómago.

Cápsulas de liberación prolongada - Se formulan de tal manera que la liberación del principio activo se produzca durante un período de tiempo prolongado después de su administración. Las expresiones como *acción prolongada*, *acción extendida* y *liberación sostenida* también se han empleado para describir tales formas farmacéuticas. Sin embargo, para los fines farmacopeicos y requisitos para la liberación de principios activos (ver 530.

Liberación de principios activos) se emplea el término *liberación prolongada*.

COMPRIMIDOS

Los comprimidos son formas farmacéuticas sólidas que contienen uno o más principios activos generalmente acompañados por excipientes apropiados y se administran por diferentes vías. Se preparan mediante la aplicación de altas presiones sobre polvos o granulados, empleando equipos mecánicos provistos de matrices y punzones apropiados.

En la formulación de comprimidos generalmente se emplean como excipientes diluyentes, aglutinantes, desintegrantes y lubricantes. También pueden estar presentes colorantes y saborizantes.

Elaboración - Se emplean tres métodos generales de elaboración: granulación húmeda, granulación seca y compresión directa.

Los comprimidos deben cumplir con las especificaciones descritas en <740>. *Uniformidad de unidades de dosificación*, <310>. *Ensayo de disgregación* y <320>. *Ensayo de disolución*.

Los comprimidos pueden recubrirse para proteger sus componentes de los efectos del aire, la humedad o la luz, enmascarar sabores u olores desagradables, mejorar la apariencia y controlar el sitio de liberación del principio activo en el tracto gastrointestinal.

Comprimidos con cubiertas simples - En algunos casos, los comprimidos se recubren con azúcar (grageas) que se aplica por medio de suspensiones acuosas. Los comprimidos recubiertos luego son pulidos mediante la aplicación de soluciones diluidas de cera en solventes como cloroformo o mezclas de polvos. Los revestimientos que constan de sustancias como goma laca o acetofalato de celulosa a menudo se aplican con solventes no acuosos antes de la aplicación de la cubierta azucarada.

Comprimidos, con cubierta entérica - Cuando el principio activo puede destruirse o inactivarse por el jugo gástrico o cuando puede irritar la mucosa gástrica, se indica el empleo de los revestimientos entéricos. Estos revestimientos están destinados a retardar la liberación del principio activo hasta que el comprimido haya pasado a través del estómago. En esta Farmacopea se emplea el término *liberación retardada* y las monografías correspondientes incluyen ensayos y especificaciones para la liberación del principio activo (ver 530. *Liberación de principios activos*).

Comprimidos de liberación prolongada - Se formulan de tal manera que la liberación del princi-

pio activo se produzca durante un período prolongado de tiempo después de la administración. Las expresiones como *liberación extendida*, *acción prolongada*, *acción repetida* y *liberación sostenida* también se emplean para describir tales formas farmacéuticas. Sin embargo, el término *liberación prolongada* se emplea para los fines farmacopeicos y los requisitos para la liberación de principios activos se especifican en las monografías correspondientes.

CREMAS

Son formas farmacéuticas semisólidas emulsionadas que contienen uno o varios principios activos y hasta un 80 % de agua. Este término se ha aplicado tradicionalmente a los semisólidos que poseen una consistencia relativamente fluida formulados ya sea como una emulsión agua en aceite o aceite en agua. Sin embargo, más recientemente el término ha estado restringido a los productos que consisten en emulsiones aceite en agua o dispersiones acuosas microcristalinas de ácidos grasos o alcoholes de cadena larga que son fácilmente lavables, cosmética y estéticamente más aceptables.

ELIXIRES

Ver *Soluciones*.

EMULSIONES

Son sistemas de al menos dos fases en los cuales un líquido se dispersa en otro líquido en la forma de glóbulos o gotitas pequeñas. Cuando el aceite es la fase dispersa y la fase continua es la acuosa, el sistema se designa como una emulsión aceite en agua. Por el contrario, cuando el agua o una solución acuosa es la fase dispersa y un aceite o material oleoso es la fase continua, el sistema se designa como una emulsión agua en aceite. Las emulsiones se estabilizan mediante agentes que impiden la coalescencia.

En las emulsiones aceite en agua, se agregan polímeros hidrofílicos naturales o sintéticos junto con los agentes tensioactivos. Estas sustancias se acumulan en la interfase y aumentan la viscosidad de la fase acuosa por lo cual disminuyen la velocidad de la formación de agregados.

Todas las emulsiones requieren un agente antimicrobiano porque la fase acuosa es favorable al crecimiento de los microorganismos.

EXTRACTOS

Son formas farmacéuticas líquidas, semisólidas y plásticas o sólidas y pulverulentas, obtenidas por agotamiento de drogas vegetales o animales con solventes apropiados, que luego se evaporan parcial

o totalmente, ajustando el residuo a tipos determinados para cada droga.

Por su consistencia se clasifican en *Extractos fluidos*; *Extractos firmes* o *pilulares* y *Extractos secos* o *pulverizados*.

Los extractos firmes y los secos de una misma droga, deberán contener la misma cantidad de principios activos.

La preparación de los extractos comprende dos operaciones principales: la obtención del líquido extractivo y su concentración. Ambas se practicarán según procedimientos que varían de acuerdo con las características de la droga.

Obtenido el extracto, que se realizará por percolación, maceración u otro procedimiento, se concentrará hasta la consistencia indicada en cada caso, evitando la acción prolongada del calor, así como una temperatura alta. En general deberá preferirse la destilación del disolvente con presión reducida, a temperatura inferior a 50 °C.

Todos los extractos que contengan principios activos enérgicos deberán ser valorados y ajustados a un tipo determinado para cada droga. Para ello deberán emplearse como diluentes sustancias inertes.

Si la droga contiene sustancias grasas solubles en el disolvente a emplear, es necesario adoptar algún procedimiento que permita eliminarlas, con lo cual se facilitarán las manipulaciones ulteriores y, a la vez, la conservación del extracto.

El rótulo deberá indicar: nomenclatura de la droga usada; si es un *extracto fluido, firme* o *seco*; el disolvente o disolventes empleados; si se empleó droga desecada o fresca; si se agregaron excipientes, estabilizantes o agentes antimicrobianos, cuáles y en qué proporción. Además se deberá especificar: el porcentaje de residuo seco; y el porcentaje de alcohol en el extracto final en los extractos fluidos.

GELES

Son sistemas semisólidos con un alto contenido acuoso o hidroalcohólico y baja o media viscosidad conferida por un agente gelificante. Cuando la masa del gel consta de una red de partículas discretas pequeñas, el gel se clasifica como un sistema de dos fases (como por ej., *Gel de hidróxido de aluminio*), mientras que, si el tamaño de partícula de la fase dispersa es relativamente grande, generalmente se denomina magma (como por ej., *Magma de bentonita*). Tanto geles como magmas suelen ser tixotrópicos, siendo semisólidos en reposo y tornándose líquidos al agitarlos. Deben ser agitados antes de su uso para asegurar la homogeneidad y deben rotularse a ese efecto. (Ver *Suspensiones*.)

Los geles que se visualizan como una sola fase generalmente contienen macromoléculas orgánicas

distribuidas uniformemente en todo el líquido de tal manera que no existe ningún límite evidente entre las macromoléculas dispersas y el líquido. Los geles de una sola fase pueden prepararse con macromoléculas sintéticas o con gomas naturales. Estos últimos también se llaman mucílagos.

IMPLANTES (PELLETS)

Son masas sólidas estériles pequeñas que contienen un principio activo altamente purificado (con o sin excipientes), preparados mediante compresión o moldeado. Están destinados para obtener una liberación continua del principio activo durante largos períodos de tiempo.

INYECTABLES

Son productos fluidos formulados para ser administrados a través de piel o mucosas. Estos productos se deben preparar mediante procedimientos que garanticen el cumplimiento de los requisitos establecidos por la Farmacopea para esterilidad, pirogénos, partículas extrañas, etc. y contienen, si fuera necesario, inhibidores para el crecimiento de microorganismos.

Denominación - Esta Farmacopea denominará los diferentes tipos de inyectables mediante el nombre de la sustancia oficial seguido de:

1. Solución inyectable - Preparaciones líquidas que son sistemas homogéneos.
2. Para inyección - Sólidos que al agregarles vehículos apropiados forman soluciones que cumplen con todos los requisitos generales aplicables a las soluciones inyectables.
3. Emulsión inyectable - Preparaciones líquidas que son emulsiones de fase externa acuosa u oleosa.
4. Suspensión inyectable - Preparaciones líquidas de sólidos suspendidos en medios líquidos apropiados. No deben emplearse para la administración intravenosa o intratecal.
5. Para suspensión inyectable - Sólidos que mediante el agregado de vehículos apropiados resultan en preparaciones que cumplen con todos los requisitos generales aplicables a las Suspensiones inyectables.

Los envases de las formulaciones inyectables deben llenarse con un volumen ligeramente en exceso del declarado en el rótulo (ver 210. *Determinación del contenido extraíble del envase*).

Inyectables de grandes y pequeños volúmenes - En esta Farmacopea, una formulación inyectable de gran volumen corresponde a un inyectable monodosis destinado a la administración intravenosa, envasado en recipientes que contengan un volumen mayor o igual a 100 ml (Solución para infusión). La

designación de formulación inyectable de pequeño volumen se refiere a un inyectable envasado en recipientes que contengan un volumen menor a 100 ml.

Vehículos acuosos - Los vehículos para inyectables deben satisfacer los requisitos de <340>. *Ensayo de piretógenos* o de <330>. *Ensayo de endotoxinas bacterianas*, según se especifique. El *Agua para Inyectables* se emplea generalmente como vehículo, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente. El cloruro de sodio u otro agente isotonzante pueden agregarse en cantidades suficientes para obtener una solución isotónica.

Otros vehículos - Los aceites fijos que se empleen como vehículos no acuosos para inyectables, deberán tener un índice de saponificación ente 185 y 200 (ver 480. *Grasas y aceites fijos*) y un índice de iodo entre 79 y 141 (ver 480. *Grasas y aceites fijos*).

Los mono o diglicéridos de ácidos grasos pueden emplearse como vehículos con tal que sean líquidos y permanezcan lípidos cuando se enfríen a 10 °C y tengan un *Índice de iodo* no mayor de 140 (ver 480. *Grasas y aceites fijos*).

Pueden emplearse éstos u otros vehículos no acuosos, siempre y cuando sean inocuos en la proporción y volumen que se administran y no interfieran con la eficacia terapéutica del preparado.

Sustancias auxiliares - Cuando sea necesario aumentar la estabilidad, pueden agregarse sustancias apropiadas a los preparados inyectables, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, siempre que sean inocuas en las cantidades administradas y no interfieran con la eficacia terapéutica o con los ensayos y valoraciones especificadas. No pueden agregarse sustancias colorantes sólo para dar color a la preparación final de una formulación inyectable (ver *Sustancias auxiliares* en *Consideraciones generales*).

Los inyectables de gran volumen no deben contener conservantes ni colorantes. Tampoco pueden contener estabilizantes a menos que se especifique lo contrario en la monografía correspondiente.

Debe tenerse especial cuidado en la selección y empleo de las sustancias auxiliares que se incorporan en preparados inyectables que se administren en volúmenes mayores de 5 ml y menores o iguales de 100 ml. A menos que se especifique de otro modo, deben considerarse las siguientes recomendaciones: 0,01 % para agentes que contengan mercurio y agentes tensioactivos catiónicos; 0,5 % para clorobutanol, cresol y fenol; 0,2 % para dióxido de azufre o

una cantidad equivalente de sulfito, bisulfito, metabisulfito de potasio o de sodio.

JARABES

Ver *Soluciones*.

LOCIONES

Ver *Soluciones, Suspensiones y Emulsiones*.

OVULOS

Son formas farmacéuticas sólidas o semirrígidas obtenidas por compresión o colado sobre moldes, para su aplicación en la vagina donde ejercen su acción. Son generalmente globulares u oviformes y pesan aproximadamente 5 g cada uno.

PASTAS

Son formas farmacéuticas semisólidas que contienen un alto porcentaje de sólidos y son destinadas para aplicación tópica. Puede prepararse a partir de un gel acuoso o a partir de excipientes grasos obteniéndose, en estos casos, ungüentos espesos que comúnmente no se ablandan a la temperatura corporal y en consecuencia sirven como capas protectoras sobre las áreas en las cuales se aplican.

PASTILLAS

Son preparados sólidos, destinados a disolverse o desintegrarse lentamente en la boca. Contienen uno o varios principios activos, generalmente en una base azucarada. Pueden ser preparados por moldeo o mediante compresión.

Están generalmente destinadas para el tratamiento de la irritación o las infecciones locales de la boca o la garganta pero pueden contener principios activos destinados a la absorción sistémica después de la ingestión.

PELLETS

Ver *Implantes*.

POLVOS

Son productos sólidos constituidos por una sustancia o mezcla homogénea de sustancias finamente divididos que pueden estar destinadas para uso interno (polvos orales) o externo (polvos tópicos). Debido a su mayor área específica, los polvos se dispersan y se disuelven más fácilmente que las formas farmacéuticas sólidas. Los polvos pueden estar destinados a ser reconstituidos por el farmacéutico o el paciente mediante el agregado de una cantidad específica de agua u otro vehículo al momento de dispensar o usar. Dado que estos productos reconstituidos generalmente tienen una estabilidad limitada, se requiere que se declare el período de vida útil (fecha de vencimiento) a partir de su

reconstitución y pueden requerir conservación en un refrigerador.

POMADAS

Son formas farmacéuticas para uso externo de consistencia semisólida que contienen hasta un 40 % de agua sobre una base grasa.

Cuando la pomada contiene cera en proporción de 25 %, como mínimo, se designa como cerato. Cuando la pomada contiene glicerina en proporción de 50 %, como mínimo, se designa como glicerolado.

PREPARACIONES OFTALMICAS

Los principios activos se administran en los ojos en una amplia variedad de formas farmacéuticas, algunas de las cuales requieren consideraciones especiales. Todas ellas deben ser estériles.

Soluciones oftálmicas - Son soluciones estériles, esencialmente libres de partículas extrañas, apropiadamente preparadas y envasadas para la instilación en el ojo.

Valor de isotonicidad - El líquido lagrimal es isotónico con la sangre, teniendo un valor de isotonicidad que corresponde al de una solución de cloruro de sodio al 0,9 %.

Algunas soluciones oftálmicas son necesariamente hipertónicas para mejorar la absorción o proporcionar suficiente concentración del principio activo para ejercer una acción efectiva. Dado que el volumen empleado de tales soluciones es pequeña, la dilución con el líquido lagrimal tiene lugar rápidamente y el malestar de la hipertonicidad es sólo temporal:

Regulación del pH - Frecuentemente, por razones de compatibilidad, estabilidad o eficacia, el pH de las soluciones oftálmicas es diferente al pH de las lágrimas. Las lágrimas normales tienen un pH de aproximadamente 7,4 y poseen cierta capacidad reguladora. La aplicación de una solución al ojo estimula la secreción lagrimal y la neutralización rápida de cualquier exceso de protones u hidroxilos. Es importante que las soluciones reguladoras de pH que se emplean interfieran lo menos posible con este proceso.

Conservación - Las soluciones oftálmicas pueden envasarse en envases multidosis no mayores a 15 ml cuando se destinan para el uso individual de un paciente y cuando las superficies oculares están intactas. Es obligatorio que los envases primarios para las soluciones oftálmicas estén sellados con un cierre inviolable para que la esterilidad esté asegurada al momento de emplearse por primera vez. Estas soluciones deben contener un conservante para impedir el crecimiento o destruir los microor-

ganismos que se introducen accidentalmente cuando el envase se abre durante el uso.

Cuando se destinan para uso en procedimientos quirúrgicos, las soluciones oftálmicas, aunque deben ser estériles, no deben contener conservantes, ya que pueden ser irritantes a los tejidos oculares.

Suspensiones oftálmicas - Son preparaciones líquidas estériles que contienen partículas sólidas dispersadas en un vehículo líquido destinadas para la aplicación sobre el ojo (ver *Suspensiones*). Es imperativo que tales suspensiones contengan el principio activo en forma micronizada para impedir la irritación y/o la excoiación de la córnea. Las suspensiones oftálmicas no deben presentar aglutinación o agregación.

Ungüentos oftálmicos - Se elaboran con ingredientes esterilizados bajo condiciones asépticas y cumplen con los requisitos de <370>. *Ensayos de esterilidad*.

Los ungüentos oftálmicos deben contener conservantes para impedir el crecimiento de los microorganismos que se introducen accidentalmente cuando el envase se abre durante el uso, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, o que la fórmula misma sea bacteriostática. El principio activo se agrega a la base del ungüento como una solución o como un polvo micronizado. El ungüento terminado debe estar exento de partículas grandes y debe cumplir con los requisitos de <660>. *Partículas metálicas en ungüentos oftálmicos*.

SISTEMAS DE LIBERACION

Son productos que permiten la liberación del principio con una velocidad predeterminada durante períodos de tiempo prolongados. Se han desarrollado sistemas de liberación para diferentes vías de administración, algunos de los cuales se describen a continuación.

Sistemas transdérmicos - Son formas farmacéuticas que, cuando se aplican sobre la piel sana, liberan el principio activo en la circulación sistémica a través de la piel. Los sistemas comprenden generalmente una cubierta exterior (barrera), un reservorio para el principio activo, que puede tener una membrana de control de velocidad, un adhesivo de contacto aplicado a alguna o todas las partes del sistema, la interfase sistema/piel y un envoltorio protector que se quita antes de aplicar el sistema.

La actividad de estos sistemas se define en función de la velocidad de liberación del principio activo del mismo. También puede declararse la duración total de la liberación del principio activo del sistema y su área superficial.

Los sistemas transdérmicos de liberación de principios activos funcionan mediante difusión: difunde desde el reservorio, directamente o a través de la membrana controladora de velocidad y/o el adhesivo de contacto si está presente y luego a través de la piel a la circulación general. Los sistemas de liberación modificada están diseñados para liberar el principio activo a una velocidad constante, para lograr una concentración sanguínea constante y apropiada que se mantenga hasta que el sistema sea retirado. En ese momento, la concentración sanguínea desciende a velocidad compatible con la farmacocinética del principio activo.

Sistema ocular - Está destinado para ser localizado en el fondo del saco conjuntival inferior del cual el principio activo difunde a través de una membrana a una velocidad constante.

Sistema intrauterino - Son sistemas basados en un principio similar a los descritos anteriormente pero diseñados para que la liberación del principio activo ocurra durante un período de tiempo más largo, por ej., 1 año.

Apósitos - Son materiales de distinta naturaleza que se aplican sobre piel o mucosa, sana o lesionada, con el objetivo de aislar, proteger, absorber y/o promover la curación de una lesión.

SOLUCIONES

Son preparados líquidos que contienen una o varias sustancias disueltas en un solvente o una mezcla apropiada de solventes miscibles entre sí. Ya que las moléculas en las soluciones se dispersan uniformemente, el empleo de soluciones como forma farmacéutica contempla en general la seguridad de dosificación uniforme con la administración y buena exactitud cuando se diluyen o se mezclan con otras soluciones.

Las formas farmacéuticas categorizadas como Soluciones se clasifican según la vía de administración, en *Soluciones orales* y *Soluciones tópicas* o por la naturaleza de las sustancias disueltas y los solventes, empleados, en *Tinturas*, *Aguas aromáticas*, *Alcoholados*, *Oleolados*, etc. Las soluciones destinadas para la administración parenteral son denominadas oficialmente *Soluciones inyectables*.

Soluciones orales - Las soluciones orales son preparados líquidos, destinados para la administración oral, que contienen uno o varios principios activos con o sin aromatizantes, endulzantes, o colorantes disueltos en agua o en mezclas de agua y cosolventes. Las soluciones orales pueden formularse para la administración oral directa al paciente o pueden dispensarse en una forma más concentrada que debe diluirse antes de la administración. Es

importante reconocer que la dilución con agua de las soluciones orales que contienen cosolventes como alcohol, podría conducir a la precipitación de algunos componentes. Los preparados dispensados como sólidos solubles o mezclas solubles de sólidos, con la intención de disolverlos en un solvente y administrarlos oralmente, se denominan *para solución oral*.

Las soluciones orales que contienen concentraciones altas de sacarosa u otros azúcares tradicionalmente se han denominado como *Jarabes*. Una solución de sacarosa en agua cercana al punto de saturación, se denomina *Jarabe* o *Jarabe simple*. Bajo la denominación de *Jarabe*, también se incluyen otras formas farmacéuticas líquidas preparadas en un vehículo dulce y viscoso, incluyendo suspensiones orales.

Además de la sacarosa y otros azúcares, ciertos polialcoholes como el sorbitol o la glicerina puede estar presente en las soluciones orales para inhibir la cristalización y modificar la solubilidad, el gusto, la palatabilidad y otras propiedades del vehículo. Generalmente contienen conservantes para impedir el crecimiento de bacterias, levaduras y mohos. Algunas soluciones orales sin azúcar contienen agentes endulzantes como sorbitol o edulcorantes sintéticos, así como agentes viscosantes.

Tales soluciones dulces viscosas, sin azúcares, son ocasionalmente preparadas como vehículos para la administración de los principios activos a los pacientes diabéticos.

Las Soluciones orales, que contienen alcohol como cosolvente, se han denominado tradicionalmente *Elixires*. Dado que las concentraciones altas de alcohol pueden producir un efecto farmacológico cuando son administradas oralmente, se emplean otros cosolventes, como glicerina y propilenglicol, para reducir al mínimo la cantidad de alcohol requerida.

Soluciones oftálmicas - Ver *Preparaciones oftálmicas*.

Soluciones tópicas - Son soluciones generalmente acuosas, que a menudo contienen otros solventes como alcohol y polialcoholes. Están destinadas para la aplicación tópica sobre la piel o sobre la superficie de las mucosas. El término *Loción* se aplica a soluciones, suspensiones o emulsiones aplicadas tópicamente.

Soluciones óticas - Destinadas para la instilación en el oído externo, son soluciones acuosas o soluciones que contienen glicerina u otros solventes y agentes de dispersión.

Solución nasal - Son soluciones acuosas de sustancias medicamentosas destinadas a ser introduci-

das en las fosas nasales en forma de gotas o pulverizaciones.

Solución para nebulizar - Son soluciones medicamentosas destinadas a llevar la medicación hasta las partes más profundas del tracto respiratorio. Se logra colocándola la solución en un nebulizador donde se produce atomización del líquido en partículas finas y uniformes suspendidas en un gas (aire u oxígeno).

Tinturas - Son soluciones alcohólicas o hidroalcohólicas preparadas a partir de drogas vegetales u otro origen. Las drogas heroicas o muy activas se prepararán en general, de manera que por cada 100 g de droga se obtengan 1.000 ml de tintura. La concentración se ajustará después de la valoración. Las tinturas de drogas no heroicas o poco activas se prepararán de manera tal que por cada 200 g de droga se obtengan 1.000 ml de tintura.

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, para la preparación de las tinturas oficiales se emplearán los siguientes métodos:

Procedimiento L (Lixiviación) - Mezclar extensivamente la droga molida con una cantidad suficiente de menstruo que permita una impregnación uniforme. Dejar en reposo durante 15 minutos, transferir a un percolador apropiado y empacar firmemente. Verter una cantidad suficiente de disolvente de manera que la droga, en su totalidad, quede cubierta por el mismo. Dejar macerando durante 24 horas o por el tiempo especificado en la monografía correspondiente, con el percolador tapado. Si no se indica ninguna valoración, dejar que la percolación proceda lentamente, o a la velocidad especificada en la monografía, agregando gradualmente el menstruo en cantidad suficiente para producir 1.000 ml de tintura y mezclar. Si es necesaria una valoración, recolectar los primeros 950 ml del percolado, mezclar y analizar una alícuota según se indique. Diluir el resto con tal cantidad de disolvente utilizado, hasta obtener una tintura que se ajuste a la norma y mezclar.

Procedimiento M (Maceración) - Mezclar la droga molida con 750 ml del menstruo a utilizar, en un recipiente cerrado y colocarlo a temperatura ambiente, agitando con frecuencia durante 3 días a menos que se especifique otra cosa en la monografía. Filtrar, prensar el residuo, lavar el recipiente y el residuo con pequeñas porciones del menstruo utilizado, combinando los filtrados para producir 1.000 ml de tintura y mezclar.

El rótulo deberá indicar: la nomenclatura, la proporción del material de partida en relación a la cantidad de tintura final y el contenido porcentual de etanol en v/v en la tintura final.

Infusión - Es una forma farmacéutica líquida, recientemente preparada, obtenida por la acción del agua caliente durante 20 minutos, sobre drogas vegetales poco activas, convenientemente divididas (molidas).

Transferir la droga a un recipiente apropiado de cierre perfecto, agregar agua destilada hirviendo en cantidad aproximadamente igual a la del preparado que se ha de obtener y tapar el recipiente. Luego de 20 minutos, colar o filtrar con expresión, según el caso, y lavar el residuo con cantidad suficiente de agua para completar el volumen requerido.

Si no se especifica de otro modo, las infusiones se preparan al 5 % p/v. Salvo indicación especial, todas las infusiones deben prepararse únicamente con las drogas correspondientes y no con extractos u otros productos.

Cocimiento o decocción - Es una forma farmacéutica líquida, recientemente preparada, obtenida por la acción del agua mantenida a ebullición durante 20 minutos, sobre drogas vegetales poco activas, convenientemente fragmentadas o molidas.

Colocar la droga en un recipiente adecuado, verter agua destilada en cantidad aproximadamente igual a la del preparado que se ha de obtener y tapar el recipiente imperfectamente. Calentar la mezcla hasta que el agua hierva y mantener durante 20 minutos a ebullición lenta. Enfriar, colar o filtrar con expresión, según el caso, y lavar el residuo con cantidad suficiente de agua para completar el volumen requerido.

Si no se especifica de otro modo, las decocciones se preparan al 5 % p/v. Salvo indicación especial, todos los cocimientos deben prepararse únicamente con las drogas correspondientes y no con extractos u otros productos.

SUPOSITORIOS

Son cuerpos sólidos de diversos tamaños y formas, adaptados para la introducción en el recto. Se deben ablandar o disolver a la temperatura corporal (ver 400. *Ensayos farmacotécnicos para supositorios*). Un supositorio puede actuar como un protector o paliativo local o como un vehículo de principios activos para producir una acción sistémica o local. Las bases de supositorio generalmente empleadas son manteca de cacao, gelatina glicerinada, aceites vegetales hidrogenados, mezclas de polietilenglicoles de diversos pesos moleculares y ésteres de ácidos grasos del polietilenglicol.

La base de supositorio tiene una influencia marcada en la liberación del principio activo.

Supositorios de manteca de cacao - Estos supositorios pueden elaborarse incorporando el principio activo finamente dividido en la base a tempe-

ratura ambiente y luego moldear apropiadamente la masa resultante o bien fundiendo la base para permitir que la suspensión resultante solidifique por enfriamiento en los moldes. Puede agregarse una cantidad apropiada de agentes de endurecimiento para contrarrestar la tendencia a ablandarse de los productos que contienen algunos principios activos, como por ej., el hidrato de cloral.

Los supositorios para adultos se estrechan en uno o ambos extremos y pesan aproximadamente 2 g cada uno. Los supositorios preparados con otras bases varían en el peso y son en general más pesados.

Los supositorios con manteca de cacao como base requieren conservación en envases bien cerrados, a una temperatura menor de 30 °C (temperatura ambiente controlada).

Sustitutos de la manteca de cacao - Las bases para supositorios de tipo grasa pueden obtenerse a partir de una variedad de aceites vegetales, como el de coco o de palma, que son modificados mediante esterificación, hidrogenación y fraccionamiento para obtener productos de composición y temperatura de fusión variables. Estas bases permiten lograr las características deseadas como intervalos estrechos entre la temperatura de fusión y de solidificación e intervalos de fusión que se adecuen a diversas condiciones climáticas y de la formulación.

Supositorios de gelatina glicerinada - Los principios activos pueden incorporarse en bases de gelatina glicerinada mediante el agregado de las cantidades indicadas a un vehículo que consiste en glicerina, gelatina y agua (70:20:10).

Los supositorios de gelatina glicerinada requieren conservación en envases de cierre perfecto, a una temperatura menor de 35 °C.

Supositorios de polietilenglicol - Varias combinaciones de polietilenglicol con temperaturas de fusión mayor que la temperatura corporal se emplean como bases de supositorios. Dado que la liberación a partir de estas bases depende de la disolución en lugar de la fusión, existen significativamente menos problemas en la preparación y conservación que los que existen con vehículos que actúan por fusión. Sin embargo, altas concentraciones de polietilenglicoles de peso molecular mayor pueden extender el tiempo de disolución, dando lugar a problemas de retención. Los rótulos en los supositorios de polietilenglicol, deben contener instrucciones que indiquen que se deben humedecer con agua antes de usar. Aunque pueden almacenarse sin refrigeración, deben mantenerse en envases herméticamente cerrados.

Bases de supositorio con agentes tensioactivos

- Varios agentes tensioactivos no iónicos relacionados químicamente con los polietilenglicoles se emplean como vehículos de supositorios. Estos agentes tensioactivos se emplean solos o en combinación con otros vehículos para producir la consistencia y temperaturas de fusión apropiadas. Una de las ventajas principales de tales vehículos es que se dispersan con facilidad en contacto con el agua. Sin embargo, debe tenerse cuidado con el empleo de agentes tensioactivos, porque puede aumentar la velocidad de absorción del principio activo, o interactuar con moléculas del principio activo, causando una disminución en la actividad terapéutica.

SUSPENSIONES

Son preparados líquidos constituidos por partículas sólidas dispersadas en una fase líquida en la cual las partículas no son solubles. Estos productos se diseñan para administrarse por diferentes vías como *Suspensiones orales*, *Suspensiones inyectables*, *Suspensiones tópicas*; etc. Algunas suspensiones están preparadas y listas para su uso, mientras que otras se presentan como mezclas de polvos para reconstituirse antes de su uso, con el vehículo que corresponda. Tales productos se denominan *para suspensión oral*, etc. El término *Leche* a veces se emplea para las suspensiones en vehículos acuosos destinadas para la administración oral. El término *Magma*, a menudo se emplea para describir las suspensiones de sólidos inorgánicos hidrofílicos como las arcillas, que originan sistemas con un comportamiento reológico similar a los geles. El término *Loción* se emplea para categorizar muchas suspensiones y emulsiones tópicas destinadas para la aplicación sobre la piel. Algunas suspensiones son preparadas en forma estéril y se emplean como inyectables o para la administración oftálmica.

Por su misma naturaleza, los sólidos en una suspensión puede sedimentar en el fondo del envase. Tal sedimentación también puede conducir a la aglutinación y la solidificación del sedimento con la resultante dificultad para la redispersión de la suspensión por agitación. Para impedir tales problemas, se emplean una variedad de sustancias auxiliares tales como agentes tensioactivos, agentes viscosantes de diferentes tipos (polímeros hidrofílicos, arcillas), agentes floculantes, modificadores de la densidad, etc. Es importante que las suspensiones siempre se agiten antes de ser empleadas para asegurar la distribución uniforme del sólido en el vehículo y de ese modo asegurar la dosificación uniforme y apropiada. Las suspensiones requieren conservación en envases de cierre perfecto.

Suspensiones orales - Son preparados líquidos que contienen partículas sólidas dispersadas en un vehículo líquido, con agentes saborizantes apropiados, destinados para la administración oral. Algunas suspensiones rotuladas como *Leches* o *Magmas* pertenecen a esta categoría.

Suspensiones tópicas - Son preparaciones líquidas que contienen partículas sólidas dispersas en un vehículo líquido, destinadas para la aplicación sobre la piel. Algunas suspensiones rotuladas como *Lociones* pertenecen a esta categoría.

Suspensiones óticas - Son preparaciones líquidas que contienen partículas micronizadas destinadas para la instilación en el oído externo.

Suspensiones oftálmicas - Ver *Preparaciones oftálmicas*.

Suspensiones inyectables - Ver *Inyectables*.

Suspensión rectal - Son sistemas bifásicos de partículas sólidas mayor a 0,1 μm dispersas en un vehículo líquido de aplicación rectal. Enemas suspensión.

TISANAS

Consiste en una o más drogas vegetales enteras, fragmentadas o molidas, destinadas a preparaciones acuosas por medio de decocción, infusión o maceración. La preparación se realiza inmediatamente antes de sus uso.

Las tisanas generalmente se suministran a granel o en bolsitas. Conservar en envases inactivos, bien cerrados.

Las tisanas deberán cumplir con los requerimientos indicados en <630> *Métodos de Farma-*

cognosia. Las tisanas suministradas en bolsitas deberán satisfacer el siguiente ensayo:

Uniformidad de masa: determinar el peso de veinte unidades elegidas al azar, según se indica a continuación. Pesar una bolsita llena de tisana vegetal, abrirla cuidadosamente, vaciarla completamente utilizando pincel. Pesar la bolsita vacía y calcular el contenido por diferencia de peso. A menos que se indique lo contrario, no más de dos de las veinte masas individuales de los contenidos se deben desviar de la masa media por encima del porcentaje de desviación indicado en la siguiente tabla y en ningún caso la desviación puede ser mayor de dos veces dicho porcentaje.

<i>Masa media (g)</i>	<i>% de desviación</i>
menor a 1,5	15
entre 1,5 y 2,0	10
mayor de 2,0	7,5

UNGÜENTOS

Son preparaciones semisólidas destinadas para la aplicación externa sobre la piel o mucosas y que emplean como vehículo grasas y/o resinas.

Existen diversos tipos de bases para ungüentos. La elección de la base depende de muchos factores, como la acción deseada, la naturaleza del principio activo a incorporar, su biodisponibilidad, la estabilidad y el período máximo de vida útil requerido para el producto terminado. Los principios activos que se hidrolizan rápidamente, son más estables en bases constituidas por hidrocarburos que en bases que contengan agua, aunque pueden ser más efectivas en estas últimas.

1095. POLIMORFISMO

Consideraciones generales

Se entiende por *Polimorfismo* a la capacidad de un compuesto en estado sólido de existir en dos o más formas cristalinas que tienen la misma composición química. Las sustancias que existen en estado sólido no-cristalino, son llamadas *amorfos*.

Cuando este fenómeno es observado para un elemento químico (por ejemplo azufre), corresponde usar el término *alotropía* en lugar de polimorfismo.

El término *pseudopolimorfismo* se suele utilizar para describir solvatos (incluyendo hidratos) cuando un solvente se halla presente en la matriz cristalina en proporciones estequiométricas; el ámbito puede también extenderse incluyendo compuestos en los cuales el solvente esté atrapado en la matriz en proporciones variables. Dado que el término *pseudopolimorfismo* es ambiguo debido a su uso en diferentes circunstancias, además de las precedentemente mencionadas, es preferible usar los vocablos “solvatos” e “hidratos”.

Cuando se indique que la sustancia *Presenta polimorfismo*, convencionalmente se involucra a cualquiera de las siguientes posibilidades: polimorfismo cristalino, solvatos, hidratos, formas amorfas o alotropía.

Aspectos Termodinámicos

Cuando un compuesto exhibe polimorfismo, la forma termodinámicamente más estable a una determinada temperatura y presión es la que presenta menor energía libre. Las otras formas son estados metaestables. A temperatura y presión normales, una forma metaestable puede permanecer inalterada o transformarse en otra termodinámicamente más estable. Este proceso puede ser lento o veloz, en función de la cinética del mismo.

La relación de transformación entre un par de polimorfos de una sustancia en un determinado intervalo de temperatura puede ser *enantiotrópica* o *monotrópica*:

- a) Es *enantiotrópica* cuando puede dividirse dicho intervalo de temperatura en dos zonas consecutivas, separadas por la temperatura de transición, siendo una de las formas polimórficas estable y la otra metaestable en la primera zona, mientras que en la segunda zona esa relación de estabilidad se invierte (las formas estable y metaestable en la

primera zona son respectivamente metaestable y estable en la segunda). En este caso, como se ha mencionado, existe una temperatura de transición entre ambas formas y la transformación es reversible. Cuando la transformación de una forma en otra tiene lugar a través de calentamiento, la transformación inversa se produce en principio por enfriamiento.

- b) Es *monotrópica* cuando en la totalidad del intervalo de temperatura en estudio, es estable solamente una de las dos formas. En este caso no existe temperatura de transición entre ambas y la transformación de la forma metaestable en la estable es irreversible.

Los diagramas de presión en función de la temperatura y de energía en función de la temperatura son herramientas valiosas para la total comprensión tanto de la relación energética (enantiotropismo, monotropismo), como de la estabilidad termodinámica de las modificaciones individuales de un compuesto polimórfico.

Obtención

Es posible obtener diferentes formas cristalinas o solvatos variando las condiciones de cristalización (temperatura, presión, solvente, concentración, velocidad de cristalización, sembrado del medio de cristalización, presencia y concentración de impurezas, etc.).

Propiedades

Para una misma sustancia, las distintas formas cristalinas y amorfas tienen el mismo comportamiento químico y físico cuando las moléculas están disueltas o cuando están fundidas, mientras que sus propiedades físico-químicas y sus características físicas en el estado sólido pueden ser ligera o ampliamente diferentes de acuerdo a la forma bajo la cual se presenten.

Las diferencias pueden encontrarse entre las siguientes propiedades:

- Forma y color de los cristales
- Propiedades térmicas (punto de fusión, calor de fusión, características de sublimación, entalpías de transición, calor específico, calores de reacción al estado sólido)
- Índice de refracción
- Diagramas de fase

- Densidad
- Dureza
- Resistencia mecánica
- Conductividad electrolítica
- Dilatabilidad
- Propiedades superficiales (tensión superficial, adsorbibilidad, humectabilidad, cargas eléctricas superficiales, etc.)
- Solubilidad aparente*
- Reactividad química al estado sólido
- Estabilidad a los estímulos mecánicos (humedad, radiación, calor, etc.)
- Estabilidad
- Características inherentes al polvo y/o granulado (densidad, reología, compactación, etc.)
- Características inherentes a las formas farmacéuticas (dureza, plasticidad, porosidad, craqueabilidad, elasticidad, etc.)

(*Solubilidad aparente: concentración del material en equilibrio aparente (sobresaturación). La “solubilidad aparente” se diferencia de la definición termodinámica de “solubilidad”, que es alcanzada a un tiempo infinito de equilibrio)

Esta diversidad de propiedades puede tener influencia en cualesquiera de los siguientes procedimientos:

Materias Primas:

- Diseño de proceso de síntesis;
- Elección de análisis cristalográficos adecuados;
- Estabilidad (condiciones de almacenamiento, vencimiento, envasado y otros).

Productos Terminados:

- Formulación;
- Diseño del proceso de fabricación;
- Adecuación de los análisis
- Estabilidad (condiciones de almacenamiento, vencimiento, envasado y otros).

Análisis

Las técnicas utilizadas para el análisis de polimorfismo son:

- Difracción de Rayos X (polvo y monocristal)
- *Análisis Térmico* <20> (Calorimetría Diferencial de Barrido, Termogravimetría, Termomicroscopía)
- Microcalorimetría
- Análisis de humedad de absorción
- *Determinación de punto de fusión* <260>
- Microscopía óptica y electrónica
- Resonancia Nuclear Magnética de estado sólido
- *Espectrofotometría de Absorción Infrarroja* <460>
- Espectrometría Raman
- Medición de solubilidad y velocidad intrínseca de disolución
- Medición de densidad

Estas técnicas son a menudo complementarias y es indispensable usar varias de ellas para una tipificación.

Para hidratos y solvatos, son recomendables las técnicas de Calorimetría Diferencial de Barrido, Termomicroscopía y Termogravimetría, combinadas con mediciones de Solubilidad, Velocidad de Disolución Intrínseca y Difracción de Rayos X.

1125. SUSTRATOS CELULARES PARA LA PRODUCCIÓN DE VACUNAS DE USO HUMANO

El presente texto establece los requisitos generales para líneas celulares diploides y líneas celulares continuas usadas en la producción de vacunas.

Línea celular diploide

Una línea celular diploide debe tener una alta pero finita capacidad de multiplicación *in vitro*.

Línea celular continua

Una línea celular continua debe tener la capacidad de multiplicarse indefinidamente *in vitro*, las células a menudo presentan diferencias en el cariotipo respecto a las células originales. Para vacunas inyectables producidas en líneas celulares continuas, debe validarse el proceso de purificación para demostrarse la remoción del DNA del sustrato celular a un nivel equivalente de 10 ng por dosis humana.

Sistema de banco de células

La producción de vacunas en líneas celulares diploides y en líneas celulares continuas se basa en el sistema de banco de células. La edad *in Vitro* de las células debe contarse a partir del banco maestro de células. Debe documentarse el uso, identidad y control de inventario de cada envase del banco maestro de células.

Medios de cultivo y sustancias de origen animal

Debe registrarse detalladamente la composición de los medios usados para el aislamiento y cultivo de células. En caso de utilizar sustancias de origen animal, las mismas deben ser libres de agentes extraños. Si se utiliza albúmina humana debe cumplir los requisitos de *Solución de Albúmina Humana*. El suero bovino usado para la preparación y mantenimiento de cultivos celulares debe ser estéril y libre de virus bovinos. La tripsina usada en la preparación de cultivos celulares debe ser estéril y libre de micoplasmas y virus.

Semilla celular

Los datos necesarios para evaluar la adecuabilidad de la semilla celular comprenden fuente, historia y caracterización de la misma.

Fuente de la semilla celular - Para líneas celulares de origen humano debe registrarse la siguiente información sobre el donante: origen geográfico y étnico, edad, sexo, condición fisiológica general, tejido u órgano usado, resultado de todos los ensayos para patógenos. Para líneas celulares de origen animal debe registrarse la siguiente información sobre la fuente de células:

especie, cepa, origen geográfico, edad, sexo, condición fisiológica general, tejido u órgano usado, resultado de todos los ensayos para patógenos. No pueden utilizarse para la producción de vacunas células de origen neural ya que las mismas pueden contener agentes transmisores de encefalopatías espongiiformes.

Historia de la semilla celular - Debe registrarse el método usado para aislar la semilla, métodos de cultivo y otros procedimientos usados para establecer el banco maestro de células.

Caracterización de la semilla celular -

- identidad de las células (por ejemplo mediante estudio de isoenzimas, serología o estudio de ADN)
- características de crecimiento y propiedades morfológicas
- cariotipo para líneas celulares diploides
- velocidad de duplicación para líneas celulares diploides.

Estabilidad del sustrato celular

Debe demostrarse la adecuada viabilidad de la línea celular en las condiciones de almacenamiento establecidas.

Agentes infecciosos extraños

Las líneas celulares usadas en la producción de vacunas deben estar libres de agentes infecciosos extraños. Dependiendo del origen y la historia del cultivo puede ser necesario llevar a cabo ensayos para contaminantes potenciales específicos., particularmente aquellos que pueden estar presentes en la especie de origen.

Tumorigenicidad

Las líneas celulares usadas para la producción de vacunas vivas no deben ser tumorigénicas. Cuando se utilice una línea celular tumorigénica para la producción de otros tipos de vacuna, debe validarse el proceso de purificación para demostrar que el DNA residual del sustrato celular se reduce a menos de 10 ng por dosis.

Caracterización cromosómica

Para el caso que no se haya validado la remoción de células intactas durante el procesamiento posterior a la cosecha se debe llevar a cabo la caracterización de la línea celular diploide mediante análisis del cariotipo.

ENSAYOS

Identificación

Analizar el patrón de ácidos nucleicos y una selección cuidadosa de los siguientes ensayos:

- características bioquímicas (análisis de isoenzimas)
- características inmunológicas (antígenos de histocompatibilidad)
- marcadores citogenéticas.

Células contaminantes

El análisis del patrón de ácidos nucleicos llevado a cabo para la identificación también puede servir para demostrar la ausencia de células contaminantes.

Contaminación bacteriana y fúngica

El banco maestro de células y cada banco de trabajo de células deben cumplir con los requisitos de 370. *Ensayos de esterilidad* usando para cada medio 10 ml del sobrenadante fluido de los cultivos celulares. Realizar el ensayo sobre el 1 % de los envases con un mínimo de dos envases.

Micoplasmas

El banco maestro de células y cada banco de trabajo de células deben cumplir con los requisitos de 336. *Ensayo de Micoplasmas*.

Agentes extraños en cultivos celulares

Las células deben cumplir con los requisitos de *Virus hemadsorbentes* y *Agentes extraños en cultivos celulares en Cultivo celular de producción* en 415. *Ensayos para agentes extraños en vacunas virales de uso humano*.

Co-cultivo

Co-cultivar las células con otros sistemas celulares, incluyendo células humanas y células de simio. Examinar para detectar posibles cambios morfológicos y realizar los ensayos para determinar virus hemaglutinantes. Las células deben cumplir con los requisitos si no se encuentra evidencia de presencia de agentes extraños.

Retrovirus

Investigar la presencia de retrovirus usando ensayos de infectividad y microscopía electrónica. En caso de que ambos ensayos den resultados negativos, llevar a cabo la investigación de transcriptasa reversa (en presencia de magnesio y manganeso) sobre el pellet obtenido por centrifugación a alta velocidad.

Ensayos en animales

Inyectar por vía intramuscular (en el caso de ratones lactantes, por vía subcutánea profunda), al menos 10^7 células viables a cada uno de los siguientes grupos de animales repartidas por igual entre los animales de cada grupo:

- (a) dos camadas de ratones lactantes de menos de 24 h de edad, incluyendo al menos 10,
- (b) 10 ratones adultos,

Inyectar por vía intracerebral 10^6 células viables en cada uno de diez ratones adultos para detectar la presencia posible de virus de la coriomeningitis linfocítica. Observar los animales durante al menos 4 semanas. Estudiar los animales que enferman o manifiestan cualquier anomalía para establecer la causa de estos trastornos. Las células cumplen con los requisitos si no se encuentran indicios de la presencia de cualquier agente extraño. El ensayo sólo es válido si al menos el 80 por ciento de los animales de cada grupo permanece sano y sobrevive durante todo el período de observación.

Ensayos en huevos

Inyectar al menos 10^6 células viables en la cavidad alantoica de cada uno de diez huevos embrionados de gallina LPE de 9 a 11 días y en la yema de cada uno de diez huevos embrionados de gallina LPE de 5 a 6 días. Incubar durante no menos de 5 días. Analizar los fluidos alantoicos en busca de la presencia de hemaglutininas utilizando eritrocitos de ave, realizar el ensayo a 5 ± 3 °C y a una temperatura comprendida entre 20 y 25 °C y leer los resultados después de 30 y 60 minutos. Las células cumplen el ensayo si no se encuentran indicios de la presencia de cualquier agente extraño. El ensayo sólo es válido si al menos un 80 por ciento de los embriones permanecen sanos y sobreviven durante todo el período de observación.

Ensayo para tumorigenicidad *in vitro*

Realizar alguno de los sistemas de ensayos siguientes:

- Formación de colonias en gel de agar blando
- Producción de crecimiento celular invasivo luego de la inoculación en órganos
- Estudio de la actividad de transformación usando, por ejemplo, el sistema de ensayo 3T3 para oncogenes activos.

REACTIVOS Y SOLUCIONES

REACTIVOS Y SOLUCIONES

Consideraciones generales

En esta sección se describen los reactivos y las soluciones necesarias para realizar los ensayos y valoraciones de la Farmacopea.

Cuando tales especificaciones no existan y siempre que se indique emplear un grado analítico apropiado, se empleará un reactivo de calidad apropiada disponible comercialmente, preferiblemente que cumpla con normas de calidad reconocidas internacionalmente. Ocasionalmente, uno o varios ensayos adicionales, indicados en el texto, restringen la designación de grado apropiado. En el caso de aquellos reactivos que no son enumerados en esta sección, se pueden obtener especificaciones apropiadas en obras de referencia.

Cuando el nombre de un reactivo especificado en un ensayo o valoración es el mismo que el título de una monografía, y no aparece en las siguientes *Especificaciones de reactivos*, se empleará una sustancia que cumpla los requisitos de la monografía correspondiente.

Los reactivos y soluciones deben conservarse en envases de cierre perfecto, de vidrio resistente u otro material apropiado. Se deben observar cuidadosamente las instrucciones para el almacenamiento en envases inactivos.

La espectrofotometría de absorción y emisión atómica requieren el empleo de varias soluciones estándar de iones metálicos. Mientras las monografías correspondientes proporcionan generalmente instrucciones para la preparación de estas soluciones, se permite el empleo de soluciones estandarizadas de iones preparadas comercialmente, siempre que el analista confirme la aptitud de las soluciones y posea datos que avalen su uso.

Definiciones

REACTIVOS - Son sustancias empleadas como tales o como elementos constitutivos de soluciones y se emplean para la realización de los ensayos y valoraciones del Compendio.

INDICADORES - Son reactivos empleados para determinar el punto final en una reacción química, para medir la concentración de ion hidrógeno (pH) o para indicar un cambio de pH. Se enumeran junto con los indicadores y los papeles.

SOLUCIONES REGULADORAS - Son soluciones reguladoras del pH.

SOLUCIONES COLORIMÉTRICAS - Son soluciones empleadas en la preparación de estándar colorimétricos para comparación. Se abrevian (SC).

SOLUCIONES DE REACTIVOS - Son soluciones de reactivos en solventes y concentraciones definidas, apropiadas para los fines especificados. Se abrevian (SR).

SOLUCIONES VOLUMÉTRICAS - Son soluciones de reactivos de concentración conocida empleadas principalmente en determinaciones volumétricas. Las concentraciones se expresan generalmente en función de la normalidad. Se abrevian (SV).

SOLUCIONES para ENSAYOS LIMITE - Son soluciones de reactivos en solventes con concentraciones definidas empleadas para ensayos límites y apropiadas para los fines especificados. Se abrevian (SL).

AGUA - Como en el resto de la Farmacopea, cuando se menciona *Agua* sin otra calificación, se debe emplear *Agua purificada*. El *Agua libre de dióxido de carbono* es agua purificada calentada a ebullición durante 5 minutos o más y enfriada, protegiéndola de la absorción de dióxido de carbono de la atmósfera.

El *Agua desaireada* empleada para otros propósitos que no sean el ensayo de disolución o de liberación de principios activos, es agua purificada que ha sido tratada de manera de reducir el contenido de aire disuelto por métodos apropiados, por ej., ebullición vigorosa durante 5 minutos y enfriando o aplicando ultrasonido.

SOLVENTES CROMATOGRÁFICOS y GASES TRANSPORTADORES - Los procedimientos cromatográficos establecidos en este Compendio pueden requerir el empleo de solventes y gases especialmente purificados para tal uso. Cuando en un procedimiento cromatográfico se emplean solventes y gases, es responsabilidad del analista asegurar la aptitud del solvente o del gas para un uso específico. Las especificaciones de los solventes y gases que aparecen aquí, se refieren a usos analíticos generales y no para uso cromatográfico, en este caso pueden ser necesarios productos especialmente purificados.

REACTIVOS

En las siguientes especificaciones se aplican estas definiciones. Un *blanco* consta de cantidades iguales de los mismos reactivos, tratados de la misma manera que la muestra. Un *control* es un blanco al cual se le ha agregado la cantidad límite de la sustancia a ensayar o es una solución de comparación preparada según se indica en los ensayos específicos.

Las comparaciones de color y turbidez se deben hacer en tubos de comparación de color que se correspondan lo más estrechamente posible en diámetro interno y en cualquier otro aspecto, según se indica en *Consideraciones generales* de este Compendio. Tales tubos se denominan frecuentemente tubos de Nessler.

Al hacer comparaciones visuales de la densidad de líquidos turbios, compensar las diferencias de color, si fuera necesario, observando la turbidez a través de una columna de agua, cuya profundidad se determina mediante el volumen determinado en la especificación del reactivo. Colocar el agua en tubos de comparación de color y sostener uno de los tubos encima del tubo control y el otro debajo del tubo que contiene la muestra.

Cuando aparece una expresión, como por ej., retener el filtrado se entenderá, a menos que se indique de otro modo, que los lavados del residuo no se agregarán al filtrado obtenido.

ENSAYOS GENERALES PARA REACTIVOS

Los siguientes ensayos se emplean para analizar los reactivos y así determinar el cumplimiento de las especificaciones de los reactivos individuales y deben emplearse a menos que se indique de otro modo en tales especificaciones.

INTERVALO DE EBULLICIÓN O DE DESTILACIÓN PARA REACTIVOS

Emplear el siguiente procedimiento para determinar el intervalo de ebullición o de destilación de reactivos, a menos que se indique de otro modo en las especificaciones individuales:

Aparato - Emplear un aparato similar al especificado en <240>. *Determinación del intervalo de destilación. Método I*, excepto que el matraz de destilación debe tener una capacidad de 250 ml, un cuello corto y estar conectado al condensador a través de un cabezal de destilación con juntas esmeriladas.

Procedimiento - Colocar el matraz de destilación en posición vertical en la perforación de la junta de asbesto y conectarlo al condensador.

Medir 100 ml del líquido que se va a ensayar en una probeta y transferirlo al matraz de ebullición junto con algunos trozos de material poroso. Recolectar el destilado en la probeta. Insertar el termómetro y calentar para destilar a una velocidad de 3 a 5 ml por minuto. Hacer un ensayo preliminar, si fuera necesario, para determinar la velocidad de calentamiento apropiada.

Leer el termómetro cuando hayan destilado aproximadamente 20 gotas y posteriormente a volúmenes de destilado de 5, 10, 40, 50, 60, 90 y

95 ml. Continuar la destilación hasta que se alcance el punto seco.

El *Intervalo de ebullición o destilación* es el intervalo entre las temperaturas a las que destilan 1 ml y 95 ml, respectivamente.

ARSÉNICO EN REACTIVOS

Para este ensayo, seleccionar reactivos que posean un contenido bajo de arsénico, de manera que un blanco no de lugar a manchas o produzca una apenas perceptible.

Aparato - Preparar un generador colocando un tapón de goma perforado en una botella de boca ancha de aproximadamente 60 ml de capacidad. Insertar a través de la perforación un tubo de salida vertical con una longitud total de aproximadamente 12 cm y 1 cm de diámetro a lo largo de la parte superior total (para aproximadamente 8 cm) y con un angostamiento en su extremidad inferior, formando un tubo de aproximadamente 4 cm de longitud y aproximadamente 5 mm de diámetro. La porción más pequeña del tubo debe extenderse levemente por debajo del tapón. Colocar arena lavada o una torunda de algodón purificado en la parte superior a aproximadamente 3 cm de la parte superior del tubo. Humedecer la arena o algodón uniformemente con acetato de plomo (SR) y extraer cualquier exceso de este último de las paredes del tubo. En el extremo superior de este tubo adosar un segundo tubo de vidrio de 12 cm de longitud, con un diámetro interno de 2,5 a 3 mm, por medio de un tapón de goma. Inmediatamente antes de realizar el ensayo, colocar en este tubo una tira de papel de bromuro mercuríco (ver *Indicadores y Papeles*), engarzado con el extremo superior de la tira de manera que permanezca, aproximadamente, a 2 cm por encima del tapón de goma. Limpiar y secar el tubo cada vez que se emplee.

Solución estándar de arsénico - Emplear la *Preparación estándar* preparada según se indica en <540>. *Límite de arsénico*.

Solución muestra - Agregar 1 ml de ácido sulfúrico a 5 ml de una solución de la sustancia a ensayar (1 en 25) a menos que se indique otra cantidad. Omitir el agregado en el caso de ácidos inorgánicos. A menos que se indique de otro modo, agregar 10 ml de ácido sulfuroso. Evaporar el líquido en un vaso de precipitados, en un baño de vapor, hasta que esté exento de ácido sulfuroso y se haya reducido el volumen a aproximadamente 2 ml.

Diluir con agua a 5 ml para obtener la *Solución muestra*. Las sustancias sometidas a tratamientos especiales, según se indica en las especificaciones individuales del reactivo, pueden emplearse directamente como *Solución muestra*.

Mancha estándar - Transferir al generador 5 ml de ioduro de potasio (SR), 2,0 ml de *Solución estándar de arsénico*, 5 ml de cloruro de estaño (SR) y 28 ml de agua. Agregar 1,5 g de cinc granulado (en polvo) e insertar de inmediato el tapón que contiene el tubo de salida. Durante el periodo de ensayo, mantener el generador inmerso en agua a 25 °C para moderar la reacción de tal manera que la mancha tome la forma de una banda distintiva para facilitar la comparación de intensidad de color. Una vez que la evolución de hidrógeno haya continuado durante 1 hora, retirar el papel de bromuro mercúrico para su comparación. Esta mancha representa 2 µg de arsénico.

Procedimiento - Transferir al generador 5 ml de ioduro de potasio (SR) y 5 ml de la *Solución muestra* y agregar 5 ml de cloruro estannoso (SR). Colocar el aparato a temperatura ambiente durante un periodo de 10 minutos, a continuación agregar 25 ml de agua y 1,5 g de cinc granulado y proceder según se indica en *Mancha estándar*. Retirar el papel de bromuro mercúrico y comparar la mancha con la *Mancha estándar*: la mancha producida por el producto químico ensayado no excede la *Mancha estándar* en longitud o intensidad de color, indicando no más de 10 ppm de arsénico en la sustancia a ensayar. Dado que la luz, el calor y la humedad pueden hacer que la mancha se borre rápidamente, colocar los papeles en tubos limpios y secos y realizar las comparaciones rápidamente.

Interferencias - El Antimonio, si está presente en la sustancia de ensayo, produce una mancha gris. Los sulfitos, sulfuros, tiosulfatos y otros compuestos que liberan sulfuro de hidrógeno o dióxido de azufre cuando se tratan con ácido sulfúrico, se deben oxidar con ácido nítrico y luego reducirse con dióxido de azufre, según se indica en *Solución muestra*, antes de ser colocados en el aparato. Ciertos compuestos de azufre, así como la fosfina, producen una banda amarilla brillante en el papel. Si el material contiene compuestos azufrados, el algodón o la arena humedecidos con acetato de plomo se oscurecerán. En ese caso, repetir la operación, según se indica en *Solución muestra*, sobre una porción de *Solución muestra* recientemente preparada, y asegurar la completa eliminación del ácido sulfuroso. Cuando se ensayen hipofosfitos, asegurarse bien de que se oxide completamente la *Solución muestra*, de otro modo, la evolución de la fosfina puede dar lugar a una mancha amarilla que se puede confundir con el color amarillo anaranjado producido por la arsina. La mancha producida por la fosfina puede diferenciarse de la producida por la arsina si se la humedece con hidróxido de amonio 6 N. Una mancha causada por arsina se torna oscu-

ra cuando es tratada, pero una mancha producida por fosfina no cambia de color.

CLORURO EN REACTIVOS

Solución estándar de cloruro - Disolver 165,0 mg de cloruro de sodio seco en agua para obtener 1 litro de solución. Esta solución contiene el equivalente de 0,10 mg de cloro (Cl) en cada ml.

Procedimiento - Neutralizar una solución de la cantidad del reactivo indicada en el ensayo, en caso de que fuera alcalina, en 25 ml de agua o una solución preparada según se indica en el ensayo, con ácido nítrico, empleando papel de tornasol como indicador y agregar 3 ml adicionales de ácido nítrico. Filtrar la solución, si fuera necesario, a través de un papel de filtro previamente lavado con agua, hasta que el papel esté exento de cloruro y agregar 1 ml de nitrato de plata (SR). Mezclar y dejar reposar durante 5 minutos al abrigo de la luz directa. Comparar la turbidez, si la hay, con la producida por un control realizado con cantidades iguales de los mismos reactivos, como si fuera el ensayo final y un volumen de *Solución estándar de cloruro* equivalente a la cantidad de cloruro (Cl) permitida por el ensayo. Ajustar las dos soluciones con agua al mismo volumen, antes de agregar el nitrato de plata (SR), y comparar las turbiedades.

Al ensayar sales de bario, neutralizar la solución que contiene el reactivo, si ésta fuera alcalina, con ácido nítrico y agregar sólo 3 gotas más de ácido nítrico. Realizar el resto del ensayo según se describió previamente.

Al ensayar sales que dan soluciones de color, disolver 2 g del reactivo en 25 ml de agua y agregar 3 ml de ácido nítrico. Filtrar la solución, si fuera necesario, a través de un papel de filtro previamente lavado con agua y fraccionar el filtrado en dos porciones iguales. Tratar una porción con 1 ml de nitrato de plata (SR), dejar reposar durante 10 minutos y, si se produce turbidez, filtrar a través de un papel de filtro lavado hasta obtener un filtrado transparente y emplear el filtrado como blanco. Tratar la otra porción con 1 ml de nitrato de plata (SR), mezclar y dejar reposar durante 5 minutos al abrigo de la luz directa. Comparar la turbidez con la producida por el blanco, mediante el agregado de un volumen de *Solución estándar de cloruro* equivalente a la cantidad de cloruro (Cl) permitido en el ensayo, ajustando ambas soluciones con agua al mismo volumen.

ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN Y EMISIÓN ATÓMICA PARA REACTIVOS

Se requiere el empleo de la espectrofotometría de absorción y emisión atómica para determinar trazas de calcio, potasio, sodio y estroncio en algu-

nas *Especificaciones de reactivos*. La aptitud de tales determinaciones depende del empleo de aparatos apropiados. El espectrofotómetro de absorción y emisión atómica más apropiado posee un fototubo sensible al rojo, un fototubo multiplicador, un monocromador, un control para regular el ancho de banda, un interruptor selector y un control de sensibilidad. Se pueden emplear otros tipos de espectrofotómetros, siempre que el analista haya demostrado que el aparato determinará exactamente la cantidad de impurezas admitidas en el reactivo que se va a ensayar.

Los procedimientos requieren una *Solución muestra* y una *Solución control*. Para la *Solución muestra*, se disuelve una cantidad pesada de muestra y se diluye a un volumen determinado. Para la *Solución control*, se disuelve la misma cantidad de muestra, se agregan las cantidades límites de las presuntas impurezas y a continuación, se diluye la solución al mismo volumen determinado para la *Solución muestra*. El espectrofotómetro de absorción y emisión atómica se fija según se indica en los procedimientos generales y luego se ajusta para dar una lectura de emisión tan cercana al 100 % de transmitancia como sea posible en la *Solución control*, a la longitud de onda especificada para la impureza específica. Sin alterar los parámetros del aparato, la emisión de la *Solución muestra* se lee a la misma longitud de onda y a la longitud de onda de fondo especificada. A continuación se emplea la lectura de fondo para corregir la emisión observada en la *Solución muestra* para la emisión, ocasionada por la muestra y el solvente. La muestra ensayada contiene menos del límite de impureza especificado, si la diferencia entre la emisión de fondo observada y la emisión de la *Solución muestra* es menor que la diferencia entre la emisión observada para la *Solución control* y la *Solución muestra*, a la longitud de onda designada para la impureza específica.

Calcio en reactivos

Solución estándar de calcio - Disolver 250 mg de carbonato de calcio en una mezcla de 20 ml de agua y 5 ml de ácido clorhídrico diluido y, cuando la disolución se complete, diluir con agua a 1 litro. Esta solución contiene 0,10 mg de calcio (Ca) por ml.

Procedimiento - Emplear la *Solución muestra* y la *Solución control* preparadas según se indica en *Procedimiento* del ensayo individual.

Fijar el control de ancho de banda de un espectrofotómetro de absorción y emisión atómica apropiado a 0,03 mm y fijar el interruptor selector a 0,1. Ajustar el aparato para que produzca la máxima emisión con la *Solución control* en la línea de calcio de 422,7 nm y registrar la transmitancia. Sin cam-

biar ningún parámetro del aparato, registrar la transmitancia para la emisión de la *Solución muestra* a 422,7 nm. Cambiar el monocromador a la longitud de onda especificada en *Procedimiento* del ensayo individual, y registrar la transmitancia de fondo para la emisión de fondo de la *Solución muestra*: la diferencia entre las transmitancias de la *Solución muestra* a 422,7 nm y a la longitud de onda de fondo no es mayor que la diferencia entre las transmitancias observadas a 422,7 nm para la *Solución muestra* y la *Solución control*.

Potasio en reactivos

Solución estándar de potasio - Disolver 191 mg de cloruro de potasio en unos pocos ml de agua y diluir con agua a 1 litro. Diluir una porción de esta solución con agua en una relación de 1 a 10 para obtener una concentración de 0,01 mg de potasio (K) por ml.

Procedimiento - Emplear la *Solución muestra* y la *Solución control*, preparadas según se indica en *Procedimiento* del ensayo individual. [NOTA: al ensayar sales de calcio, emplear un mechero de oxígeno-hidrógeno.]

Fijar el control de ancho de banda de un espectrofotómetro de absorción y emisión atómica apropiado, equipado con un detector sensible al rojo, a 0,1 mm, a menos que se indique de otro modo, y fijar el interruptor selector a 0,1. Ajustar el aparato para que produzca la máxima emisión con la *Solución control* en la línea de potasio a 766,5 nm y registrar la transmitancia. Sin cambiar ningún parámetro del aparato, registrar la transmitancia para la emisión de la *Solución muestra* a 766,5 nm. Cambiar el monocromador a 750 nm, y registrar la transmitancia de fondo para la emisión de fondo de la *Solución muestra*: la diferencia entre las transmitancias de la *Solución muestra* a 766,5 y a 750 nm no es mayor que la diferencia entre las transmitancias observadas a 766,5 nm para la *Solución muestra* y la *Solución control*.

Sodio en reactivos

Solución estándar de sodio - Disolver 254 mg de cloruro de sodio en unos pocos ml de agua y diluir con agua a 1 litro. Diluir una porción de esta solución con agua en una relación de 1 a 10 para obtener una concentración de 0,01 mg de sodio (Na) por ml.

Procedimiento - Emplear la *Solución muestra* y la *Solución control* preparadas según se indica en el *Procedimiento* del ensayo individual.

Fijar el control de ancho de banda de un espectrofotómetro de absorción y emisión atómica apropiado a 0,01 mm y fijar el interruptor selector a 0,1. Ajustar el aparato para que produzca la máxima

emisión con la *Solución control* en la línea de sodio a 589 nm y registrar la transmitancia. Sin modificar ningún parámetro del aparato, registrar la transmitancia de la emisión de la *Solución muestra* a 589 nm. Cambiar el monocromador a 580 nm y registrar la transmitancia de fondo para la emisión de fondo de la *Solución muestra*: la diferencia entre las transmitancias para la *Solución muestra* a 589 y a 580 nm no es mayor que la diferencia entre las transmitancias observadas a 589 nm para la *Solución muestra* y la *Solución control*.

Estroncio en reactivos

Solución estándar de estroncio - Disolver 242 mg de nitrato de estroncio en unos pocos ml de agua, y diluir con agua a 1 litro. Diluir una porción de esta solución con agua en una relación de 1 a 10 para obtener una concentración de 0,01 mg de estroncio (Sr) por ml.

Procedimiento - Emplear la *Solución muestra* y la *Solución control* preparadas según se indica en *Procedimiento* del ensayo individual.

Fijar el control de ancho de banda de un espectrofotómetro de absorción y emisión atómica apropiado a 0,03 mm y fijar el interruptor selector a 0,1. Ajustar el aparato para dar la máxima emisión con la *Solución control* en la línea de estroncio a 460,7 nm y registrar la transmitancia. Sin modificar ningún parámetro del aparato, registrar la transmitancia para la emisión de la *Solución muestra* a 460,7 nm. Cambiar el monocromador a la longitud de onda especificada en *Procedimiento* del ensayo individual y registrar la transmitancia de fondo de la emisión de fondo de la *Solución muestra*: la diferencia entre las transmitancias para la *Solución muestra* a 460,7 nm y a la longitud de onda de fondo no es mayor que la diferencia entre las transmitancias observadas a 460,7 nm para la *Solución muestra* y la *Solución control*.

METALES PESADOS EN REACTIVOS

Solución estándar de plomo - Emplear *Solución estándar de plomo* (ver 590. *Límite de metales pesados*). Cada mililitro de esta solución contiene el equivalente a 0,01 mg de Pb.

Procedimiento - A menos que se indique de otro modo, determinar el límite de metales pesados del siguiente modo:

- a- Si el límite de metales pesados es 0,0005 % (5ppm), disolver 6,0 g de muestra en agua para obtener 42 ml.
- b- Si el límite de metales pesados es 0,001 % (10ppm) o mayor, o en caso de solubilidad limitada, emplear 4 g, disolver en agua y llevar a 40 ml, calentando para disolver si fuera necesario.

Para la *Solución control* transferir 7 ml de la solución (a) a un tubo de comparación de color y agregar un volumen de *Solución estándar de plomo* equivalente a la cantidad de plomo admitida en 4 g del reactivo. Diluir con agua a 35 ml y agregar ácido acético diluido, o amoníaco (SR), hasta que el pH, determinado potenciométricamente, sea aproximadamente 3,5. Diluir con agua a 40 ml y mezclar. Transferir los restantes 35 ml de la solución (a) a un tubo de comparación de color igual al empleado para la *Solución control* y agregar ácido acético diluido, o amoníaco (SR), hasta que el pH, determinado potenciométricamente, sea aproximadamente 3,5. Diluir con agua a 40 ml y mezclar. A continuación, agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR) a cada tubo, mezclar y comparar los colores observando hacia abajo a través del tubo de comparación de color contra una superficie blanca. El color en la *Solución muestra* no es más oscuro que el de la *Solución control*.

Si la solución del reactivo está preparada según se especifica en (b), emplear para la *Solución control* 10ml de la solución y agregarle un volumen de *Solución estándar de plomo* equivalente a la cantidad de plomo admitida en 2 g del reactivo. Diluir los restantes 30 ml de solución (b) con agua a 35 ml y proceder según se indica en el párrafo anterior, comenzando desde donde dice “*agregar ácido acético diluido, o amoníaco (SR)...*”.

Si el reactivo que se va a ensayar para detectar metales pesados es una sal de un ácido orgánico alifático, sustituir el ácido acético diluido especificado en el método anterior por ácido clorhídrico 1 N.

MATERIA INSOLUBLE EN REACTIVOS

Disolver la cantidad de reactivo especificada en el ensayo en 100 ml de agua, calentar a ebullición, a menos que se indique de otro modo, en un vaso de precipitados cubierto en un baño de vapor durante 1 hora. Filtrar la solución caliente a través de un crisol de vidrio sinterizado de porosidad fina, previamente pesado. Lavar el vaso de precipitados y el filtro con agua caliente, secar a 105 °C, enfriar en un desecador y pesar.

PÉRDIDA POR SECADO PARA REACTIVOS

Determinar según se indica en <680>. *Pérdida por secado*.

NITRATO EN REACTIVOS

Solución estándar de nitrato - Disolver 163 mg de nitrato de potasio en agua, agregar agua hasta obtener 100 ml. Diluir 10 ml de esta solución con agua a 1 litro, para obtener una solución que contenga el equivalente a 0,01 mg de NO₃ por mililitro.

Solución de sulfato de brucina - Disolver 600 mg de sulfato de brucina en 600 ml de ácido sulfúrico diluido libre de nitrato (2 en 3), previamente enfriado a temperatura ambiente y diluir con el ácido a 1 litro. [NOTA: preparar el ácido sulfúrico libre de nitratos agregando 4 partes de ácido sulfúrico a 1 parte de agua, calentando la solución hasta que se desprendan vapores densos de trióxido de azufre y enfriándola. Repetir la dilución y el calentamiento tres o cuatro veces.]

Solución muestra - Al peso de muestra especificado para el reactivo, disuelto en el volumen designado de agua, agregar *Solución de sulfato de brucina* hasta obtener 50 ml.

Solución control - Agregar el peso de muestra especificado para el reactivo, a un volumen de *Solución estándar de nitrato* equivalente al peso de nitrato (NO₃) especificado para el reactivo y a continuación agregar *Solución de sulfato de brucina* hasta obtener 50 ml.

Solución blanco - Emplear 50 ml de *Solución de sulfato de brucina*.

Procedimiento - Calentar la *Solución muestra*, la *Solución control* y la *Solución blanco* en un baño de agua hirviendo durante 10 minutos, luego enfriar rápidamente en un baño de hielo a temperatura ambiente. Ajustar la lectura del aparato a cero, a 410 nm, con la *Solución blanco*. Determinar la absorbancia de la *Solución muestra*, registrar el resultado y ajustar el aparato a cero con la *Solución muestra*. Determinar la absorbancia de la *Solución control*: la lectura de absorbancia para la *Solución muestra* no es mayor a la de la *Solución control*.

COMPUESTOS NITROGENADOS EN REACTIVOS

Procedimiento - A menos que se indique de otro modo, detectar compuestos nitrogenados de la siguiente manera: disolver la cantidad especificada de muestra en 60 ml de agua libre de amoníaco, en un matraz de Kjeldahl conectado a través de una trampa a un condensador, cuyo extremo se sumerge en 10 ml de ácido clorhídrico 0,1 N. Agregar 10 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 10) recientemente hervida al matraz de Kjeldahl y 500 mg de alambre de aluminio, cortado en piezas pequeñas, dejar reposar durante 1 hora, evitando la pérdida de amoníaco y la exposición al mismo. Destilar 35 ml y diluir el destilado con agua a 50 ml. Agregar 2 ml de solución de hidróxido de sodio recientemente hervida (1 en 10), mezclar, agregar 2 ml de iodo-mercuriato de potasio alcalino (SR) y mezclar nuevamente: el color producido no es más oscuro que el de una *Solución control* que contenga la cantidad agregada de N (como cloruro de amonio), especificada en *Procedimiento* del ensayo individual.

FOSFATO EN REACTIVOS

Solución estándar de fosfato - Disolver 143,3 mg de fosfato monobásico de potasio seco, KH₂PO₄, en agua para obtener 1 litro. Esta solución contiene el equivalente a 0,10 mg de fosfato (PO₄) en cada mililitro.

Reactivo para fosfato A - Disolver 5 g de molibdato de amonio en ácido sulfúrico 1 N para obtener 100 ml.

Reactivo para fosfato B - Disolver 200 mg de p-metilaminofenol sulfato en 100 ml de agua y agregar 20 g de bisulfito de sodio. Almacenar este reactivo en botellas totalmente llenas, tapadas perfectamente y emplear dentro del mes de su preparación.

Procedimiento - [NOTA: los ensayos con la *Solución muestra* y la *Solución control* se hacen en tubos de comparación.] Disolver la cantidad del reactivo especificado en el ensayo o el residuo obtenido después del tratamiento prescrito, en 20 ml de agua, calentando, si fuera necesario. Agregar 2,5 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 7) y diluir con agua a 25 ml. [NOTA: si se prefiere, la muestra o el residuo pueden disolverse en 25 ml de ácido sulfúrico aproximadamente 0,5 N.] Luego agregar 1 ml de *Reactivo para fosfato A* y 1 ml de *Reactivo para fosfato B*, mezclar y dejar reposar a temperatura ambiente durante 2 horas. Comparar el color azul producido con el de una *Solución control* preparada con iguales cantidades de los mismos reactivos que el ensayo con la *Solución muestra* y un volumen de *Solución estándar de fosfato* equivalente a la cantidad de fosfato (PO₄) establecida en las especificaciones del reactivo.

RESIDUO DE IGNICIÓN EN REACTIVOS

Procedimiento - A menos que se indique de otro modo, determinar el residuo de ignición de la siguiente forma: pesar exactamente entre 1 y 2 g de la sustancia a ensayar en un crisol apropiado, el cual previamente se ha sometido a ignición, enfriado y pesado. Someter a ignición la sustancia, suave y lentamente al principio y luego a una velocidad mayor, hasta que se carbonice totalmente, si la sustancia es orgánica, o hasta que se volatilice completamente, si la sustancia es inorgánica. Si se especifica el empleo de ácido sulfúrico, enfriar el crisol, agregar la cantidad especificada de ácido e incinerar el crisol suavemente hasta que no se desprendan más gases. Luego someter a ignición el crisol a 800 ± 25 °C, enfriar en un desecador apropiado y pesar. Si no se especifica el empleo de ácido sulfúrico, el crisol no necesita enfriarse pero se puede someter a ignición directamente a 800 ± 25 °C una vez que se haya carbonizado o volatilizado por completo. Continuar la ignición

hasta peso constante, a menos que se especifique de otro modo.

Realizar la ignición en una campana extractora bien ventilada, pero proteger de las corrientes de aire y efectuar la combustión completa del carbono a la menor temperatura posible. Se puede emplear una mufla pero su empleo se recomienda para la ignición final a 800 ± 25 °C.

SULFATO EN REACTIVOS

Solución estándar de sulfato - Disolver 181,4 mg de sulfato de potasio, previamente secado a 105 °C durante 2 horas, en agua para obtener 1 litro. Esta solución contiene el equivalente a 0,10 mg de sulfato (SO₄) por mililitro.

Procedimiento -

MÉTODO I - Neutralizar una solución de la cantidad del reactivo o residuo indicado en el ensayo en 25 ml de agua, si fuera necesario, o una solución preparada según se indica en el ensayo, con ácido clorhídrico o con amoníaco (SR), empleando papel de tornasol como indicador. Agregar 1 ml de ácido clorhídrico 1 N. Filtrar la solución, si fuera necesario, a través de un papel de filtro previamente lavado con agua y agregar 2 ml de cloruro de bario (SR). Mezclar, dejar reposar durante 10 minutos y comparar la turbidez, si la hubiera, con la producida por una *Solución control* que contiene las mismas cantidades de los mismos reactivos empleados en el ensayo y una cantidad de *Solución estándar de sulfato*, equivalente a la cantidad de sulfato (SO₄) permitida por el ensayo. Ajustar las dos soluciones con agua al mismo volumen antes de agregar el cloruro de bario (SR).

MÉTODO II - Calentar a ebullición la solución preparada según se indica en *Procedimiento* del ensayo individual o el filtrado designado en *Procedimiento*. Agregar 5 ml de cloruro de bario (SR). A continuación digerir la solución en un baño de vapor durante 2 horas y dejar reposar de la noche a la mañana. Si se forma precipitado, filtrar la solución a través de papel de filtro, lavar el residuo con agua caliente, y transferir el papel de filtro que contiene el residuo a un crisol previamente pesado. Carbonizar el papel de filtro, sin quemarlo, y someter a ignición el crisol y su contenido hasta peso constante. Realizar una determinación con un blanco y restar el peso del residuo obtenido para éste del obtenido en la determinación de la muestra para obtener el peso de sulfato de la muestra.

ESPECIFICACIONES DE RECTIVOS

A

Aceite de cedro (para aclarar preparados microscópicos) - Debe emplearse para este fin, aceite seleccionado y destilado de la madera del cedro rojo, *Juniperus virginiana* Linneo (Fam. Pinaceae). Índice de refracción: aproximadamente 1,504 a 20 °C. Para uso con lentes de inmersión homogénea se requiere un aceite especialmente preparado que tiene un índice de refracción de $1,5150 \pm 0,0002$, a 20 °C.

Aceite mineral - Emplear *Vaselina líquida*.

Acetaldehído - CH_3CHO - (PM: 44,1) - Líquido incoloro. Miscible con agua y alcohol.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a 30 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 30 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 150 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico CH_3CHO no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,330 y 1,334, a 20 °C.

Acetanilida - $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}$ - (PM: 135,2) - Cristales blancos, con brillo, generalmente en escamas o polvo cristalino blanco. Es inodoro y estable al aire. Poco soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol y cloroformo; soluble en agua hirviendo, éter y glicerina.

Intervalo de fusión <260> - Entre 114 y 116 °C.

Reacción - Su solución saturada es neutra frente al tornasol.

Pérdida por secado <680> - Secar sobre ácido sulfúrico durante 2 horas: no pierde más de 0,5 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,05 %.

Acetato cobaltoso - (*Acetato de Cobalto*) - $\text{Co}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 249,1) - Cristales rojos en forma de agujas. Soluble en agua y alcohol.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 5 g disueltos en 100ml de agua que contiene 2 ml de ácido acético glacial (0,02 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,1 mg de Cl (0,01 %).

Nitrato - Disolver 500 mg en 10 ml de agua, agregar, con agitación, 10 ml de hidróxido de sodio (SR) y calentar en un baño de vapor durante 30 minutos. Enfriar, diluir a 20 ml con agua, mezclar y filtrar. A 10 ml del filtrado agregar 5 mg de cloruro de sodio, 0,1 ml de índigo carmín (SR) y 10 ml de ácido sulfúrico: el color azul no desaparece por completo en 1 minuto (aproximadamente 0,02 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método II*. El filtrado del ensayo para *Materia insoluble*, excluyendo los lavados, no proporciona más de 2,5 mg de residuo (0,02 %).

Sustancias no precipitadas por sulfuro de hidrógeno - Disolver 2 g en aproximadamente 90 ml de agua y agregar 2 g de cloruro de amonio y suficiente amoníaco (SR) para redissolver el precipitado formado. Hacer pasar sulfuro de hidrógeno a través de esta solución hasta que el cobalto precipite completamente. Diluir con agua a 100,0 ml, mezclar y filtrar. Evaporar 50 ml del filtrado casi hasta sequedad, agregar 0,5 ml de ácido sulfúrico y someter a ignición a 800 ± 25 °C hasta peso constante: el residuo no pesa más 3 mg (0,3 % como SO_4).

Cobre - Disolver 500 mg en 30 ml de agua y agregar 1 ml de ácido clorhídrico (A). Disolver otros 500 mg en 20 ml de agua y agregar 1 ml de ácido clorhídrico y 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR) (B). No se observa ninguna diferencia en color notoria entre A y B.

Niquel - Disolver 1 g en 200 ml de agua, agregar 1 g de citrato de sodio, calentar a ebullición. Agregar 100 ml de una solución alcohólica de dimetilglioxima (1 en 100) luego agregar 15 ml de amoníaco (SR) y dejar reposar de la noche a la mañana. Filtrar a través de un crisol filtrante previamente pesado, lavar con agua luego con alcohol diluido y secar a 105 °C hasta peso constante: el precipitado no pesa más de 25 mg (0,5 %).

Acetato cúprico - $\text{Cu}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ - (PM:199,7) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetato de amilo - (*Acetato de isoamilo*) - $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{C}_5\text{H}_{11}$ - (PM: 130,2) - Líquido claro, incoloro con olor a esencia de banana. Algo soluble en agua. Miscible con alcohol, alcohol amílico y éter. Densidad relativa: aproximadamente 0,87.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - *Método I.* No menos de 90 % destila entre 137 y 142°C.

Solubilidad en alcohol diluido - 1,0 ml se disuelve en 20 ml de alcohol diluido para formar una solución transparente.

Acidez - Agregar 5,0 ml a 40 ml de alcohol neutralizado y, si se produce color rosado, titular con hidróxido de sodio 0,10 N: no se requieren más de 0,20 ml para restaurar el color rosado (aproximadamente 0,02 % como CH₃COOH).

Agua - 5 ml con 5 ml de disulfuro de carbono proporciona una solución transparente.

Acetato de amonio - NH₄C₂H₃O₂ - (PM: 77,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetato de n-butilo - CH₃COO(CH₂)₃CH₃ - (PM: 116,2) - Líquido transparente, incoloro, de olor característico. Poco soluble en agua; miscible con alcohol. Densidad relativa: aproximadamente 0,88.

Intervalo de destilación <240> - No menos de 95% destila entre 123 y 126 °C.

Acetato de butilo normal - Ver Acetato de n-butilo.

Acetato de cadmio - C₄H₆CdO₄ · 2H₂O - (PM: 266,5) - Cristales incoloros, transparentes a translúcidos. Inodoro o con leve olor a ácido acético. Fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 20 g (0,005 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,01 mg de Cl (0,001 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método II.* Disolver 10 g en 100 ml de agua, agregar 1 ml de ácido clorhídrico y filtrar: el residuo no pesa más de 1,2 mg que el residuo obtenido en un ensayo en blanco (0,005 %).

Sustancias no precipitadas por sulfuro de hidrógeno - Disolver 2 g en una mezcla de 135 ml de agua y 15 ml de ácido sulfúrico 1 N, calentar a ebullición y hacer pasar una corriente rápida de sulfuro de hidrógeno a través de la solución a medida que ésta se enfría. Filtrar y a 75 ml del filtrado transparente agregar 0,25 ml de ácido sulfúrico luego evaporar hasta sequedad y someter a ignición suavemente: el residuo pesa no más de 1 mg (0,1 %).

Acetato de calcio - Ca(C₂H₃O₂)₂ · H₂O - (PM: 176,2) - Polvo cristalino o gránulos de color blanco. Fácilmente soluble en agua; poco soluble en alcohol.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1,0 mg, determinado sobre 10 g (0,010 %).

Alcalinidad y acidez - A una solución de 2,0 g en 25 ml de agua agregar fenolftaleína (SR): no se produce color rosado. Luego agregar hidróxido de sodio 0,10 N hasta que se produzca color rosado después de agitar: no se requieren más de 0,70 ml de álcali (0,2% como CH₃COOH).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,05 mg de Cl (0,005 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I.* 1 g no presenta más de 0,4 mg de SO₄ (0,04 %).

Álcalis y magnesio - Disolver 1 g en 50 ml de agua. Agregar 2 ml de ácido clorhídrico, calentar a ebullición y agregar 35 ml de solución de ácido oxálico (1 en 20). Lentamente neutralizar la solución, mientras se enfría, con agua de amoníaco fuerte luego diluir con agua a 100 ml y dejar reposar durante 4 horas o de la noche a la mañana. Filtrar y a 50 ml del filtrado agregar 5 gotas de ácido sulfúrico, evaporar y someter a ignición hasta peso constante: el residuo no es mayor a 1,5 mg (0,3 % como SO₄).

Bario - Disolver 2 g en 15 ml de agua, agregar 2 gotas de ácido acético glacial, filtrar y agregar al filtrado 0,3 ml de solución de dicromato de potasio (1 en 10): no se produce turbidez dentro de los 10 minutos de preparado (aproximadamente 0,01 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 0,001 %.

Hierro <580> - Disolver 500 mg en 47 ml de agua que contiene 2 ml de ácido clorhídrico. La solución no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,002 %).

Acetato de cinc - Zn(CH₃COO)₂ · 2H₂O - (PM: 219,5) - Cristales incoloros o placas blancas, cristalinas, con leve olor a ácido acético. Fácilmente soluble en agua y moderadamente en alcohol.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - 20 g disueltos en 200 ml de agua y 2 ml de ácido acético glacial no presentan más de 1,0 mg de materia insoluble (0,005 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 2 g no presentan más de 0,01 mg de Cl (5 ppm).

Nitrato - Disolver 1 g en 10 ml de agua y 50 µl de índigo carmín (SR) y luego agregar 10 ml de ácido sulfúrico: el color azul persiste durante 5 minutos (aproximadamente 0,005 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I.* Disolver 20 g en 200 ml de agua, agregar 1 ml de ácido clorhídrico y filtrar: el filtrado, con 10 ml de cloruro de bario (SR), no proporciona más de 1,0 mg de residuo (0,002 % como SO₄).

Metales alcalinos y alcalino térreos - Disolver 2 g en 140 ml de agua, agregar 10 ml de agua de amoníaco fuerte, precipitar completamente el cinc

con sulfuro de hidrógeno y filtrar. A 75 ml del filtrado agregar 5 gotas de ácido sulfúrico, evaporar y someter a ignición: el residuo no pesa más de 1 mg (0,1 %).

Arsénico <540> - Disolver 6 g en agua: no más de 0,5 ppm.

Hierro <580> - Disolver 2 g en 45 ml de agua y agregar 2 ml de ácido clorhídrico: la solución no presenta más de 0,01 mg (5 ppm).

Plomo <600> - Disolver 1 g en 20 ml de agua. A 5 ml de la solución, agregar 0,02 mg de Pb y 12 ml de solución de cianuro de potasio (3 en 20) y diluir con agua a 50 ml (A). A los restantes 15 ml agregar 12 ml de la solución de cianuro de potasio y diluir a 50 ml con agua (B). Luego a cada uno agregar 5 gotas de sulfuro de sodio (SR): B no es más oscuro que A (0,004 %).

Acetato de etilo - $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ - (PM: 88,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetato de estroncio - $\text{Sr}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 214,7) - Polvo blanco, cristalino. Fácilmente soluble en agua; poco soluble en alcohol.

Valoración - Someter a ignición aproximadamente 3 g, exactamente pesados, en un crisol de platino. Enfriar, transferir el crisol con el residuo a un vaso de precipitados y agregar 50 ml de agua y 40,0 ml de ácido clorhídrico 1 N (SV). Calentar a ebullición suavemente durante 30 minutos o más, si fuera necesario, filtrar, lavar con agua caliente hasta que los lavados sean neutros, agregar rojo de metilo (SR) y titular el ácido en exceso con hidróxido de sodio 1 N (SV). Cada mililitro de ácido clorhídrico 1 N equivale a 107,4 mg de $\text{Sr}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$. Contiene no menos de 99 %.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 2 mg, determinado sobre 10 g (0,02 %).

Alcali libre o ácido libre - Disolver 3 g en 30 ml de agua y agregar 3 gotas de fenolftaleína (SR): no se produce color rosado. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) hasta color rosado. No se requieren más de 0,30 ml de hidróxido de sodio 0,1 N.

Bario - Disolver 1 g en 10 ml de agua y agregar 1 gota de ácido acético glacial y 5 gotas de solución de dicromato de potasio (1 en 10): no se produce turbidez dentro de los 2 minutos de preparado (aproximadamente 0,02 %).

Calcio - Someter a ignición 1 g hasta carbonizarlo completamente. Calentar el residuo con una mezcla de 3 ml de ácido nítrico y 10 ml de agua, filtrar, lavar con 5 ml de agua y evaporar el filtrado en un baño de vapor hasta sequedad. Pulverizar el residuo y secar a 120 °C durante 3 horas. Calentar a reflujo el polvo seco con 15 ml de

alcohol absoluto durante 10 minutos, enfriar en hielo y filtrar. Repetir la extracción con 10 ml de alcohol absoluto. Evaporar los filtrados combinados hasta sequedad, agregar 0,5 ml de ácido sulfúrico y someter a ignición: el peso del residuo no es mayor de 10 mg (0,3 % de Ca).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no contiene más de 0,1 mg de Cl (0,01 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 0,001 %.

Hierro <580> - Disolver 1,0 g en 45 ml de agua y agregar 2 ml de ácido clorhídrico: la solución no contiene más de 0,01 mg de Fe (0,001 %).

Sales alcalinas - Disolver 2 g en 80 ml de agua y calentar a ebullición. Agregar un exceso de carbonato de amonio (SR) y calentar a ebullición durante 5 minutos. Diluir con agua a 100 ml y filtrar. Evaporar 50 ml del filtrado y someter a ignición: el residuo, después de corregir por el residuo de ignición a partir de la mitad del volumen del carbonato de amonio (SR) transparente empleada anteriormente, no es mayor de 3 mg (0,3 %).

Nitrato - Disolver 1 g en 10 ml de agua, agregar 0,10 ml de índigo carmín (SR) y luego agregar 10 ml de ácido sulfúrico: el color azul persiste durante 5 minutos (aproximadamente 0,01 % de NO_3).

Acetato de isobutilo - $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_2$ - (PM: 116,2) - Líquido transparente, incoloro. Poco soluble en agua. Miscible con alcohol.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 130 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 30 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 180 °C, manteniéndose esa temperatura durante 10 minutos. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico principal no es menor de 99 % del área total.

Densidad relativa <160> - Entre 0,863 y 0,868.

Índice de refracción - Entre 1,3900 y 1,3920, a 20 °C.

Acetato de isoflupredona - (*Acetato de 9- α -Fluoroprednisolona*) - $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{FO}_6$ - (PM: 420,5) - Polvo blanco a blanco amarillento. Insoluble en agua; fácilmente soluble en piridina; soluble en alcohol y dioxano; poco soluble en cloroformo. Funde aproximadamente a 240 °C, con descomposición.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 4 horas: no pierde más de 1,0 % de su peso.

Acetato de magnesio - $\text{Mg}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 214,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetato de mentilo - (*Acetato de 2-isopropil-5-metilciclohexilo*) - $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_2$ - Líquido incoloro. Miscible con alcohol y éter. Poco soluble.

Índice de refracción <230> - Aprox. 1,447 a 20 °C.

Temperatura de ebullición - Aprox. a 225 °C.

Densidad relativa <160> -. Aprox. 0,92.

Acetato de metilo - $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2$ - (PM: 74,1) - Líquido incoloro, de olor característico. Soluble en agua. Miscible con alcohol y éter. Densidad relativa: aproximadamente 0,933.

Índice de refracción - Entre 1,3615 y 1,3625, a 20 °C.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 57 y 58 °C.

Acetato de mercurio (II) - $\text{C}_4\text{H}_6\text{HgO}_4$ - (PM: 318,7) - Cristales blancos, fácilmente solubles en agua, solubles en alcohol.

Acetato de plomo - $\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 379,4) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetato de potasio - $\text{KC}_2\text{H}_3\text{O}_2$ - (PM: 98,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetato de sodio - $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 136,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetato de sodio anhidro - $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2$ - (PM: 82,0) - Masa o polvo blanco grisáceo. Es higroscópico. Fácilmente soluble en agua.

Pérdida por secado <680> - Secar a 120 EC hasta peso constante: no pierde más de 3,0 % de su peso.

Neutralidad - Disolver 5 g en 100 ml de agua, enfriar a 10 EC y agregar fenolftaleína (SR). Si se produce un color rosado, desaparece al agregar no más de 0,50 ml de ácido clorhídrico 0,020 N. Si no se produce color rosado, al agregar 0,50 ml de hidróxido de sodio 0,020 N se produce un color rosado (aproximadamente 0,02 % de álcali como Na_2CO_3 o aproximadamente 0,012 % de ácido como CH_3COOH).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,1 mg de Cl (0,01 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 0,0015 %.

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. 1 g no presenta más de 0,2 mg de SO_4 (0,02 %).

Acetato de uranilo - (*Acetato de uranio*) - $\text{UO}_2(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 424,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetato de vinilo - $\text{CH}_3\text{COOCHCH}_2$ - (PM: 86,1) - Líquido.

Valoración - Inyectar un volumen apropiado en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m × 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de espesor de goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 100 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 100 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 150 °C. Se emplea helio como gas transportador. La respuesta del pico de $\text{CH}_3\text{COOCHCH}_2$ no debe ser menor de 99,0 % de la respuesta total.

Acetato mercúrico - $\text{Hg}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$ - (PM: 318,7) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetilacetona - (*Pentano-2,4-diona*) - $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$ - (PM: 100,1) - Líquido incoloro o amarillento, fácilmente inflamable. Fácilmente soluble en agua; miscible con acetona, alcohol, éter y ácido acético glacial. Densidad relativa: Entre 1,452 y 1,453.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 138 y 140 °C.

Acetona - CH_3COCH_3 - (PM: 58,1) - Emplear *Acetona*.

[NOTA: para determinaciones espectrofotométricas al ultravioleta, emplear acetona grado espectrofotométrico.]

Acetona anhidra - CH_3COCH_3 - (PM: 58,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetonitrilo - (*Cianuro de metilo*) - CH_3CN - (PM: 41,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetonitrilo para cromatografía - Emplear un reactivo analítico apropiado que cumpla además con las siguientes especificaciones:

Pureza mínima - 99,9 %.

Transmitancia mínima - Proceder según se indica en 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*. La transmitancia debe ser de 98 % entre 255 y 420 nm, empleando agua como blanco.

Acetonitrilo para espectrofotometría - Emplear un reactivo analítico apropiado, que cumpla también los requisitos del siguiente ensayo.

Pureza espectral - Medir en una celda de 1 cm entre 250 y 280 nm, con un espectrofotómetro

apropiado, empleando aire como blanco: su absorbancia no es mayor a 0,01.

p-Acetotoluidida - $C_9H_{11}NO$ - (PM: 149,2) - Polvo blanco a casi blanco.

Valoración - Inyectar un volumen apropiado en un cromatógrafo de gases (ver 100.Cromatografía) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μ m de espesor de goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 230 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 130 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de $C_9H_{11}NO$ no es menor de 98,5 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 145 y 151 °C.

Ácido acético - (*Ácido acético 6 N*) - Emplear *Ácido acético*.

Ácido acético diluido - (*Ácido acético 1 N*) - Diluir 60,0 ml de ácido acético glacial con agua hasta obtener 1 litro.

Residuo de evaporación - Evaporar 50 ml en un baño de vapor y secar el residuo a 105 °C durante 2 horas: el residuo no pesa más de 1 mg (0,002 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 5 ml no presentan más de 0,01 mg de Cl (2 ppm).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. 10 ml no presentan más de 0,5 mg de SO_4 (50 ppm).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - Evaporar 20 ml en un baño de vapor hasta sequedad. Agregar al residuo 2 ml de ácido, diluir con agua a 25 ml y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): cualquier color pardo producido no es más oscuro que el de un control que contiene 0,04 mg de Pb y 2 ml de ácido acético diluido (2 ppm).

Ácido acético glacial - CH_3COOH - (PM: 60,1) - Contiene no menos de 98,0 % p/p de CH_3COOH .

Densidad relativa <160> - Entre 1,052 y 1,053

Intervalo de destilación <240> - Entre 117 y 119°C

Ensayos generales de identificación <410> - Cumple con los requisitos para *Acetato*.

Valoración - Tomar 5,00 g de ácido acético glacial y diluir a 100 ml con agua. Valorar 25 ml de esta solución con hidróxido de sodio 1 N (SV) empleando como indicador 0,5 ml de fenolftaleína (SR).

Sensibilidad - A 20 ml agregar aproximadamente 5 mg de cristal violeta: el color de la solución resultante es púrpura.

Ácido acrílico - $C_3H_4O_2$ - (PM: 72,1) - Líquido incoloro. Miscible con agua, alcohol y éter.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100.Cromatografía) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μ m de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 150 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 50 °C, programando un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 200 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico $C_3H_4O_2$ no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,419 y 1,423, a 20 °C.

Ácido adípico - $C_6H_{10}O_4$ - (PM: 146,1) - Polvo cristalino incoloro a blanco. Poco soluble en agua y ciclohexano; soluble en alcohol, metanol y acetona; prácticamente insoluble en éter de petróleo.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 0,3g y disolver en 50 ml de alcohol. Agregar 25 ml de agua, mezclar y titular con hidróxido de sodio 0,5 N (SV) hasta alcanzar un pH de 9,5. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,5 N equivale a 36,54 mg de $C_6H_{10}O_4$. Contiene no menos de 98 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 151 y 155 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 2 °C.

Ácido aminoacético - (*Glicina*) - NH_2CH_2COOH - (PM: 75,1) - Polvo blanco, cristalino. Muy soluble en agua; poco soluble en alcohol.

Compuestos nitrogenados (Ensayo para reactivos) Determinar mediante el método de Kjeldahl, empleando una muestra previamente secada a 105 °C durante 2 horas. Contiene entre 18,4 y 18,8 % de N, correspondiente a no menos de 98,5 % de $C_2H_5NO_2$.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 10 g (0,01 %).

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,05 %.

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,1 mg de Cl (0,01 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. 2 g no presentan más de 0,1 mg de SO_4 (0,005 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 0,001 %, emplear 5 ml de ácido clorhídrico 1N para acidificar la solución muestra.

Hierro <580> - 1 g, disuelto en 47 ml de agua con 3 ml de ácido clorhídrico, no contiene más de 0,01mg de Fe (0,001 %).

Ácido p-aminobenzoico - Ver Ácido paraaminobenzoico.

Ácido 4-amino-2-clorobenzoico -(PM: 171,6) - $C_6H_3Cl(NH_2)(COOH)$ - Cristales blancos o polvo blanco cristalino.

Intervalo de fusión <260> - Entre 208 y 212 °C.

Ácido 7-aminodesacetoxicefalosporánico - (PM: 214,2) - $C_8H_{10}N_2O_3S$ - Polvo amarillo brillante.

Impurezas comunes <510> -

Fase móvil - Cloruro de sodio 0,5 N.

Solución estándar - Emplear hidróxido de amonio 1 N como solvente.

Solución muestra - Emplear hidróxido de amonio 1 N como solvente.

Revelador - 1.

Ácido 4-amino-3-hidroxi-1-naftalensulfónico - $C_{10}H_9NO_4S$ - (PM: 239,3) - Polvo color púrpura brillante.

Solubilidad en hidróxido de amonio - Disolver 50 mg en 1 ml de hidróxido de amonio: la solución es de color marrón oscuro.

Punto de fusión <260> - Aprox. 295 °C, con descomposición.

Ácido 1,2,4-aminonaftolsulfónico - $C_{10}H_9NO_4S$ - (PM:239,3) - Polvo blanco a rosado, algo pardusco. Moderadamente soluble en agua.

Sensibilidad - Disolver 100 mg en 50 ml de solución de bisulfito de sodio recientemente preparada (1 en 5), calentando si fuera necesario para favorecer la disolución y filtrar. Agregar 1 ml del filtrado a una solución preparada agregando 2 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 6) y 1 ml de *Reactivo para fosfato A* (ver *Ensayos para reactivos*) a 20 ml de una dilución 1 en 100 de *Solución estándar de fosfato* (ver *Ensayos para reactivos*): se desarrolla un color azul característico a los 5 minutos.

Solubilidad en solución de carbonato de sodio - Disolver 100 mg en 3 ml de carbonato de sodio (SR) y agregar 17 ml de agua: sólo quedan trazas sin disolver.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - A 1 g agregar 0,5 ml de ácido sulfúrico y someter a ignición a 800 ± 25 °C hasta peso constante: el residuo no pesa más de 5 mg (0,5 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. Calentar 500 mg con una mezcla de 25 ml de agua y 2 gotas de ácido clorhídrico en un baño de vapor durante 10 minutos. Enfriar, diluir con agua a 200 ml y filtrar: 20 ml del filtrado no contienen más de 0,25 mg de SO_4 (0,5 %).

Ácido aminopropiónico - (β -Alanina) - $C_3H_7NO_2$ - (PM: 89,1) - Debe contener no menos

de 99,0 % de $C_3H_7NO_2$. Polvo cristalino blanco, fácilmente soluble en agua, poco soluble en alcohol, prácticamente insoluble en acetona y éter.

Punto de fusión <260> - Aprox. 200 °C, con descomposición.

Ácido 3-aminosalicílico - $C_7H_7NO_3$ - (PM: 153,1) - Polvo color gris.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor

Fase móvil - Butanol, agua y ácido acético (60:25:15).

Procedimiento - Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: se observa una sola mancha, con trazas de impurezas.

Punto de fusión <260> - Aprox. 240 °C, con descomposición.

Ácido benzoico - C_6H_5COOH - (PM: 122,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido 4,4'-bis(4-amino-1-naftilazo)-2,2'-estilbenodisulfónico - $C_{34}H_{26}N_6O_6S_2$ - (PM: 678,7) - Emplear uno de grado apropiado.

Ácido bis(2-etilhexil)fosfórico - [*bis*(2-etilhexil)fosfato.] -

$[CH_3(CH_2)_3CH(C_2H_5)CH_2]_2HPO_4$ - (PM: 322,4) - Líquido amarillo brillante, viscoso. Insoluble en agua; fácilmente soluble en cloroformo y acetato de etilo. Índice de refracción:aproximadamente 1,443. Densidad relativa: aproximadamente 0,997.

Valoración - Disolver aproximadamente 250 mg, exactamente pesados, en 50 ml de dimetilformamida, agregar 3 gotas de solución de azul de timol (1 en 100) en dimetilformamida. Titular con metóxido de sodio 0,1 N (SV) hasta punto final azul. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de metóxido de sodio 0,1 N equivale a 32,24 mg de $(C_8H_{17})_2HPO_4$. Contiene entre 95 y 105 %.

Solubilidad - 1 volumen se disuelve en 9 volúmenes de cloroformo para proporcionar una solución transparente y 1 volumen se disuelve en 9 volúmenes de acetato de etilo para proporcionar una solución transparente.

Color - Una solución (1 en 100) en cloroformo presenta una absortividad no mayor de 0,03, a 420 nm.

Ácido bórico - H_3BO_3 - (PM: 61,8) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido 4-(butilamino)benzoico - $C_{11}H_{15}NO_2$ - (PM: 193,3) - [4740-24-3]. Emplear uno de grado apropiado.

Ácido butírico - $C_4H_8O_2$ - (PM: 88,1) - Líquido transparente, incoloro a débilmente amarillo. Miscible con agua y metanol.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 500 mg, transferir a un recipiente apropiado, agregar 30 ml de agua y mezclar. Agregar 40 ml de agua y mezclar. Agregar fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV). Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 8,81 mg de $C_4H_8O_2$; no debe contener menos de 99,0 % de $C_4H_8O_2$.

Ácido cafeico - (*Ácido (E)-3-(3,4-dihidroxifenil)-2-propenoico*) - $C_9H_8O_4$ - (PM: 180,2) - Cristales o placas blancos o casi blancos, fácilmente solubles en alcohol y agua caliente; solubles en agua fría.

Punto de fusión <260> - Aprox. 225 °C, con descomposición.

Absorción ultravioleta <470> - Una solución de pH 7,6 recientemente preparada presenta dos máximos de absorción a 293 y 329 nm, respectivamente.

Ácido calconacarboxílico - (*Ácido 2-hidroxil-1-(2-hidroxil-4-sulfo-1-naftilazo)-3-naftalenocarboxílico*) - $C_{21}H_{14}N_2O_7S \cdot 3H_2O$ - (PM: 492,5) - Polvo pardo negruzco. Moderadamente soluble en soluciones diluidas de hidróxido de sodio; poco soluble en agua; muy poco soluble en acetona y alcohol.

Ácido dl-10-canforsulfónico - $C_{10}H_{16}O_4S$ - (PM: 232,3) - Cristales o polvo blanco a casi blanco. Es ópticamente inactivo.

Punto de fusión <260> - Aprox. 199 °C, con descomposición.

Ácido cianoacético - $C_3H_3NO_2$ - (PM: 85,1) - Sólido cristalino con un color entre blanco y amarillo claro. Muy soluble en agua.

Valoración - Disolver aproximadamente 300 mg, exactamente pesados, en 25 ml de agua y 25 ml de alcohol. Titular con hidróxido de sodio (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a $C_3H_3NO_2$. Contiene no menos de 99 %.

Ácido (1,2-ciclohexilendinitrilo)tetraacético - (*trans-1,2-diaminociclohexano-N,N,N',N'-tetraacético*) - $C_{14}H_{22}N_2O_8 \cdot H_2O$ - (PM: 364,4) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido cítrico - Emplear la forma monohidratada de *Ácido Cítrico*.

Ácido cítrico anhidro - $C_6H_8O_7$ - (PM: 192,1) - Emplear Ácido cítrico anhidro de grado apropiado.

Ácido clorhídrico - HCl - (PM: 36,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido clorhídrico diluido (10 %) - Preparar mezclando 226 ml de ácido clorhídrico con agua en cantidad suficiente hasta obtener 1 litro.

Ácido clorhídrico libre de plomo - HCl - (PM: 36,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado que cumpla con los siguientes ensayos.

Emisión atómica <440> -

Ácido nítrico - Someter a destilación sin ebullición ácido nítrico.

Soluciones estándar - Emplear Solución de plomo (0,1 ppm) (SL) y diluir con *ácido nítrico*.

Solución muestra - Evaporar 200 g de la muestra en ensayo en un crisol de cuarzo hasta casi sequedad. Recolectar el residuo con 5 ml de *ácido nítrico* y evaporar hasta sequedad. Recolectar el residuo con 5 ml de *ácido nítrico*.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Método 1*, determinando la intensidad de emisión a 220,35 nm. El límite es 20 ppm.

Ácido cloroacético - $C_2H_3ClO_2$ - (PM: 94,5) - Cristales blancos o incoloros, delicuescentes. Muy solubles en agua; solubles en alcohol y éter.

Ácido 2-cloro-4-aminobenzoico - Ver Ácido 4-Amino-2-clorobenzoico.

Ácido 4-clorobenzoico - $C_6H_4ClCOOH$ - (PM: 156,6) - Sólido blanco, cristalino.

Valoración - Disolver aproximadamente 700 mg, exactamente pesados, en una mezcla de 100 ml de alcohol caliente y 50 ml de agua. Titular con hidróxido de sodio 0,5 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,5 N equivale a 78,28 mg de $C_6H_4ClCOOH$. Contiene no menos de 98 %.

Solubilidad - 1 g disuelto en 25 ml de hidróxido de sodio 0,5 N proporciona una solución transparente y completa.

Ácido clorogénico - $C_{16}H_{18}O_9$ - (PM: 354,3) - Polvo blanco o casi blanco. Emplear uno de grado apropiado.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para

cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Alcohol butílico, agua y ácido acético (60:25:15).

Procedimiento - Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm.

Ácido cloroplátinico - $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 517,9) - Emplear Ácido cloroplátinico hexahidrato de grado apropiado.

Ácido 5-cloro salicílico - $\text{C}_7\text{H}_5\text{ClO}_3$ - (PM: 172,6) - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Soluble en metanol.

Punto de fusión <260> - Aprox. a 173 °C.

Ácido cromotrópico - (*Ácido 1,8-Dihidroxi-naftaleno-3,6-disulfónico*) - $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_8\text{S}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 356,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido 2,6-diclorofenilacético - $\text{C}_8\text{H}_6\text{Cl}_2\text{O}_2$ - (PM: 205,0) - Polvo blanco.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un ascenso de 10°C por minuto hasta 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de $\text{C}_8\text{H}_6\text{Cl}_2\text{O}_2$ no es menor de 97 % del área total.

Ácido 2,5-dihidroxi benzoico - $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4$ - (PM: 154,1) - Polvo casi blanco. Fácilmente soluble en alcohol dando una solución transparente de color amarillo muy claro.

Valoración - Disolver aproximadamente 75 mg, exactamente pesados, en 30 ml de metanol. Lentamente agregar 40 ml de agua. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 15,41 mg de $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4$. Contiene no menos de 99 %.

Punto de fusión <260> - Aprox. 207 °C, con descomposición.

Ácido dimercaptosuccínico - (PM: 182,2) - $\text{HO}_2\text{CCH}(\text{SH})\text{CH}(\text{SH})\text{COOH}$ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido esteárico - $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$ - (PM: 284,5) - Cristales duros, blancos o polvo amorfo, blanco.

Fácilmente soluble en cloroformo y éter; soluble en alcohol y éter de petróleo.

Temperatura de solidificación <180> - Entre 67 y 69 °C.

Índice de acidez <480> - Entre 196 y 199.

Índice de iodo <480> - No más de 1.

Índice de saponificación <480> - Entre 197 y 200.

Ácido palmítico - Determinar según se indica en *Valoración de Ácido esteárico*: contiene no más de 5,0 %.

Ácido fluorhídrico - HF - (PM: 20,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido fórmico - HCOOH - (PM: 46,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado, 88 %.

Ácido fórmico anhidro - HCOOH - (PM: 46,0) - Debe contener no menos de 98,0 % de CH_2O_2 . Líquido incoloro, corrosivo, miscible con agua y alcohol.

Densidad relativa <160> - Aprox. 1,22 a 20 °C.

Valoración -

Pesar exactamente una matraz cónico que contenga 10 ml de agua. Agregar 1 ml de ácido fórmico anhidro y pesar nuevamente. Agregar 50 ml de agua y titular con hidróxido de sodio 1 M en presencia de 0,5 ml de fenoftaleína (SR1). Cada ml de hidróxido de sodio 1 M consumido equivale a 46,03 mg de CH_2O_2 .

Ácido fórmico, 96 % - HCOOH - (PM: 46,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado, 96 %.

Ácido fosfomolibdico - (PM: 3.939,5) - Aproximadamente $20\text{MoO}_3 \cdot \text{P}_2\text{O}_5 \cdot 51\text{H}_2\text{O}$ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido fosfórico - H_3PO_4 - (PM: 98,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido fosfórico diluido - Ácido fosfórico al 10 %.

Ácido fosforoso - H_3PO_3 - (PM: 82,0) - Masa cristalina blanca muy higroscópica y delicuescente; se oxida lentamente por el oxígeno (aire) a H_3PO_4 . Cristales ortorrómbicos inestables, solubles en alcohol, agua y una mezcla de éter y alcohol (3:1).

Densidad relativa <160> - Aprox. 1,654.

Punto de fusión <260> - Aprox. 73 °C.

Ácido fosfotúngstico - (PM: 6.624,9) - Aproximadamente $24\text{WO}_3 \cdot \text{P}_2\text{O}_5 \cdot 51\text{H}_2\text{O}$ - Cristales verdes, blancos o amarillentos o polvo cristalino. Soluble en agua, alcohol y éter.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 5 g (0,02 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,3 mg de Cl (0,03 %).

Nitrato - Disolver 500 mg en 10 ml de agua y agregar aproximadamente 10 mg de cloruro de sodio, 0,1 ml de índigo carmín (SR) y 10 ml de ácido sulfúrico: el color azul no desaparece dentro de 1 minuto (aproximadamente 0,01 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. 500mg no presentan más de 0,1 mg de SO₄ (0,02 %).

Ácido ftálico - C₈H₆O₄ - (PM: 166,1) - Polvo cristalino entre incoloro y blanco. Soluble en alcohol y metanol; poco soluble en agua; prácticamente insoluble en cloroformo.

Valoración - Transferir aproximadamente 2,8 g, exactamente pesados, a un erlenmeyer de 250 ml, y agregar 50,0 ml de hidróxido de sodio 1 N (SV). Agregar 25 ml de agua y calentar en una placa calefactora hasta que la disolución se complete. Agregar fenoltaleína (SR) y titular el hidróxido de sodio en exceso con ácido sulfúrico 1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 1 N equivale a 83,06 mg de C₈H₆O₄. Contiene no menos de 98 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 205 y 209 °C, con descomposición, empleando un tubo capilar cerrado.

Ácido gálico - C₆H₂(OH)₃COOH · H₂O - (PM: 188,1) - Cristales o polvo blanco, o casi blanco. Moderadamente soluble en agua fría; muy soluble en agua hirviendo y alcohol.

Distinción con ácido tánico - Su solución fría, saturada, no colorea ni precipita soluciones de sales ferrosas puras y no proporciona precipitado con gelatina (SR).

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - 10 g, disuelta en 300 ml de agua caliente, presentan no más de 1 mg de materia insoluble (0,01 %).

Residuo de ignición - Incinerar 10 g, enfriar, agregar 1 ml de ácido sulfúrico e incinerar nuevamente: el residuo no pesa más de 1 mg (0,01 %).

Sulfato - Disolver 2 g en 50 ml de agua caliente, enfriar en agua con hielo mientras se agita y filtrar. Diluir el filtrado a 50 ml y a 25 ml del filtrado agregar 1 ml de ácido clorhídrico 1 N y 2 ml de cloruro de bario (SR). La turbidez producida en 10 minutos no excede la de un estándar que contiene 0,05 mg de sulfato (SO₄), 1 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 12) y 2 ml de cloruro de bario (SR) (0,005 %).

Ácido glicirrónico - (*Ácido glicirretínico*; *Ácido glicirrético*; *Ácido 12,13-Dideshidro-3β-hidroxi-11-oxo-30-oleanoico*) - C₃₀H₄₆O₄ - (PM: 470,7) - Mezcla de Ácido

α-glicirrónico y *Ácido β-glicirrónico* con predominio del isómero *β*. Polvo blanco a pardo amarillento; soluble en ácido acético glacial y alcohol, prácticamente insoluble en agua.

Rotación específica <170> - Entre +145° y +155°, determinado sobre una solución de 10,0 g por litro en alcohol.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en placa delgada (ver *100. Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia con 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo y metanol (95:5).

Revelador - Anisaldehído (SR1).

Solución muestra - Ácido glicirrónico 5 g por litro en una mezcla de cloroformo y metanol (1:1).

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 5 ml de la *Solución muestra*. Desarrollar el cromatograma hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente la mitad de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, dejar secar y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm: el cromatograma debe presentar una mancha oscura con un valor de *R_f* de aproximadamente 0,3 correspondiente al ácido *β-glicirrónico* y una mancha más pequeña con un valor de *R_f* de aproximadamente 0,5 correspondiente al ácido *α-glicirrónico*. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar entre 100 y 105 °C durante de 10 minutos: las dos manchas deben producir coloración violeta. Puede aparecer entre ambas una mancha más pequeña con la misma coloración.

Ácido D-glucónico, 50 % en agua - C₆H₁₂O₇ - (PM: 196,2) - Líquido amarillo pálido.

Valoración - Diluir aproximadamente 200 mg de la solución, exactamente pesada, con 30 ml de agua. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 19,62 mg de C₆H₁₂O₇. Contiene no menos de 49,0 %.

Índice de refracción - Entre 1,4160 y 1,4180, a 20 °C.

Rotación específica <170> - Entre +9,9° y +1,9°, determinado sobre la solución tal cual, a 20 °C.

Ácido p-hidroxibenzoico - C₇H₆O₃ - (PM: 138,1) - Cristales blancos.

Valoración - Transferir aproximadamente 700mg, exactamente pesados a un envase apropiado y disolver en 50 ml de acetona. Agregar 100 ml de agua, mezclar y titular con hidróxido de sodio 0,5 N (SV), determinando el punto final

potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,5 N equivale a 69,06 mg de $C_7H_6O_3$. Contiene no menos de 97 %.

Punto de fusión <260> - 216 °C, con un intervalo de fusión de 2 °C.

Ácido 4-hidroxibenzoico isopropil éster - (PM: 180,2) - $HOC_6H_4COOCH(CH_2)_2$ - Emplear uno de grado apropiado.

Intervalo de fusión <260> - Entre 84 y 87 °C.

Ácido 4-hidroxiisoftálico - $C_8H_6O_4$ - (PM: 182,1) Agujas ramificadas incoloras. Fácilmente soluble en alcohol y éter.

Intervalo de fusión <260> - Entre 308 y 310 °C, con descomposición a una temperatura entre 314 y 315 °C.

Ácido hipofosforoso, 50 % - (*Ácido hipofosforoso*) - HPH_2O_2 - (PM: 66,0) - Líquido incoloro a débilmente amarillo. Miscible con agua y alcohol.

Valoración - Pesar exactamente 4 ml, diluir con 25 ml de agua y agregar rojo de metilo (SR). Titular con hidróxido de sodio 1 N (SV). Cada mililitro de hidróxido de sodio 1 N equivale a 66,00 mg de HPH_2O_2 . Contiene no menos de 48 %.

Cloruro - Agregar 0,2 ml a una mezcla de 10 ml de nitrato de plata (SR) y 5 ml de ácido nítrico y calentar hasta que no se generen gases pardos: cualquier residuo blanco insoluble es mínimo.

Fosfato - Diluir 1 ml con agua a 50 ml, alcalinizar con amoníaco (SR), filtrar si se forma un precipitado y agregar al filtrado 5 ml de mezcla de magnesia (SR): no más que un leve precipitado se forma dentro de los 5 minutos.

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. Diluir 1 ml con agua a 50 ml: 20 ml de solución no presentan más de 0,2 mg de SO_4 .

Ácido iodhídrico - HI - (PM: 127,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado (conteniendo no menos de 47,0 % de HI).

Ácido iódico - HIO_3 - (PM: 175,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido lactobiónico - $C_{12}H_{22}O_{12}$ - (PM: 358,3) - Polvo cristalino blanco. Fácilmente soluble en acetona; prácticamente insoluble en alcohol.

Punto de fusión - Aprox. a 115 °C.

Ácido litocólico - $C_{24}H_{40}O_3$ - (PM: 376,6) - Polvo blanco.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100.

Cromatografía) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno, 1,4-dioxano y ácido acético (15,2:4,2:0,6).

Revelador - Ácido sulfúrico y metanol (1:1).

Procedimiento - Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar a 110 °C durante 20 minutos. Examinar la placa visualmente y bajo luz ultravioleta a 366 nm.

Intervalo de fusión <260> - Entre 184 y 186 °C.

Ácido maleico - $C_4H_4O_4$ - (PM: 116,1) - Polvo blanco, inodoro, cristalino. Fácilmente soluble en agua, alcohol; soluble en éter.

Valoración - Disolver aproximadamente 2 g, exactamente pesados, en 100 ml de agua y titular con hidróxido de sodio 1 N (SV), empleando fenolftaleína (SR) como indicador. Cada mililitro de hidróxido de sodio 1 N equivale a 58,04 mg de $C_4H_4O_4$. Contiene no menos de 99 % de $C_4H_4O_4$, calculado sobre la sustancia seca.

Pérdida por secado - Secar al vacío sobre pentóxido de fósforo durante 2 horas: no pierde más de 1,5 % de su peso.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,1 %.

Ácido metacrílico - Emplear uno de grado apropiado.

Ácido metafosfórico - (*Metafosfato ácido de sodio vítreo*) - HPO_3 - (PM: 80,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido metanosulfónico - CH_3O_3S - (PM: 96,1) - Emplear uno de grado apropiado.

Ácido 5-metoxi-2-metil-3-indolacético - (PM: 219,2) - $C_{12}H_{13}NO_3$ - Polvo casi blanco.

Valoración - Transferir aproximadamente 110 mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados de 100 ml. Agregar 30 ml de metanol y disolver mediante agitación. Agregar 40 ml de agua y mezclar. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 21,92 mg de $C_{12}H_{13}NO_3$. Contiene no menos de 98 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 161 y 168 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 3 °C.

Ácido molibdico - (*Ácido molibdico al 85 %*) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido monocloroacético - $CH_2ClCOOH$ - (PM: 94,5) - Cristales incoloros o blancos, deliquescentes, inodoros en frío. Muy soluble en

agua; soluble en alcohol y éter. Almacenar en envases bien cerrados, en un sitio fresco.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 3 g, transferirlos a un envase apropiado y disolver en 50 ml de agua. Agregar fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 1 N (SV). Cada mililitro de hidróxido de sodio 1 N equivale a 94,50 mg de CH_2ClCOOH . Contiene no menos de 99,0 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 61,0 y 64,0 °C.

Materia insoluble - No más de 1,0 mg, determinado sobre 10 g (0,010 %).

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 5,0 g; el residuo no pesa más de 1,0 mg (0,02 %). [NOTA: retener el residuo.]

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,01 mg de Cl (0,001 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. 1 g no presenta más de 0,2 mg de SO_4 (0,02 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - Ensayar 2,0 g; no más de 0,001 %.

Hierro <580> - Digerir el residuo remanente del ensayo para *Residuo de ignición* con 6 ml de ácido clorhídrico en un baño de vapor hasta disolución completa luego diluir con agua a 150 ml. A 10 ml de la solución agregar 1,5 ml de ácido clorhídrico y diluir con agua a 47 ml: la solución no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,003 %).

Ácido 2-naftalenosulfónico - $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_3\text{S} \cdot \text{H}_2\text{O}$ - (PM: 226,3) - Cristales casi blancos a gris claro. Soluble en agua.

Valoración - Disolver aproximadamente 1 g, exactamente pesado, en 100 ml de agua, agregar fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 22,63 mg de $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_3\text{S} \cdot \text{H}_2\text{O}$. Contiene no menos de 98,0 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 122 y 126 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 2 °C.

Ácido

N-(2-hidroxi)etil)piperazina-N'-2-etanosulfónico
- Ver HEPES.

Ácido nicotínico - Emplear *Niacina*.

Ácido nítrico - HNO_3 - (PM: 63,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido nítrico fumante - (*Ácido nítrico al 90 %*)
- HNO_3 - (PM: 63,0) - Emplear Ácido nítrico al 90 %.

Ácido nítrico diluido - (*Ácido nítrico al 10 %*)
- Diluir 105 ml de ácido nítrico con agua a 1 litro.

Ácido nítrico libre de plomo - Emplear un reactivo analítico apropiado.

A 100 g agregar carbonato de sodio anhidro y evaporar a sequedad. Disolver el residuo en agua, calentando suavemente y diluir a 50 ml con el mismo solvente.

Determinar el contenido de plomo por espectrometría de absorción atómica midiendo la absorbancia a 283,3 nm o 217,0 nm, utilizando una lámpara de cátodo hueco y una llama de acetileno e. No debe contener más de 0,0001 % de plomo.

Ácido nitrilotriacético - $\text{N}(\text{CH}_2\text{COOH})_3$ - (PM: 191,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido nonanoico - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido oxálico - $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 126,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido palmítico - (*Ácido hexanodecanoico*) - $\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$ - (PM: 256,4) - Escamas blancas cristalinas. Fácilmente solubles en alcohol caliente y éter; prácticamente insoluble en agua.

Ácido paraaminobenzoico - (*Ácido p-aminobenzoico*) - $\text{H}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{COOH}$ - (PM: 137,1) - Cristales o polvo cristalino blanco o algo amarillo, inodoro, se decolora por exposición al aire o a la luz. Fácilmente soluble en agua hirviendo, alcohol, soluciones de hidróxidos alcalinos y carbonatos; soluble en glicerina caliente; moderadamente soluble en ácido clorhídrico diluido y éter; poco soluble en cloroformo y agua. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto.

Valoración - Pesar con exactitud 300 mg, previamente secados a 105 °C durante 2 horas y transferir a un vaso de precipitados o cristizador. Agregar 5 ml de ácido clorhídrico y 50 ml de agua y agitar hasta disolución. Enfriar a aproximadamente 15 °C, agregar aproximadamente 25 g de hielo molido. Titular lentamente con nitrito de sodio 0,1 M (SV) hasta que una varilla de vidrio sumergida en la solución de titulación produzca inmediatamente un anillo azul cuando toca un papel de yoduro de almidón. Cuando la titulación se completa, el punto final es reproducible después de que la mezcla se ha dejado reposar durante 1 minuto. Cada mililitro de nitrito de sodio 0,1 M equivale a 13,71 mg de $\text{C}_7\text{H}_7\text{NO}_2$. Contiene no menos de 98,5 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 186 y 189 °C.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 2 horas: no pierde más de 0,2 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,1 %.

Ácido perclórico - (*Ácido perclórico al 70 %*) - HClO_4 - (PM: 100,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado (que contenga entre 70,0 y 72,0 % de HClO_4).

Ácido periódico - H_5IO_6 - (PM: 227,9) - Cristales de color blanco a amarillo pálido. Muy soluble en agua. Experimenta descomposición lenta a ácido iódico.

Valoración - Disolver aproximadamente 120 mg, exactamente pesados, en agua. Agregar 5 ml de ácido clorhídrico y 5 g de ioduro de potasio luego agregar 3 ml de almidón (SR) y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 2,849 mg de H_5IO_6 . Contiene no menos de 99 %.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1,0 mg, determinado sobre 10,0 g (0,01 %).

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 2 mg, determinado sobre 10,0 g, someter a ignición durante 10 minutos (0,02 %). [NOTA: retener para el ensayo de *Metales pesados*.]

Sulfato - Pesar exactamente 1 g, agregar de 10 a 20 mg de carbonato de sodio anhidro y evaporar hasta sequedad tres veces con porciones de 5 ml de ácido clorhídrico. Disolver en 25 ml de agua, agregar 1 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 10) luego agregar 1 ml de cloruro de bario (SR) y comparar la turbidez con la *Solución de sulfato estándar* (ver *Sulfato en Reactivos*). 1 g no presenta más de 0,1 mg de SO_4 (0,01 %).

Otros halógenos - Disolver 1,0 g en 100 ml de agua, agregar 1 ml de ácido fosfórico y 5 ml de peróxido de hidrógeno al 30 % y calentar a ebullición para liberar el iodo. Diluir con agua a 100 ml. A una alícuota de 20 ml, agregar 3 ml de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata (SR). Comparar la turbidez con la de una solución preparada en forma similar con *Solución de cloruro estándar* (ver *Cloruro en Reactivos*) que contenga 0,02 mg de cloruro (0,01 %).

Metales pesados - Al *Residuo de ignición* agregar varias gotas de ácido acético y calentar para disolver. Transferir a un tubo de ensayo y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR). Comparar el color con el de *Solución de plomo estándar* (ver 590. *Límite de metales pesados*) que contenga 0,5 mg de Pb (0,005 %).

Hierro - Disolver 1,0 g en 50 ml de agua, agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 2) y 10 ml de solución de clorhidrato de hidroxilamina (1 en 5) y evaporar hasta sequedad para liberar el

iodo. Disolver el residuo en agua, agregar 2 ml de solución de 1,10-fenantrolina (1 en 1000) y 10 ml de solución de acetato de sodio (1 en 5) y comparar el color con el de una solución que contiene 0,03 mg de hierro, tratado en forma similar (0,003 %).

Ácido pícrico - (2, 4, 6-Trinitrofenol; *Trinitrofenol*) - $\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})(\text{NO}_2)_3$ -1,2,4,6 - (PM: 229,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido picrolónico - [3-Metil-4-nitro-1-(p-nitrofenil)-5-pirazolona.] - $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_5$ - (PM: 264,2) - Polvo cristalino amarillo a amarillo pardusco. Poco soluble en agua; soluble en alcohol, cloroformo, éter y en soluciones de hidróxidos alcalinos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 115 y 117 °C.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 200 mg.

Sensibilidad - Disolver 25 mg en 10 ml de agua caliente que contenga 0,1 ml de ácido acético glacial y filtrar la solución, si fuera necesario. Disolver 100mg de cloruro de calcio en 250 ml de agua y mezclar. Calentar 1 ml de la solución de cloruro de calcio en un tubo de ensayo a aproximadamente 60 °C luego agregar 1 ml de la solución de ácido picrolónico: se forma un precipitado voluminoso en 5 minutos o menos.

Ácido pirúvico - CH_3COCOOH - (PM: 88,1) - Líquido incoloro a amarillo claro. Miscible con agua, alcohol y éter. Índice de refracción: aproximadamente 1,43, a 20 °C.

Valoración - Transferir 1 g, exactamente pesado, a un envase apropiado y agregar 100 ml de agua. Mezclar, agregar fenoltaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,5 N (SV). Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,5 N equivale a 44,03 mg de CH_3COCOOH . Contiene no menos de 98,5 % de CH_3COCOOH .

Ácido quenodesoxicólico - $\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{O}$ - (PM: 92,6) - Polvo de color blanco o casi blanco.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con una mezcla para cromatografía en fase reversa C18 con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Ácido acético 1 N en metanol y ácido acético 1 N (19:1).

Revelador - Ácido sulfúrico y metanol (1:1).

Procedimiento - Pulverizar sobre la placa con *Revelador*, calentar a 110 EC durante 20 minutos. Examinar visualmente y bajo luz ultravioleta a 366 nm: se observa una sola mancha.

Intervalo de fusión <260> - Entre 165 y 168 °C.

Ácido selenioso - (*Ácido selenoso*) - H_2SeO_3 - (PM: 129,0) - Cristales incoloros o blancos, eflorescentes al aire seco e higroscópicos al aire húmedo. Soluble en agua y alcohol.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 100 mg, transferir a un erlenmeyer con tapón de vidrio y disolver en 50 ml de agua. Agregar 10 ml de solución de ioduro de potasio (3 en 10) y 5 ml de ácido clorhídrico, mezclar, insertar el tapón en el erlenmeyer y dejar reposar durante 10 minutos. Diluir con 50 ml de agua, agregar 3 ml de almidón (SR) y titular con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV) hasta que el color ya no disminuya. Luego titular con iodo 0,1 N (SV) hasta color azul. Restar el volumen de solución de iodo 0,1 N del volumen de tiosulfato de sodio 0,1 N para obtener el volumen de tiosulfato 0,1 N equivalente a ácido selenioso. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 3,225 mg de H_2SeO_3 . Contiene no menos de 93 %.

Materia insoluble - Disolver 1 g en 5 ml de agua: la solución es transparente y no presenta residuo.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 1,0 mg, determinado sobre 10 g (0,01 %).

Selenato y sulfato - Disolver 500 mg en 10 ml de agua y agregar 0,1 ml de ácido clorhídrico y 1 ml de cloruro de bario (SR): no se observa turbidez ni precipitado dentro de los 10 minutos de preparación.

Ácido silícico - $\text{SiO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 60,1-anhidro) - Polvo blanco, amorfo. Insoluble en agua y ácido; soluble en soluciones calientes de álcalis fuertes.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No menos de 80,0 %.

Residuo no volátil con ácido fluorhídrico - Calentar 500 mg con 1 ml de ácido sulfúrico y 10 ml de ácido fluorhídrico en un crisol de platino hasta sequedad y someter a ignición hasta peso constante: el peso del residuo no excede 1,0 mg (0,2 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,05 mg de Cl (0,005 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - Calentar a ebullición 2 g con 20 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 40), filtrar, neutralizar el filtrado con amoníaco (SR) y diluir con agua a 20,0 ml. Una alícuota de 10 ml de la solución no presenta más de 0,1 mg de SO_4 (0,01 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - Calentar a ebullición 2,5 g con 50 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 10) durante 5 minutos,

filtrar mientras esté caliente y evaporar el filtrado en un baño de vapor hasta sequedad. Tomar el residuo en 20 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 500), digerir durante 5 minutos, enfriar, agregar agua para obtener 100 ml y filtrar. Agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR) a 40 ml del filtrado: el color que se produzca no debe ser más oscuro que el producido al agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR) a un control que contenga 0,03 mg de Pb (0,003 %).

Hierro <580> - Agregar a 20 ml del filtrado obtenido en el ensayo de *Metales pesados*, 1 ml de ácido clorhídrico y diluir con agua a 47 ml: la solución no presenta más de 0,015 mg de Fe (0,003 %).

Ácido silicotúngstico, n-hidratado - (*Ácido tungstosilícico*) - $\text{H}_4\text{Si}(\text{W}_3\text{O}_{10})_4 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 2.878,3 - anhidro) - Polvo verde.

Valoración - Disolver aproximadamente 1 g, exactamente pesado, en 25 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 5). Agregar 50 ml de una solución de 5 g de cinconina en ácido clorhídrico diluido (1 en 2). Calentar en un baño de vapor durante aproximadamente 30 minutos. Enfriar, filtrar a través de un crisol previamente pesado y someter a ignición a 800EC hasta peso constante. El peso del residuo multiplicado por 1,047 es igual al peso de ácido silicotúngstico dihidrato en la muestra tomada. Contiene no menos de 98 %.

Ácido sulfámico - HSO_3NH_2 - (PM: 97,1) - Cristales incoloros o blancos. Soluble en agua; poco soluble en alcohol.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 400 mg, previamente secados sobre ácido sulfúrico durante 2 horas y disolver en 30 ml de agua contenida en un erlenmeyer. Agregar fenoltaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV). Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 9,709 mg de HSO_3NH_2 . Contiene no menos de 99,5 %.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 10 g disueltos en 200 ml de agua (0,01 %).

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 5 g: el residuo no pesa más de 0,5 mg (0,01 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,01 mg de Cl (0,001 %).

Metales pesados <590> - Disolver 4 g en 30 ml de agua, neutralizar con agua de amoníaco fuerte frente al papel de tornasol y diluir con agua a 40 ml. Agregar a 30 ml, 2 ml de ácido acético diluido, diluir con agua a 40 ml y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): cualquier color pardo producido no es más oscuro que el de un control que contenga

los restantes 10 ml de solución muestra y 0,02 mg de Pb (0,001%).

Hierro <580> - 2 g, disueltos en 47 ml de agua que contenga 2 ml de ácido clorhídrico, no presentan más de 0,01 mg de Fe (5 ppm).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. Disolver 1 g en 50 ml de agua: 20 ml de solución no presentan más de 0,2 mg de SO₄ (0,05 %).

Ácido sulfanílico - p-NH₂C₆H₄SO₃H · H₂O - (PM: 191,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido sulfosalicílico - (PM: 254,2) - C₆H₃(COOH)(OH)(SO₃H)-1,2,5 · 2H₂O - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido sulfúrico - H₂SO₄ - (PM: 98,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido sulfúrico diluido (10 %) - Agregar con precaución, 57 ml de ácido sulfúrico a aproximadamente 100 ml de agua, enfriar a temperatura ambiente y diluir a 1 litro con agua.

Ácido sulfúrico fluorométrico - Emplear Ácido sulfúrico grado analítico que cumpla con el siguiente ensayo:

Fluorescencia - Empleando un fluorómetro apropiado que posea un filtro de excitación de corte bien definido de 360 nm y un filtro de excitación de corte bien definido de 415 nm, determinar la fluorescencia del ácido sulfúrico en una cubeta previamente lavada con agua seguida de varias porciones del ácido a ensayar: la fluorescencia no excede la de la solución de sulfato de quinina (1 en 1.600.000.000), medida en forma similar.

Ácido sulfuroso - H₂SO₃ - (PM: 82,1) - Una solución de dióxido de azufre en agua. Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido tánico - (*Tanino*) - Escamas brillantes amarillentas a marrón claro o polvo amorfo. Es inodoro o con olor débil, característico. Muy soluble en agua y alcohol; menos soluble en alcohol absoluto. Soluble en acetona; prácticamente insoluble en cloroformo y éter. Almacenar en envases inactivos.

Solubilidad - Una solución de 2 g en 10 ml de agua es transparente o prácticamente transparente.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 1 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,1 %).

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 3 horas: no pierde más de 12 % de su peso.

Dextrina, goma y sustancias resinosas - Disolver 2 g en 10 ml de agua caliente: la solución es transparente o no más que débilmente turbia. Filtrar si fuera necesario y dividir el filtrado en dos

porciones iguales. Agregar a una porción 10 ml de alcohol. Agregar a la otra porción 10 ml de agua: no se produce turbidez en ninguna de las soluciones.

Metales pesados - Agregar al *Residuo de ignición* 1 ml de ácido clorhídrico y 1 ml de ácido nítrico y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Tomar con 1 ml de ácido clorhídrico 1 N y unos pocos ml de agua caliente, diluir con agua a 40 ml y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): cualquier color pardo producido no es más oscuro que el de un control que contenga 0,02 mg de Pb (0,002 %).

Ácido tartárico - H₂C₄H₄O₆ - (PM: 150,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido 2-tiobarbitúrico - C₄H₄N₂O₂S - (PM: 144,6) - Laminillas blancas. Poco soluble en agua.

Punto de fusión <260> - Aprox. 236 °C, con descomposición.

Ácido tioglicólico - HSCH₂COOH - (PM: 92,1) - Líquido incoloro o casi incoloro, teniendo un olor fuerte, desagradable. Miscible con agua. Soluble en alcohol.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,1 %.

Solubilidad - Una solución de 1 ml en 10 ml de agua es transparente e incolora.

Sensibilidad - Mezclar 1 ml con 2 ml de agua de amoníaco fuerte y diluir con agua a 20 ml. Agregar 1 ml de esta solución a una mezcla de 20 ml de agua y 0,1 ml de cloruro férrico (SR) diluido (1 en 100), agregar luego 5 ml de amoníaco (SR): se produce un color rosado característico.

Ácido p-toluenosulfónico - CH₃C₆H₄SO₃H · H₂O (PM: 190,2) - Cristales higroscópicos o polvo cristalino blanco. Soluble en agua, alcohol y éter.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 5 g, secar previamente sobre ácido sulfúrico durante 18 horas y disolver en aproximadamente 250 ml de agua contenida en un erlenmeyer de 500 ml. Agregar 0,15 ml de azul de bromotimol (SR) y titular con hidróxido de sodio 1 N (SV) hasta punto final azul. Cada mililitro de hidróxido de sodio 1 N equivale a 190,2 mg de CH₃C₆H₄SO₃H · H₂O. Contiene no menos de 99 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 104 y 106 °C, cuando la muestra se seca sobre ácido sulfúrico durante 18 horas.

Pérdida por secado <680> - Secar sobre ácido sulfúrico hasta peso constante: no pierde más de 1 % de su peso.

Solubilidad - Porciones separadas de 200 mg se disuelven completamente en 5 ml de alcohol y en 5 ml de éter, respectivamente.

Residuo de ignición <270> - Inapreciable, determinado sobre 200 mg.

Sulfato libre - Disolver 500 mg en 10 ml de agua y agregar 1 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 20) y 1 ml de cloruro de bario (SR): cualquier turbidez producida dentro de los 10 minutos no excede la de un control que contenga 0,05 mg de SO₄ (0,01 %).

Ácido *p*-toluico - CH₃C₆H₄COOH - (PM: 136,2) - Polvo blanco, cristalino. Moderadamente soluble en agua caliente; muy soluble en alcohol, metanol y éter.

Valoración - Transferir aproximadamente 650 mg, exactamente pesados, a un envase apropiado, disolver en 125 ml de alcohol, agregar 25 ml de agua y mezclar. Titular con hidróxido de sodio 0,5 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,5 N equivale a 68,07 mg de C₈H₈O₂. Contiene no menos de 98 %.

Intervalo de fusión <260> - Aprox. 181 ± 2 °C.

Ácido tricloroacético - CCl₃COOH - (PM: 163,4) Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido trifluoroacético - C₂HF₃O₂ - (PM: 114,0) - Líquido incoloro. Miscible con éter, acetona, etanol, tetracloruro de carbono y hexano.

Valoración - Disolver aproximadamente 300 mg, exactamente pesados, en 25 ml de agua y 25 ml de alcohol. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 11,40 mg de C₂HF₃O₂. Contiene no menos de 99 %.

Ácido 2,4,6-trinitrobencenosulfónico - (PM: 347,2) - C₆H₂(NO₂)₃SO₃H · 3H₂O - Cristales de color amarillo pálido a pardo.

Valoración - Disolver aproximadamente 300 mg, exactamente pesados, en una mezcla de 25 ml de agua y 25 ml de alcohol. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando potenciométricamente el punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 29,32 mg de C₆H₂(NO₂)₃SO₃H. Contiene no menos de 98 %.

Ácido valérico - C₅H₁₀O₂ - (PM: 102,1) - Líquido transparente, incoloro.

Valoración - Pesa exactamente alrededor de 500 mg, transferir a un recipiente apropiado, agregar

30 ml de agua y mezclar. Agregar 40 ml de agua y mezclar. Agregar fenoltaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV). Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 10,21 mg de C₅H₁₀O₂: no debe contener menos de 99,0 % de C₅H₁₀O₂.

Acrilamida - (*Propenamida*) - C₃H₅NO - (PM: 71,1) - Polvo cristalino blanco o casi blanco, o escamas incoloras o blancas. Muy solubles en agua y metanol; fácilmente solubles en etanol. Punto de fusión: aproximadamente 84 °C.

Acrilato de etilo - Emplear uno de grado apropiado.

Adamantano - C₁₀H₁₆ - (PM: 136,2) -

Intervalo de fusión <260> - Entre 270 y 271 °C.

Agar - Emplear *Agar*. Cuando se emplea para fines bacteriológicos, debe secarse hasta que el contenido de agua no supere el 20 %.

Agarosa para cromatografía - Constituido por perlas hinchadas con un diámetro de 60 a 140 μm y presentado en forma de suspensión de 40 g por litro en agua. Se emplea para el fraccionamiento, por cromatografía de exclusión, de las proteínas de pesos moleculares relativos de 6 × 10⁴ a 20 × 10⁶ y de los poliósidos de pesos moleculares relativos entre 3 × 10⁴ y 5 × 10⁶.

Agarosa para electroforesis - Polisacárido neutro, lineal, cuyo componente principal procede del agar-agar. Polvo blanco o casi blanco. Muy poco soluble en agua caliente; prácticamente insoluble en agua fría.

Agar de sulfito de bismuto - Emplear uno de grado apropiado.

Agente Humectante No Iónico - Emplear un agente tensioactivo anfótero apropiado.

[NOTA: un grado adecuado está disponible comercialmente como Tritón X-100 u Octoxinol 9].

Agua de bromo - Ver *Bromo (SR)*.

Agua desaireada - Ver *Definiciones: Agua, en Consideraciones generales*.

Agua deuterada - Ver Óxido de deuterio.

Agua de alta pureza - Tiene una conductividad no mayor de 0,15 μS por cm medida con una celda en-línea justo antes de la dispensación determinada a 25 °C. Debe asegurarse que este agua no esté contaminada con cobre o sus productos por ej., cañerías de cobre o recipientes. El agua puede prepararse haciendo pasar el agua destilada a través de un cartucho desionizador relleno con un lecho mixto de resina

granular. Luego se la hace pasar a través de una membrana de éster de celulosa de poro no mayor de $0,45 \mu\text{m}^3$. No se debe emplear tuberías de cobre. Enjuagar las líneas de escape antes de que el agua se dispense dentro de los recipientes de ensayo. Cuando no se puede lograr la conductividad especificada, se debe reemplazar el cartucho desionizador.

Agua de amoníaco fuerte - (*Hidróxido de amonio*) - Emplear Hidróxido de amonio grado reactivo.

Agua grado HPLC - H_2O - (PM: 18,0) - Líquido incoloro.

Características de absorción - Determinar la absorbancia ultravioleta en una celda de 1 cm, empleando agua como blanco. Los máximos de absorbancia son 0,01; 0,01 y 0,005 a 190, 200 y entre 400 y 250 nm, respectivamente.

Residuo de evaporación - Evaporar un volumen, exactamente medido, en un baño de vapor hasta sequedad y secar el residuo a 105°C durante 1 hora: no más de 3 ppm.

Alambre de hierro - Fe - (PA: 55,85) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Albúmina bovina - Polvo blanco a amarillo pardusco pálido. Debe contener no menos de 96 % de proteínas totales.

Agua <120> - No más de 3,0 %, determinada sobre 0,800 g.

Cuando es utilizada para valoración biológica de tetracosactida, debe estar libre de patógenos, de actividad proteolítica y de actividad corticosteróide.

Albúmina humana - Seroalbúmina humana. No debe contener menos de 96 % de albúmina.

Alcohol - $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ - (PM: 46,1) - Emplear *Alcohol*.

Alcohol absoluto - (*Alcohol deshidratado*) - $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ - (PM: 46,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Alcohol 70 % , 80 % y 90 % - Preparar mediante la mezcla de alcohol y agua en las proporciones correspondientes, realizando las mediciones a 25°C .

Las proporciones de alcohol y agua tomadas para preparar las soluciones, en % (v/v) se pueden determinar del siguiente modo.

Calcular la cantidad de agua, en ml, que se va a mezclar con 100 ml de alcohol por la fórmula siguiente:

$$[94,9 (d/C) - 0,8096]100$$

en la cual 94,9 es el % v/v de $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ en alcohol, 0,8096 es la densidad relativa de alcohol al 94,9 %,

d es la densidad relativa de la solución que contiene *C* % v/v de $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, obtenido a partir de la tabla alcoholimétrica (ver *Determinación de la concentración alcohólica en peso y en volumen de agua, según K. Windisch, en Tablas*) y 100 es el volumen, en ml, de alcohol tomado.

Alcohol amílico - (*Alcohol isoamílico*) - $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{OH}$ (PM: 88,6) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Alcohol ter-amílico - $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{O}$ - (PM: 88,2) - Líquido transparente, incoloro, inflamable, volátil con olor característico. Densidad relativa: aproximadamente 0,81.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 100 y 103°C .

Residuo de evaporación - Evaporar 50 ml (40 g) en un baño de vapor y secar a 105°C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 1,6 mg (0,004 %).

Ácidos y ésteres - Diluir 20 ml con 20 ml de alcohol, agregar 5,0 ml de hidróxido de sodio 0,1 N (SV) y calentar a reflujo suavemente durante 10 minutos. Enfriar, agregar 2 gotas de fenoltaleína (SR) y titular el hidróxido de sodio en exceso con ácido clorhídrico 0,1 N (SV). No se requieren más de 0,75 ml de hidróxido de sodio 0,10 N. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (0,06 % como acetato de amilo).

Aldehídos - Agitar 5 ml con 5 ml de solución de hidróxido de potasio (30 en 100) en una probeta con tapón de vidrio durante 5 minutos y dejar que se separen las fases: no se desarrolla color en cualquiera de las fases.

Alcohol bencílico - $\text{C}_7\text{H}_8\text{O}$ - (PM: 108,1) - Emplear *Alcohol bencílico*.

Alcohol butílico - (*1-Butanol; Alcohol butílico normal*) - $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2\text{OH}$ - (PM: 74,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Alcohol n-butílico - Ver Alcohol butílico.

Alcohol butílico normal - Ver Alcohol butílico.

Alcohol butílico secundario - (*2-Butanol*) - $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ - (PM: 74,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Alcohol butílico terciario - $(\text{CH}_3)_3\text{COH}$ - (PM: 74,1) - Cristales incoloros, tornándose líquido a una temperatura mayor de $25,5^\circ\text{C}$. Tiene un olor semejante al alcanfor. Miscible con agua y solventes orgánicos comunes.

Miscibilidad - Mezclar 5 ml con 15 ml de agua y mezclar otros 5 ml con 15 ml de disulfuro de carbono. Dejar que cada mezcla repose durante

15 minutos: ambas mezclas no son más turbias que un volumen igual del diluyente.

Densidad relativa <160> - No menos de 0,778 y no más de 0,782.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 82,5 y 83,5 °C.

Temperatura de solidificación <180> - No menos de 25 °C.

Residuo de evaporación - Evaporar aproximadamente 20 g, exactamente pesados, en un crisol en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: contiene no más de 0,005 %.

Acidez - Agregar 20 ml a 20 ml de agua previamente neutralizada frente a la fenoltaleína (SR) con hidróxido de sodio 0,02 N, mezclar. Titular con hidróxido de sodio 0,020 N hasta que el color rosado se restaure: se requieren no más de 0,40 ml (aproximadamente 0,003 % como CH₃COOH).

Alcalinidad - Diluir 10 ml con 20 ml de agua y agregar 1 gota de rojo de metilo (SR): si la solución es amarilla, se requiere no más de 0,25 ml de ácido sulfúrico 0,020 N para cambiarla a color rosado (aproximadamente 0,001 % como NH₃).

Alcohol deshidratado - Ver Alcohol absoluto.

Alcohol diluido - Diluir 100 ml de Alcohol con 100 ml de agua.

Alcohol 3,4-dimetoxibencílico - (CH₃O)₂C₆H₃CH₂OH - (PM: 168,2) - Emplear un reactivo analítico de grado apropiado.

Alcohol dodecílico - Ver 1-Dodecanol.

Alcohol etílico - (*Alcohol; Etanol*) - C₂H₅OH - (PM: 46,1) - Ver Alcohol.

Alcohol 2-hidroxibencílico - C₇H₈O₂ - (PM: 124,1) - Escamas casi blancas. Muy soluble en alcohol, cloroformo y éter; soluble en agua.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de 30 m × 0,25 mm, recubierta con una capa de 1 μm de una fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un aumento de 10 °C por minuto hasta alcanzar 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico C₇H₈O₂ no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 83 y 85 °C.

Alcohol isoamílico - Ver Alcohol amílico.

Alcohol isobutílico - (*2-Metil-1-propanol*) - (PM: 74,1) - (CH₃)₂CHCH₂OH - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Alcohol isopropílico - (*2-Propanol*) - (PM: 60,1) - (CH₃)₂CHOH - Emplear un reactivo analítico apropiado.

[NOTA: para valoraciones y ensayos que incluyen espectrofotometría ultravioleta, emplear un reactivo analítico apropiado para espectrofotometría ultravioleta.]

Alcohol isopropílico deshidratado - Emplear Alcohol isopropílico previamente secado agitándolo con un tamiz molecular apropiado capaz de absorber agua y filtrar.

Alcohol libre de aldehído - Disolver 2,5 g de acetato de plomo en 5 ml de agua, agregar la solución a 1 litro de alcohol contenido en una botella con tapón de vidrio y mezclar. Disolver 5 g de hidróxido de potasio en 25 ml de alcohol caliente, enfriar la solución y agregarla lentamente, sin agitar, a la solución alcohólica de acetato de plomo. Luego de 1 hora, agitar la mezcla vigorosamente, dejar que repose durante toda la noche, decantar el líquido transparente y recuperar el alcohol mediante destilación.

Alcohol metílico - Ver Metanol.

Alcohol neutralizado - A una cantidad apropiada de alcohol agregar 2 ó 3 gotas de fenoltaleína (SR) y la cantidad, exacta y suficiente, de hidróxido de sodio 0,1 N ó 0,02 N para producir un color rosado débil. Preparar el alcohol neutralizado antes de emplearlo.

Alcohol 1-nonílico - (*1-Nonanol*) - CH₃(CH₂)₈OH (PM: 144,3) - Líquido incoloro.

Valoración - Emplear un cromatógrafo de gases apropiado equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,83 m × 3,2 mm con fase estacionaria constituida por un compuesto de polietilenglicol al 20 % (p.m.p aproximadamente 15.000 [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido]) sobre soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na₂CO₃ y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido, luego se lava con agua hasta neutralidad, pero no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el inyector, la columna y el detector a aproximadamente 250, 160 y 310 °C, respectivamente. Se emplea helio como gas transportador con un caudal aproximado de

40 ml por minuto. Contiene no menos de 97 % de $C_9H_{20}O$.

Índice de refracción <230> - Entre 1,432 y 1,434, a 20 °C.

Alcohol polivinílico - $(C_2H_4O)_n$ - Polvo blanco. Soluble en agua; insoluble en solventes orgánicos.

pH <250> - Entre 5,0 y 8,0, en una solución (1 en 25).

Pérdida por secado <680> - Secar a 110 °C hasta peso constante: no pierde más de 5 % de su peso.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,75 %.

Alcohol *n*-propílico - (*1-Propanol*) - (PM: 60,1) - $CH_3CH_2CH_2OH$ - Líquido transparente, incoloro con olor a etanol. Miscible con agua y la mayoría de los solventes orgánicos. Densidad relativa: aproximadamente 0,803.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 95 y 98 °C.

Residuo de evaporación - Evaporar 25 ml (20 g) en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 1 mg (0,005 %).

Acidez - Agregar 0,2 ml de fenoltaleína (SR) a 20 ml de agua y titular con hidróxido de sodio 0,1 N hasta leve color rosado que persiste después de agitar. Agregar 10 ml del alcohol y titular con hidróxido de sodio 0,10 N: no se requiere más de 0,20 ml para restaurar el color rosado (aproximadamente 0,015 % como CH_3COOH).

Alcalinidad - Agregar 2 gotas de rojo de metilo (SR) a una solución de 6 ml en 25 ml de agua y titular con ácido sulfúrico 0,02 N: no se requiere más de 0,3 ml para producir color rojo (aproximadamente 0,002 % como NH_3).

Alcohol *ter*butílico - (*2-metil-2-propanol*; *1,1-dimetil etanol*) - $C_4H_{10}O$ - (PM: 74,1) - Líquido transparente o masa cristalina, incolora. Miscible con alcohol y éter. Soluble en agua.

Temperatura de solidificación - Aprox. 25 °C.

Intervalo de destilación - No menos del 95 % destila entre 81 y 83 °C.

Aldehído anísico - (*4-Metoxibenzaldehído*) - $C_8H_8O_2$ - (PM: 136,1) - Líquido oleoso. Miscible con alcohol y con éter. Muy poco soluble en agua.

Punto de ebullición (Ensayo para reactivos) - Aprox. 248 °C.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 30 a 60 m × 0,3 mm recubierta con polietilenglicol de peso molecular aproximadamente 20.000. Mantener el inyector entre 180 y 200 °C y el detector entre 220 y 250 °C. La temperatura de la columna se debe mantener a

60 °C durante 4 minutos y se debe programar un aumento de 2 °C por minuto hasta alcanzar 210 °C y se debe mantener a 210 °C durante 15 °C. Se emplea helio como gas transportador. La respuesta del pico principal no debe ser menor de 99 % de la suma de las respuestas totales.

Aldehído cinámico - (*3-Fenilpropenal*; *Cinamaldehído*) - C_9H_8O - (PM: 132,1) - Líquido oleoso de color amarillo o amarillo verdoso; muy soluble en alcohol y éter, poco soluble en agua. Proteger de la luz y el calor excesivo.

Densidad relativa <140> - Entre 1,048 y 1,051.

Índice de refracción <230> - Aprox. 1,620.

Aldehído deshidrogenasa - Emplear uno de grado apropiado.

Aptitud - Cuando se emplea para detectar acetaldehído, determinar si se obtiene un gráfico de absorbancia en función de la concentración de pendiente apropiada mediante el empleo de reactivo acetaldehídico, siendo la absorbancia del blanco de reactivos no mayor a 0,01.

Algodón absorbente - Emplear *Algodón purificado*.

Alizarinsulfonato sódico - (*Alizarina roja S*; *Alizarina sódica monosulfonato*) - $C_{14}H_7NaO_7S \cdot H_2O$ - (PM: 360,3) - Polvo amarillo pardo o amarillo anaranjado. Fácilmente soluble en agua, proporcionando una solución de color amarillo; moderadamente soluble en alcohol.

Sensibilidad - Agregar 3 gotas de una solución (1 en 100) a 100 ml de agua y agregar 0,25 ml de hidróxido de sodio 0,02 N: se produce un color rojo. Agregar 0,25 ml de ácido clorhídrico 0,02 N: retorna el color amarillo original.

Almidón de papa - Es el almidón separado de los tubérculos de *Solanum tuberosum* Linneo (Fam. Solanaceae). Polvo más o menos finamente granular, que cuando se examina al microscopio consiste en granos de almidón de forma y apariencia característica.

Almidón soluble (para iodimetría) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Almidón soluble purificado - Polvo blanco, amorfo; al examinar al microscopio presenta la forma característica del almidón de papa. Soluble en agua caliente; poco soluble en alcohol.

Solución muestra para determinación de pH y sensibilidad - Agitar 2,0 g en 10 ml de agua, agregar agua a ebullición hasta completar 100 ml y llevar a ebullición durante 2 minutos. La solución caliente es casi transparente. Enfriar, la solución puede tornarse opalescente o turbia, pero no se

transforma en gel. Emplear esta solución como la *Solución muestra*.

pH <250> - El pH de la *Solución muestra* está entre 6,0 y 7,5.

Sensibilidad - Mezclar 2,5 ml de la *Solución muestra*, 97,5 ml de agua y 0,50 ml de iodo 0,010 N: se produce un color azul característico que desaparece con el agregado de 0,50 ml de tiosulfato de sodio 0,010 N.

Absorbancia - Preparar una solución reguladora de pH 5,3 disolviendo 43,5 g de acetato de sodio (trihidratado) y 4,5 ml de ácido acético glacial en agua, transferir la solución resultante a un matraz aforado de 250 ml, y completar con agua a volumen y mezclar. Disolver 1,00 g de *Almidón soluble purificado* en 2,5 ml de la solución reguladora por calentamiento, transferir a un matraz aforado de 100 ml, completar con agua a volumen y mezclar. Agregar 0,50 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml que contenga aproximadamente 75 ml de agua, 1 ml de ácido clorhídrico 1N y 1,5 ml de iodo 0,020 N, agitando por rotación el matraz durante el agregado. Completar con agua a volumen, mezclar y dejar reposar en la oscuridad durante 1 hora. La absorbancia de esta solución, medida a 575 nm en una celda de 1 cm contra un blanco, está entre 0,5 y 0,6.

Sustancias reductoras - Agitar 10,0 g con 100 ml de agua durante 15 minutos y dejar reposar aproximadamente 12 horas. Filtrar una porción de la solución sobrenadante a través de un vidrio fino sinterizado. Agregar a 50 ml del filtrado 50 ml de tartrato cúprico alcalino (SR) y calentar a ebullición durante 1 a 2 minutos. Filtrar el óxido cuproso resultante, lavar con agua caliente y luego con alcohol y secar a 105 °C durante 2 horas: no contiene más de 47 mg y corresponde a 0,7 % de azúcares reductores como maltosa.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 2 horas: no pierde más de 10 % de su peso.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,5 %.

Aloína - (*Barbalonina*, *1,8-Dihidroxi-3-hidroximetil-10-β-D-glucopiranosil-10H-9-antracena*) - $C_{21}H_{22}O_9 \cdot H_2O$ - (PM: 436,4) - Polvo cristalino amarillo a amarillo fuerte, o agujas amarillas que se ennegrecen por exposición al aire y a la luz, solubles en acetona, amoníaco y soluciones de hidróxidos alcalinos, bastante solubles en alcohol y agua, muy poco solubles en éter.

Absortividad - Su coeficiente de extinción específica (1%, 1 cm) a 269 nm debe ser 192, a 296 nm debe ser 226 y a 354 nm debe ser 259. [NOTA: preparar las soluciones en metanol y calcular con respecto a la sustancia anhidra.]

Cromatografía -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo, metanol y agua (100:17:13).

Revelador - Disolver 50 g hidróxido de potasio en 1 litro de alcohol al 50 % v/v.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 10 µl de una solución de 2 mg de aloína por ml de alcohol al 70 % v/v. Desarrollar el cromatograma hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente la mitad de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, dejar secar, pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar entre 100 y 105 °C durante 15 minutos. Examinar bajo luz ultravioleta a 365 nm: el cromatograma debe presentar sólo una mancha amarillo pardusca en la parte central.

Alquilfenoxipolietoxietano - Agente tensioactivo no iónico. Emplear uno de grado apropiado.

Alumbre - (*Alumbre de amonio; Sulfato de amonio y aluminio*) - $AlNH_4(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ - (PM: 453,3) - Cristales grandes, incoloros o fragmentos cristalinos o polvo blanco. Fácilmente soluble en agua; muy soluble en agua hirviendo; insoluble en alcohol.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 10 g (0,01 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 2 g no presentan más de 0,02 mg de Cl (0,001 %).

Alcalinos y alcalino térreos - Disolver 2 g en 140 ml de agua, agregar 2 gotas de naranja de metilo (SR) luego agregar amoníaco (SR) en porciones hasta que el color se vuelva amarillo. Calentar a ebullición durante 2 minutos, diluir con agua a 150 ml y filtrar. Evaporar 75 ml del filtrado y someter el residuo a ignición: el residuo no pesa más de 2,5 mg (0,25 %).

Arsénico (Ensayo para reactivos) - La mancha producida por 1 g no excede a la producida por 0,002 mg de As (2 ppm como As).

Metales Pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 0,001 %.

Hierro <580> - Disolver 1,0 g en 40 ml de agua, agregar 4 ml de ácido clorhídrico, mezclar y diluir con agua a 50 ml. Diluir 25 ml de esta solución con agua a 47 ml: la solución no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,002 %).

Alumbre de amonio - Ver Alumbre.

Alumbre de potasio - Emplear *Alumbre de potasio*.

Alúmina - Ver Óxido de aluminio lavado con ácido.

Alúmina anhidra - (*Óxido de aluminio; Alúmina especialmente preparada para uso en análisis cromatográfico*) - Polvo blanco o prácticamente blanco, de 75 a 180 μm . No se ablanda, hincha, o descompone en agua. No está lavada con ácido. Almacenarla en envases bien cerrados.

Alúmina activada - Emplear uno de grado apropiado.

Aluminio - Al - (PA: 26,98) - Emplear un reactivo analítico apropiado, que también cumpla con los requisitos del ensayo se indica a continuación.

Arsénico - Transferir 750 mg a un generador (ver *Arsénico* en *Ensayos parar Reactivos*), omitiendo la torunda de algodón. Agregar 10 ml de agua y 10 ml de solución de hidróxido de sodio (3 en 10) y dejar que la reacción proceda durante 30 minutos: una mancha apenas perceptible se produce en el papel de bromuro mercuríco.

Amalgama de cinc - Agregar 54 g de cinc granular o en granallas a 100 ml de mercurio en un vaso de precipitados. Calentar, con agitación, en una placa calefactora bajo una campana extractora [*Precaución - Los vapores de mercurio son sumamente tóxicos*] hasta que el cinc se disuelva totalmente o prácticamente todo. Dejar enfriar a temperatura ambiente y, si fuera necesario, agregar mercurio suficiente para impedir la solidificación de la amalgama. Transferir la amalgama a una botella con tapón de vidrio y agitar unas pocas veces con ácido clorhídrico diluido (1 en 2), para remover el óxido de cinc formado.

Amarillo de tiazol - $\text{C}_{28}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{Na}_2\text{O}_6\text{S}_4$ - (PM: 695,7) - Polvo pardo amarillento. Soluble en agua y alcohol para proporcionar en cada caso una solución amarilla; soluble en álcali diluido para proporcionar una solución roja pardusca. Almacenar en envases inactínicos.

Solubilidad - 200 mg mezclados con 50 ml de agua no presentan más que una ligera turbidez.

Residuo de ignición - Pesar exactamente alrededor de 1,5 g, previamente secados a 105 °C durante 2 horas, y someter a ignición hasta carbonización completa. Enfriar, agregar 2 ml de ácido nítrico y 2 ml de ácido sulfúrico, someter a ignición suavemente para liberar el exceso de ácido, luego de 600 a 800 °C hasta peso constante: el residuo de sulfato de sodio (Na_2SO_4) está entre 19,8 y 21,5 % del peso de la muestra (el teórico es 20,4 %).

Sensibilidad al magnesio - Agregar 0,2 ml de una solución (1 en 10.000) y 2 ml de hidróxido de sodio 1 N a una mezcla de 9,5 ml de agua y 0,5 ml de una solución preparada al disolver 1,014 g de cristales transparentes de sulfato de magnesio en agua, diluir con agua a 100 ml luego diluir 10 ml de la solución resultante con agua a 1 litro: se produce un color rosado característico dentro de los 10 minutos de preparación.

α -Amilasa - Emplear uno de grado apropiado.

4-Aminoantipirina - $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}$ - (PM: 203,3) - Polvo cristalino amarillo brillante. 500 mg se disuelven completamente en 30 ml de agua, proporcionando una solución transparente.

Intervalo de fusión <260> - Entre 108 y 110 °C.

4-Aminobenzoato de metilo - $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_2$ - (PM: 151,2) - Polvo casi blanco.

Valoración - Disolver aproximadamente 38 mg, exactamente pesados, en 50 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 15,12 mg de $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_2$. Contiene no menos de 99,0 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 108 y 110 °C.

2-Aminobutanol - Líquido oleoso, miscible con agua; soluble en alcohol.

Densidad relativa <160> - Aproximadamente 0,94, a 20 °C.

Índice de refracción <230> - Aproximadamente 1,453, a 20 °C.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 178 y 182 °C.

4-Amino-6-cloro-1,3-bencenodisulfonamida - $\text{C}_6\text{H}_8\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S}_2$ - (PM: 285,7) - Polvo blanco, inodoro. Insoluble en agua y cloroformo; soluble en amoníaco (SR).

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 2 mg, determinado sobre 2 g (0,1 %).

Absorbancia - Una solución (1 en 200.000) en metanol presenta máximos de absorbancia a aproximadamente 223, 265 y 312 nm. Su absorbtividad (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) a 265 nm es aproximadamente 64,0.

Aminoclorobenzofenona - (*2-Amino-5-clorobenzofenona*) - $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{ClNO}$ - (PM: 231,7) - Polvo cristalino amarillo; fácilmente soluble en agua, soluble en alcohol, prácticamente insoluble.

Intervalo de fusión <260> - Aproximadamente 97 °C.

2-Aminoetildifenilborinato - $C_{14}H_{16}BNO$
(PM: 225,09) Polvo cristalino blanco. Emplear uno de grado apropiado.

1-(2-Aminoetil)piperazina - $C_6H_{15}N_3$ -
(PM: 129,2) - Líquido viscoso, incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 280 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 180 °C, se programa un ascenso de 10 °C por minuto y se mantiene a esa temperatura durante 10 minutos. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico principal no es menor de 97 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,4978 y 1,5010, a 20 °C.

2-Aminofenol - C_6H_7NO - (PM: 129,2) -
Polvo color casi blanco.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 0,25 mm \times 30 m recubierta con una capa de 1 μ m de goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 280 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 130 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar los 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de C_6H_7NO no es menor de 97 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 174 y 177 °C.

m-Aminofenol - C_6H_7NO - (PM: 109,1) -
Escamas de color crema a amarillo pálido. Moderadamente soluble en agua fría; fácilmente soluble en agua caliente, alcohol y éter.

Valoración - Disolver aproximadamente 1,5 g, exactamente pesados, en 400 ml de agua en un matraz aforado de 500 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 25,0 ml de esta solución a un matraz para iodo, agregar 50,0 ml de bromo 0,1 N (SV), diluir con 50 ml de agua, agregar 5 ml de ácido clorhídrico e insertar el tapón en el matraz de inmediato. Agitar durante 1 minuto, dejar reposar durante 2 minutos y agregar 5 ml de yoduro de potasio (SR) a través del tapón aflojado. Agitar vigorosamente, dejar reposar durante 5 minutos, remover el tapón y lavar éste y el cuello del matraz con 20 ml de agua, agregando el lavado al matraz. Titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. A partir del volumen de tiosulfato

de sodio 0,1 N empleado, calcular el volumen, en ml, de bromo 0,1 N consumido por la muestra. Cada mililitro de bromo 0,1 N equivale a 1,819 mg de C_6H_7NO . Contiene no menos de 99,5 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 121 y 123 °C.

Pérdida por secado <680> - Secar sobre cloruro de calcio durante 4 horas: la pérdida de peso es mínima.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 2 g.

p-Aminofenol - C_6H_7NO - (PM: 109,1) -
Polvo fino, amarillento, cristalino. Poco soluble en agua y alcohol.

Intervalo de fusión <260> - Entre 187 y 189 °C.

N-Aminohexametilenimina -
(*N-Aminohomopiperidina*;

1-Aminohomopiperidina) - $C_6H_{14}N_2$ - (PM: 114,2) -
Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 180 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 80 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 230 °C, manteniéndose a esa temperatura durante 5 minutos. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico principal no es menor de 95 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,4840 y 1,4860, a 20 °C.

Aminonitrobenzofenona -
(*2-Amino-5-nitrobenzofenona*) - $C_{13}H_{10}N_2O_3$ -
Polvo cristalino amarillo; soluble en tetrahidrofurano, poco soluble en metanol, prácticamente insoluble en agua.

Punto de fusión - Aprox. 160 °C.

Absorción ultravioleta - Determinar la absorbancia de una solución al 1 % en metanol en una celda de 1 cm a 233 nm con un espectrofotómetro. El coeficiente de absorción debe estar comprendido entre 690 y 720.

Aminopirazolona - (*4-Amino-1-fenil-2,3-dimetil-3-pirazolin-5-ona*) - $C_{11}H_{13}N_3O$ -
(PM: 203,2) - Polvo o agujas amarillo pálido. Fácilmente soluble en alcohol; moderadamente soluble en agua; poco soluble en éter.

Punto de fusión - Aprox. 108 °C.

Amoníaco - NH_3 - (PM:17,03) - Contiene no menos de 17 % p/v y no más de 18 % p/v de amoníaco gas NH_3 .

Amoníaco concentrado - NH_3 - (PM: 17,03) - La solución concentrada de amoníaco contiene no menos de 25,0 % p/p y no más de 30,0 % p/p de amoníaco.

Amoníaco diluido - Disolver 41 g de amoníaco concentrado y diluir a 100 ml con agua.

Amonio, formiato de - Ver *formiato de amonio*.

Anetol - (1-Metoxi-4-(1-propenil)benceno) - $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}$ - (PM: 148,2) - Masa blanca cristalina hasta los 20-21 °C. Líquida por encima de los 23°C. Fácilmente soluble en alcohol, soluble en acetato de etilo y éter de petróleo, prácticamente insoluble en agua.

Índice de refracción <230> - Aprox. 1,56.

Punto de ebullición (Ensayo para reactivos) - Aprox. 230 °C.

Para uso en cromatografía de gases, debe cumplir con el siguiente ensayo.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 a 60 m \times 0,3 mm recubierta con una capa de fase estacionaria constituida por polietilenglicol 20.000. Mantener el inyector a una temperatura comprendida entre 180 y 200 °C, y el detector entre 220 y 250 °C. La temperatura de la columna se debe mantener a 60 °C durante 4 minutos, se programa un ascenso de 2 °C por minuto hasta 210 °C, y mantener a esa temperatura durante 15 minutos. Se emplea helio como gas transportador. La respuesta del pico principal correspondiente a *trans*-anetol con un tiempo de retención aproximadamente 41 minutos no debe ser menor de 99 % de la suma de las respuestas de todos los picos.

Anhídrido acético - $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$ - (PM: 102,1) - Contiene no menos de 97,0 % p/p de $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$. Líquido incoloro y transparente.

Intervalo de ebullición - Entre 136 a 142 °C.

Valoración - En un erlenmeyer con boca esmerilada, disolver 2,00 g de anhídrido acético en 50 ml de hidróxido de sodio 1 M y calentar a reflujo durante 1 hora. Valorar con ácido clorhídrico 1 M, empleando como indicador 0,5 ml de fenolftaleína (SR). Calcular el volumen, en ml, de hidróxido de sodio 1 M empleados para 1 g (n_1).

En un erlenmeyer con boca esmerilada, disolver 2,00 g de anhídrido acético en 20 ml de ciclohexano; dejar enfriar en un baño de agua-hielo y agregar una mezcla enfriada de 10 ml de anilina y 20 ml de ciclohexano. Calentar a reflujo durante 1 hora, agregar 50 ml de una solución de hidróxido de sodio 1 N y agitar vigorosamente. Valorar con

ácido clorhídrico 1 N empleando como indicador 0,5 ml de fenolftaleína (SR). Calcular el volumen, en ml, de hidróxido de sodio 1 N empleados para 1 g (n_2). Calcular el contenido porcentual en $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$ empleando la expresión siguiente:

$$10,2 (n_1 - n_2)$$

Anhídrido ftálico - $\text{C}_8\text{H}_4\text{O}_3$ - (PM: 148,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Anhídrido propiónico - $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_3$ - (PM: 130,1) - Líquido incoloro, de olor acre. Se descompone en agua. Soluble en metanol, alcohol, éter y cloroformo.

Valoración - Pesar exactamente 350 mg en un erlenmeyer previamente pesado, con tapón de vidrio que contenga 50 ml de dimetilformamida previamente neutralizada a punto final de azul de timol con metóxido de sodio 0,1 N en metanol (SV). Titular con metóxido de sodio 0,1 N en metanol (SV) al punto final de azul de timol. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de metóxido de sodio 0,1 N equivale a 13,014 mg de $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_3$. Contiene no menos de 97,0%.

Índice de refracción - Entre 1,4035 y 1,4045, a 20 °C.

Anhídrido trifluoroacético - $(\text{F}_3\text{CCO})_2\text{O}$ - (PM: 210,0) - Líquido incoloro. Hierve entre 40 y 42 °C. Sumamente volátil. Evitar la exposición al aire o a la humedad.

Valoración - Transferir aproximadamente 800 mg, exactamente pesados, a un erlenmeyer con tapón de vidrio que contiene 50 ml de metanol. Agregar 500 mg de fenolftaleína y titular con metóxido de sodio 0,1 N (SV) hasta punto final rosado. Calcular *A* por la fórmula siguiente:

$$V/P$$

en la cual *V* es el volumen, en ml, de metóxido de sodio 0,1 N y *P* es el peso, en mg, de muestra. A un segundo erlenmeyer con tapón de vidrio que contiene 50 ml de una mezcla de dimetilformamida y agua (1:1) transferir 400 mg de muestra, exactamente pesados, agregar 500 mg de fenolftaleína y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) hasta punto final rosado. Calcular *B* por la fórmula siguiente:

$$V^1/P^1$$

en la cual V^1 es el volumen, en ml, de hidróxido de sodio 0,1 N y P^1 es el peso de muestra, en mg. Calcular el porcentaje de $(\text{F}_3\text{CCO})_2\text{O}$ por la fórmula siguiente:

$$2100,3(B - A).$$

Contiene no menos de 97 %. Si $2A$ es mayor que B , calcular el porcentaje de F_3CCOOH por la fórmula siguiente:

$$1140,3(2A - B).$$

Anilina - $C_6H_5NH_2$ - (PM: 93,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Anisaldehído - (*4-Metoxibenzaldehído*) - $C_8H_8O_2$ - (PM: 136,1) - Líquido oleoso, muy poco soluble en agua, miscible con alcohol y éter.

Punto de ebullición (Ensayo para reactivos) - Aprox. 248 °C.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 30 a 60 m \times 0,3 mm de diámetro interno recubierta con polietilenglicol 20.000. Mantener la temperatura de la columna a 60 °C durante 4 minutos y programar un ascenso de 2 °C por minuto hasta 210 °C y mantener a esta temperatura durante 15 minutos. Mantener la temperatura del inyector entre 180 y 200 °C, y la del detector entre 220 y 250 °C. Emplear helio como gas transportador. La respuesta del pico principal no debe ser menor de 99,0 % de la suma de las respuestas de todos los picos.

Anisol - $CH_3OC_6H_5$ - (PM: 108,1) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada (aproximadamente 0,5 μ l) en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m recubierta con una fase estacionaria constituida por 50 % de fenilsilicona y 50 % de metilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a 140 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene en 70 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 170 °C. Se emplea nitrógeno como gas transportador. El área del pico de anisol no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Aproximadamente 1,5160, a 20 °C.

Antitrombina-III para el ensayo de antifactor X_a - La antitrombina-III es un inhibidor de proteasa de serina obtenida de plasma bovino, que inhibe el Factor X_a de la enzima y otros factores de coagulación sanguínea. Es una glicoproteína que tiene un peso molecular de 58.000. Por electroforesis en gel (ver 300. *Electroforesis*) la proteína principal de interés constituye no menos de 90 % de la cantidad total de zonas proteicas.

Actividad específica - Una solución que contiene 0,25 mg de equivalente proteico y 0,1 UI de Heparina por ml contiene no menos de 4 UI de

Antitrombina-III por mg de proteína en presencia de heparina.

Ausencia de heparina - A una solución que contenga 1 UI de Antitrombina III por ml, agregar 1 μ l de solución de azul de toluidina: no se detecta heparina. [NOTA: en presencia de heparina el color cambia de azul a púrpura.]

Antraceno - $C_{14}H_{10}$ - (PM: 178,2) - Cristales o laminillas blancas o casi blancas. Se oscurece a la luz solar. Insoluble en agua; moderadamente soluble en alcohol, benceno y cloroformo.

Intervalo de fusión <260> - Entre 215 y 218 °C.

Antrona - $C_{14}H_{10}O$ - (PM: 194,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Apigenina - (*4',5,7-Trihidroxiflavona*) - $C_{15}H_{10}O_5$ - (PM: 270,2) - Polvo ligeramente amarillento; moderadamente soluble en alcohol, prácticamente insoluble en agua.

Punto de fusión <260> - Aprox. 310 °C, con descomposición.

Cromatografía - Proceder según se indica en *Flores de Manzanilla*, aplicando 10 μ l de una solución de 0,25 mg de apigenina por ml de metanol. El cromatograma debe presentar en su tercio central una banda principal de fluorescencia verde amarillenta.

Apigenina-7-glucósido - (*7-O-Glucósido de apigenina*) - $C_{21}H_{20}O_{10}$ - (PM: 432,6) - Polvo ligeramente amarillento; moderadamente soluble en alcohol, prácticamente insoluble en agua.

Intervalo de fusión <260> - Entre 198 y 201 °C.

Cromatografía - Proceder según se indica en *Flores de Manzanilla*, aplicando 10 μ l de una solución de 0,25 mg de apigenina-7-glucósido por ml de metanol. El cromatograma debe presentar en su tercio central una banda principal de fluorescencia amarillenta.

Aprobarbital - $C_{10}H_{14}N_2O_3$ - (PM: 210,2) - Polvo fino cristalino blanco. Poco soluble en agua fría; soluble en alcohol, cloroformo y éter.

Valoración - Disolver aproximadamente 200 mg, previamente secados a 105 °C durante 2 horas y exactamente pesados, en 20 ml de dimetilformamida en un erlenmeyer de 100 ml. Agregar 4 gotas de solución azul de timol (1 en 200 en metanol) y titular con metóxido de litio 0,1 N empleando una bureta de 10 ml, un agitador magnético y una cubierta para el erlenmeyer para proteger la solución del dióxido de carbono atmosférico. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de metóxido de litio 0,1 N equivale a 21,02 mg de $C_{10}H_{14}N_2O_3$. Contiene entre 98,5 y 101,0 % de $C_{10}H_{14}N_2O_3$.

Intervalo de fusión <260> - Entre 140 y 143 °C.

L-Arabinitol - (*L-Arabitol*; 1, 2, 3, 4, 5-*pentanopentol*) - $C_4H_{12}O_5$ - (PM: 152,2) - Cristales blancos o polvo cristalino. Estable en el aire. Fácilmente soluble en agua proporcionando una solución transparente, incolora. Almacenar en sitio fresco o a temperatura ambiente en un área seca.

Intervalo de fusión <260> - Entre 102 y 104 °C.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 0,5 %.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,1 %.

Arbutina - (*Arbutosia*; 4-*Hidroxifenil-β-D-glucopiranosido*) - $C_{12}H_{16}O_7$ - (PM: 272,3) - Aguja fina blanca brillante, muy solubles en agua caliente, fácilmente solubles en agua, solubles en alcohol, prácticamente insolubles en éter.

Rotación específica <170> - Aprox. - 64°, determinado sobre una solución de 20 g por litro.

Punto de fusión <260> - Aprox. 200 °C.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia con 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo, agua y ácido fórmico anhidro (88:6:6).

Revelador 1 - Preparar una solución de 10 g dicloroquinonaclorimida por litro en metanol.

Revelador 2 - Preparar una solución de 20 g de carbonato de sodio anhidro por litro.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa una solución de 2,5 mg de arbutina por ml de metanol. Desarrollar el cromatograma hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, secar entre 105 y 110 °C, pulverizar sobre la placa con *Revelador 1*. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 2*: el cromatograma debe presentar sólo una mancha principal.

Para uso en cromatografía de líquidos, debe cumplir con el siguiente ensayo.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un equipo para cromatografía de líquido (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 25 cm × 4,0 mm recubierta con fase estacionaria constituida por octadecilsilano desactivado para bases de 5 μm. El caudal debe ser aproximadamente 1,2 ml por minuto con fase móvil constituida por agua y metanol (90:10). El contenido de arbutina no debe ser menor de 95,0 %, calculado por el procedimiento de normalización.

Arena estándar, 20 a 30 μm - Arena de sílice, compuesta casi completamente de granos naturalmente redondeados prácticamente de cuarzo puro. Con un tamaño de partícula tal que pasa por un tamiz de 850 μm (N° 20) (pasando entre 85 y 100 %) y se retiene por un tamiz de 600 μm (N° 30) (pasando entre 0 y 5 %).

Arena lavada - Puede prepararse del siguiente modo. Digerir arena limpia a temperatura ambiente con una mezcla de 1 parte de ácido clorhídrico y 2 partes de agua (aproximadamente 13 % de HCl) durante varios días o a una temperatura elevada durante varias horas. Recolectar la arena en un filtro y lavar con agua hasta que los lavados sean neutros y proporcionen sólo una leve reacción ante el cloruro y finalmente secar. La arena lavada cumple los siguientes ensayos.

Sustancias solubles en ácido clorhídrico - Digerir 10 g con una mezcla de 10 ml de ácido clorhídrico y 40 ml de agua en un baño de vapor durante 4 horas, reemplazando esporádicamente el agua perdida por evaporación. Filtrar y agregar a 25 ml del filtrado, 5 gotas de ácido sulfúrico, evaporar y someter a ignición hasta peso constante: el residuo no pesa más de 8 mg (0,16 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - Agitar 1 g con 20 ml de agua durante 5 minutos, filtrar y agregar al filtrado 1 ml de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata (SR): cualquier turbidez producida corresponde a no más de 0,03 mg de Cl (0,003 %).

Arginina - Emplear *Arginina*.

Arsenito de sodio - $NaAsO_2$ - (PM: 129,9) - Polvo blanco, cristalino, inodoro. Soluble en agua; poco soluble en alcohol.

Valoración - Transferir aproximadamente 5,5 g, exactamente pesados, a un matraz aforado de 500 ml, disolver en agua, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 25 ml de esta solución a un envase apropiado, agregar 50 ml de agua y 5 g de fosfato dibásico de sodio, agitar por rotación hasta disolver y titular con iodo 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Cada mililitro de iodo 0,1 N equivale a 3,746 mg de As. Contiene entre 57,0 y 60,5 % (equivalente a 98,8 a 104,9 % de $NaAsO_2$).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,10 mg de Cl (0,01 %).

Metales pesados - Disolver 200 mg en 8 ml de ácido clorhídrico diluido (3 en 8) y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Disolver el residuo en 5 ml de ácido clorhídrico diluido (2 en 5) y nuevamente evaporar hasta sequedad. Disolver el residuo en 10 ml de agua y agregar 2 ml de ácido acético diluido y 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR). Ningún color pardo que se produzca debe ser

más oscuro que el de un control que contenga 0,01 mg de Pb (0,005%).

Hierro - Disolver 1 g en 20 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 5) y agregar, gota a gota, un ligero exceso de bromo (SR). Calentar a ebullición la solución para eliminar el exceso de bromo, enfriar, diluir con agua a 40 ml y agregar 10 ml de solución de tiocianato de amonio (3 en 10). Ningún color rojo que se produzca debe ser más oscuro que el de un control que contenga 0,02 mg de Fe (0,02 %).

Sulfuro - Disolver 1 g en 20 ml de agua y agregar 5 gotas de acetato de plomo (SR): no se produce ningún color pardo (aproximadamente 0,0005 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método II*. Disolver 5 g en 100 ml de agua, agregar naranja de metilo (SR), neutralizar con ácido clorhídrico 1 N, agregar 3 ml del ácido en exceso y filtrar: el filtrado proporciona no más de 3 mg de residuo (0,02 %).

Aserrín purificado - Puede prepararse del siguiente modo. Extraer aserrín en un percolador, primero con solución de hidróxido de sodio (1 en 100) y luego con ácido clorhídrico diluido (1 en 100) hasta que el percolado ácido no cumpla el ensayo para alcaloides con iodomercuriato de potasio (SR) o con iodo (SR). Luego lavar con agua hasta eliminar el ácido y las sales solubles y secar. El aserrín purificado cumple el siguiente ensayo.

Alcaloides - Agregar a 5 g de aserrín purificado contenido en un erlenmeyer, 10 ml de amoníaco (SR) y 50 ml de una mezcla de éter y cloroformo (2:1) y agitar frecuentemente durante 2 horas. Decantar 20ml del extracto etéreo-clorofórmico transparente y evaporar hasta sequedad. Disolver el residuo en 2 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 12) y dividir en dos porciones. Agregar a una porción iodomercuriato de potasio (SR) y agregar a la otra iodo (SR): no se produce turbidez en ninguna de las porciones.

Asiaticósido -
(2 α ,3 β 23-trihidróxi-4 α -urs-12-en-28-oato-de-O-6-d
esoxi- α -L-manopiranosil-(1 \rightarrow 4)-O- β -D-glucopirano
sil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopiranosilo) - C₄₈H₇₈O₁₉ -
(PM: 959,0) - Polvo blanco, higroscópico, soluble
en metanol, poco soluble en alcohol, insoluble en
acetónitrilo. Proteger de la humedad.

Punto de fusión <260> - Aprox. 232 °C, con descomposición.

Agua <120> - No más de 6,0 %.

Para uso en cromatografía de líquidos, debe cumplir con los requisitos de *Valoración* en *Centella, hierba*. Debe contener no menos de 97,0 %.

L-Asparagina - (Ácido L-2-Aminosuccinámico) - COOHCH(NH₂)CH₂CONH₂ . H₂O - (PM: 150,1) - Cristales incoloros, inodoros. Moderadamente soluble en agua; soluble en ácidos y álcalis; insoluble en alcohol y éter. Sus soluciones neutras o alcalinas son levorrotatorias; sus soluciones ácidas son dextrorrotatorias.

Rotación específica <170> - Entre + 31° y + 33°, determinada en una solución en ácido clorhídrico diluido que contiene el equivalente de 5 g (calculado sobre la sustancia anhidra, secada a 105 °C durante 5 horas) en cada 100 ml.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,1 %.

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más que 0,03 mg de Cl (0,003 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. 1 g no presenta más que 0,05 mg de SO₄ (0,005 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 0,002 %.

Determinación de nitrógeno <200> - *Método II*. Contiene entre 18,4 y 18,8 % de N.

Azida de sodio - NaN₃ - (PM: 65,0) - Polvo cristalino blanco o cristales fácilmente solubles en agua, poco solubles en alcohol, prácticamente insoluble en éter.

Azometino **H** -
(Hidrógeno-4-hidroxi-5-(2-hidroxibencilidenamino)
-2,7-naftalendisulfonato de sodio) - (PM: 445,4) -
C₁₇H₁₂NNaO₈S₂ - Emplear un reactivo analítico
apropiado.

Azufre - Emplear *Azufre precipitado*.

Azul brillante de Coomassie R-250 -
(PM:826,0) - C₄₅H₄₄N₃O₇S₂Na - Polvo marrón.
(CI 42660).

Azul de anilina - Colorante soluble en agua que consiste en una mezcla de trisulfonatos de trifenilparosnilina y de difenilrosanilina.

Azul de hidroxinaftol - C₂₀H₁₂N₂O₁₁S₃Na₂ -
(PM: 598,50) - Emplear un reactivo analítico
apropiado.

Azul de metileno - C₁₆H₁₈ClN₃S . 3H₂O -
(PM: 373,9) - Cristales verde oscuro o polvo
cristalino, con brillo de color bronce. Soluble en
agua y cloroformo; moderadamente soluble en
alcohol.

Relación de absortividad - La relación entre la absortividad (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) a 635 y 665 nm, medidas en una solución diluida del colorante en alcohol diluido, está comprendida entre 0,56 y 0,62.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 10 mg (1 %).

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 18 horas: no pierde más de 15,0 % de su peso.

Azul sulfán - *[[[4-(Dietil-amino)fenil](2,4-disulfonato fenil)metilén]-2,5-ciclohexadien-1-ilideno]dietilamonio de sodio.*

$C_{27}H_{31}N_2NaO_6S_2$ - Polvo malva o púrpura, soluble en agua. Las soluciones diluidas del azul sulfán son azules y viran al amarillo por adición de ácido clorhídrico concentrado.

Azul de tetrazolio - *(3,3'-(3,3'-Dimetoxi[1,1'-bifenil]-4,4'-diil)bis[2,5-difenil-2H-tetrazolio]dicloruro)* - $C_{40}H_{32}Cl_2N_8O_2$ - (PM: 727,7) - Cristales amarillo limón. Poco soluble en agua; fácilmente soluble en cloroformo y metanol; insoluble en acetona y éter.

Solubilidad en metanol - Disolver 1 g en 100 ml de metanol: se disuelve completamente proporcionando una solución clara.

Color - Transferir una porción de la solución de metanol obtenida en el ensayo anterior a una celda de 1 cm y determinar su absorbancia a 525 nm, empleando agua como blanco: la absorbancia no excede 0,20.

Absortividad molar <470> - Su absortividad molar en metanol, a 252 nm, no es menor a 50.000.

Ensayo de aptitud -

Solución estándar - Disolver en alcohol una cantidad apropiada de Hidrocortisona SR-FA, secada previamente a 105 °C durante 3 horas y

exactamente pesada y preparar mediante dilución en etapas una solución que contenga aproximadamente 10 µg por ml.

Procedimiento - Transferir porciones de 10, 15 y 20 ml de *Solución estándar* a erlenmeyer separados, con tapón de vidrio, de 50 ml. Agregar 10 ml y 5 ml, respectivamente, de alcohol a los erlenmeyer que contienen 10 y 15 ml de *Solución estándar* y agitar por rotación para mezclar. A cada uno de los erlenmeyer y a un cuarto que contiene 20 ml de alcohol, agregar 2,0 ml de una solución preparada disolviendo 50 mg de azul de tetrazolio en 10 ml de alcohol, mezclar y luego agregar 2,0 ml de una solución preparada al diluir 1 ml de hidróxido tetrametilamonio (SR) con alcohol a 10 ml. Mezclar, dejar los erlenmeyer en la oscuridad durante 90 minutos y determinar las absorbancias de las tres *Soluciones estándar* a 525 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando la solución del cuarto erlenmeyer como blanco. Graficar las absorbancias en la abscisa y la cantidad de hidrocortisona en la ordenada sobre papel milimetrado y trazar la curva que mejor se ajuste: la absorbancia de cada solución es proporcional a la concentración y la absorbancia de la solución que contiene 200 µg de hidrocortisona no es menor de 0,50.

Azul de toluidina - *(Cloruro de 3-amino-7-dime-tilamino-2-metil-5-fenotiazinio)* - $C_{15}H_{16}ClN_3S$ - (PM: 305,8) - Polvo verde oscuro. Soluble en agua; poco soluble en alcohol (CI 52040).

B

Barbaloína - (1,8-Dihidroxi-3-hidroximetil-10- β -gluco-piranosil-10H-9-antracena) - (PM: 436,4) - $C_{21}H_{22}O_9 \cdot H_2O$ - Emplear uno de grado apropiado.

Barbital sódico - $C_8H_{11}N_2NaO_3$ - (PM: 206,2) - Polvo cristalino blanco o cristales incoloros, fácilmente soluble en agua, poco soluble en alcohol, prácticamente insoluble en éter. Debe contener no menos de 98 % de la sal de sodio de la 5,5-dietil-1H,3H,5H-piridina-2,4,6-triona.

Benceno - C_6H_6 - (PM: 78,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Bencenosulfonamida - $C_6H_5SO_2NH_2$ - (PM: 157,2) - Cristales blancos a marrón claro.
Intervalo de fusión <260> - Entre 150 y 153 °C.

Bencenosulfonilo, cloruro de - $C_6H_5SO_2Cl$ - (PM: 176,6) - Líquido oleoso, incoloro. Soluble en alcohol y éter; insoluble en agua fría. Solidifica a 0 °C.

Intervalo de fusión <260> - Entre 14 y 17 °C.
Intervalo de ebullición - Entre 251 y 252 °C.

Bencílico, alcohol - Ver *Alcohol bencílico*.

1-Bencilimidazol - $C_{10}H_{10}N_2$ - (PM: 158,2) - Cristales blancos.

Valoración - Transferir aproximadamente 40 mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados de 100 ml. Disolver en 50 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente empleando un electrodo combinado de calomelplatino. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 15,82 mg de $C_{10}H_{10}N_2$. Contiene no menos de 99 %.

Bencina de petróleo - Ver *Éter de petróleo*.

Benzaldehído - C_7H_6O - (PM: 106,1) - Líquido incoloro, fuertemente refractivo, tiene un olor que se asemeja al de aceite de almendras amargas. Soluble en agua; miscible con alcohol, éter y aceites fijos y volátiles.

Solución alcohólica de clorhidrato de hidroxilamina - Disolver 34,7 g de clorhidrato de hidroxilamina en 160 ml de agua. Agregar alcohol hasta obtener 1 litro y neutralizar frente al azul de bromofenol mediante el agregado de hidróxido de sodio (SR).

Valoración - Transferir aproximadamente 1 ml a un pesafiltro previamente pesado, con tapa de

vidrio y pesar con exactitud. Aflojar la tapa y transferir el pesafiltro y su contenido a un erlenmeyer de 250 ml que contiene 25 ml de *Solución alcohólica de clorhidrato de hidroxilamina*. Empleando una probeta para medir el volumen, lavar las paredes del erlenmeyer con 50 ml adicionales de esta solución. Dejar la solución en reposo durante 10 minutos, agregar 1 ml de azul de bromofenol (SR) y titular el ácido clorhídrico liberado con hidróxido de sodio 1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 1 N consumido equivale a 106,1 mg de C_7H_6O . Contiene no menos de 98 %.

Densidad relativa <160> - Entre 1,041 y 1,046.

Índice de refracción - Entre 1,5440 y 1,5465, a 20 °C.

Ácido cianhídrico - Agitar 0,5 ml con 5 ml de agua, agregar 0,5 ml de hidróxido de sodio (SR) y 0,1 ml de sulfato ferroso (SR) y calentar la mezcla suavemente. Agregar un leve exceso de ácido clorhídrico: no se observa color azul verdoso o precipitado azul dentro de los 15 minutos.

Benzanilida - $C_{13}H_{11}NO$ - (PM: 197,2) - Polvo casi blanco, gris claro a verde grisáceo. Insoluble en agua; moderadamente soluble en alcohol; poco soluble en éter.

Intervalo de fusión <260> - Entre 162 y 165 °C.

Solubilidad en acetona - 1,0 g se disuelve completamente en 50 ml de acetona obteniéndose una solución transparente.

Benzydrol - (α -Fenilbencenometanol) - $C_{13}H_{12}O$ - (PM: 184,2) - Cristales de color blanco a amarillo pálido. Poco soluble en agua; soluble en alcohol, éter y cloroformo.

Intervalo de fusión <260> - Entre 65 y 67 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 2 °C.

Benzoato de bencilo - Ver *Bencilo, Benzoato de*.

Benzoato de butilo - $C_{11}H_{14}O_2$ - (PM: 178,2) - Líquido espeso, aceitoso, incoloro a amarillo pálido. Prácticamente insoluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Valoración - Analizar por cromatografía gas-líquido empleando un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,8 m \times 3 mm con fase estacionaria líquida de 3-cianopropilpolisiloxano sobre soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con

Na_2CO_3 y calcinada a $900\text{ }^\circ\text{C}$ [NOTA: la tierra silíceas se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad, pero no se lava con bases. La tierra silíceas puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector, el detector y la columna a aproximadamente 180 , 280 y $190\text{ }^\circ\text{C}$, respectivamente. Emplear helio como gas transportador. El tiempo de retención es aproximadamente 15 minutos. Presenta una pureza de no menos de 98 %.

Índice de refracción - Entre 1,4980 y 1,5000, a $20\text{ }^\circ\text{C}$.

Benzoato de colesterilo - $\text{C}_{34}\text{H}_{50}\text{O}_2$ - (PM: 490,8)- Emplear uno de grado apropiado.

Benzoato de etilo - $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_2$ - (PM: 150,2) - Líquido transparente, incoloro. Tiene un olor aromático. Prácticamente insoluble en agua; miscible con alcohol, cloroformo y éter.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) empleando una columna de acero inoxidable de $2,4\text{ m} \times 3\text{ mm}$ que contiene una fase estacionaria constituida por un compuesto de polietilenglicol al 20 % (p.m.p aproximadamente 15.000 [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido.]), sobre un soporte constituido por tierra silíceas para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a $900\text{ }^\circ\text{C}$ [NOTA: la tierra silíceas se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad, pero no se lava con bases. La tierra silíceas puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector, la columna y el detector a aproximadamente 180 , 195 y $250\text{ }^\circ\text{C}$, respectivamente. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de benzoato de etilo no es menor de 98 % del área del pico.

Índice de refracción - Entre 1,5048 y 1,5058, a $20\text{ }^\circ\text{C}$.

Benzoato de testosterona - $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{O}_2$ - (PM: 376,5) - Emplear uno de grado apropiado.

Benzofenona - $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{CO}$ - (PM: 182,2) - Polvo blanco, cristalino.

Intervalo de fusión $\langle 260 \rangle$ - Entre 47 y $49\text{ }^\circ\text{C}$.

Benzofina - (2-hidroxi-1,2-difeniletanona) - $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_2$ - (PM: 212,3) - Cristales ligeramente amarillentos. Fácilmente soluble en acetona; soluble en alcohol caliente; moderadamente soluble en éter; muy poco soluble en agua.

Punto de fusión - Aprox. $137\text{ }^\circ\text{C}$.

p-Benzoquinona - $\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_2$ - (PM: 108,1) - Polvo amarillo oscuro con un tono verdoso. Poco soluble en agua; soluble en alcohol, éter y soluciones de álcalis fijos. Puede oscurecerse con el tiempo. El material oscurecido puede ser purificado mediante sublimación al vacío.

Intervalo de fusión $\langle 260 \rangle$ - Entre 113 y $115\text{ }^\circ\text{C}$.

Beta-lactamasa - La beta-lactamasa es una enzima producida por una variedad de bacterias se obtiene generalmente a partir de los filtrados de cultivos de una cepa de *Bacillus cereus*. Tiene la propiedad específica de inactivar penicilinas y cefalosporinas al romper el enlace que vincula el nitrógeno de la tiazolidina con el carbono carbonílico adyacente.

Se presenta en la forma de pequeña piezas o gránulos fácilmente pulverizables de color pardo. Fácilmente soluble en agua, formando una solución algo opalescente que es prácticamente neutra frente al papel de tornasol. Precipita de sus soluciones acuosas en presencia de acetona, alcohol y dioxano y se inactiva por contacto con estos solventes. Es inactivada rápidamente por el acetato de etilo y se destruye irreversiblemente a una temperatura de aproximadamente $80\text{ }^\circ\text{C}$.

La beta-lactamasa es analizada por un procedimiento basado en la determinación de la cantidad de penicilina G potásica o penicilina G sódica destruida a pH 7,0 en una solución de concentración tal que la inactivación procede como una reacción de orden cero.

Betanaftol - Ver 2-Naftol.

Bibencilo - (*Dibencilo*) - $\text{C}_{14}\text{H}_{14}$ - (PM: 182,3) - Cristales incoloros. Fácilmente soluble en cloroformo y éter; moderadamente soluble en alcohol; prácticamente insoluble en agua.

Intervalo de fusión $\langle 260 \rangle$ - Entre 53 y $55\text{ }^\circ\text{C}$.

Bicarbonato de aminoguanidina - (PM: 136,1) - $\text{CH}_6\text{N}_4 \cdot \text{H}_2\text{CO}_3$ - Polvo blanco.

Valoración - Disolver aproximadamente 34 mg, exactamente pesados, en 50 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 13,61 mg de $\text{CH}_6\text{N}_4 \cdot \text{H}_2\text{CO}_3$. Contiene no menos de 98,5 % de $\text{CH}_6\text{N}_4 \cdot \text{H}_2\text{CO}_3$.

Punto de fusión $\langle 260 \rangle$ - Aprox. $170\text{ }^\circ\text{C}$, con descomposición.

Bicarbonato de potasio - KHCO_3 - (PM: 100,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Bicarbonato de sodio - NaHCO_3 - (PM: 84,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Bifenilo - $\text{C}_{12}\text{H}_{10}$ - (PM: 154,2) - Cristales incoloros o blancos o polvo cristalino, de olor agradable. Insoluble en agua; soluble en alcohol y éter. Hierve aproximadamente a 254 °C.

Intervalo de fusión <260> - Entre 68 y 72 °C.

Biftalato de potasio - (*Ftalato ácido de potasio; Ácido ftálico monopotásico; Ftalato hidrógeno de potasio, estándar acidimétrico*) - $\text{KHC}_6\text{H}_4(\text{COO})_2$ - (PM: 204,2) - Emplear Ftalato ácido de potasio patrón primario.

2,2'-Bipiridina - (α, α' -*Dipiridilo*) - $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2$ - (PM: 156,2) - Polvo blanco o rosado, cristalino. Soluble en agua y alcohol. Funde aproximadamente a 69 °C y hierve aproximadamente a 272 °C.

Sensibilidad - Preparar las siguientes soluciones: (A) Disolver 350 mg de sulfato ferroso amónico en 50 ml de agua que contiene 1 ml de ácido sulfúrico y agregar 500 mg de sulfato de hidracina luego agregar agua hasta obtener 500 ml. Antes de usar, diluir 1 ml de esta solución a 100 ml con agua. (B) Disolver 8,3 g de acetato de sodio y 12 ml de ácido acético glacial en agua para obtener 100 ml. Agregar 1 ml de la solución muestra diluida (1 en 1.000) a una mezcla de 10 ml de agua y 1 ml de cada una de *Soluciones A y B*: se produce un color rosado de inmediato.

Solubilidad - 100 mg se disuelve completamente en 10 ml de agua.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,2 %.

Bisbenzimidazolo - (*Trihidrocloruro de 4-[5-[5-(4-metilpiperazin-1-il)benzimidazol-2-il]benzimidazol-2-il]fenol pentahidrato*) - $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{Cl}_3\text{N}_6\text{O} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 624,0). Emplear un reactivo analítico apropiado.

3,3-bis(3-ter-butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno - $\text{C}_{50}\text{H}_{66}\text{O}_8$ - (PM: 795) - Polvo cristalino, prácticamente insoluble en agua y éter de petróleo; muy soluble en acetona, éter y metanol.

Bismuto, subnitrito de - $[\text{4BiNO}_3(\text{OH})_2, \text{BiO}(\text{OH})]$ - (PM: 1.462) - Polvo blanco, prácticamente insoluble en agua.

2,2'-bis(octadeciloxi)-5,5'-espirobi [1,3,2-dioxa-fosforinano] - $\text{C}_{41}\text{H}_{82}\text{O}_6\text{P}_2$ - (PM: 733) - Sólido céreo blanco. Prácticamente insoluble en agua; soluble en hidrocarburos.

Intervalo de fusión - Entre 40 y 70 °C.

Bis(trimetilsilil)acetamida - (*N,O-Bis(trimetilsilil)acetamida; BSA*) - $\text{CH}_3\text{CON}[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]_2$ - (PM: 203,4) - Líquido

transparente, incoloro. Se hidroliza fácilmente cuando es expuesto al aire húmedo. Manipular bajo atmósfera de nitrógeno y almacenar en un sitio fresco.

Valoración - Emplear un cromatógrafo de gases equipado con un detector de conductividad térmica y una columna de acero inoxidable de 1,83 m × 3 mm conteniendo 5 % de fase estacionaria constituida por aceite de dimetilpolisiloxano sobre soporte de tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diátomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad, no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector a aproximadamente 160 °C. La temperatura de la columna se mantiene a 90 °C y se programa un ascenso de 4 °C por minuto hasta 160 °C. Se emplea helio como gas transportador. Contiene no menos de 90 % de $\text{CH}_3\text{CON}[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]_2$. El tiempo de retención es de aproximadamente 15 minutos.

Índice de refracción - Entre 1,4150 y 1,4170, a 20 °C.

Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida - (*BSTFA*) - $\text{CF}_3\text{CON}[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]_2$ - (PM: 257,4) - Líquido transparente, incoloro. Se hidroliza fácilmente cuando se expone al aire húmedo. Almacenar en un sitio fresco.

Valoración - Emplear un cromatógrafo de gases equipado con un detector de conductividad térmica y una columna de acero inoxidable de 1,83 m × 3 mm conteniendo 5 % de fase estacionaria constituida por aceite de dimetilpolisiloxano sobre soporte de tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diátomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad, no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector a aproximadamente 170 °C. La temperatura de la columna se mantiene a 90 °C y se programa un ascenso de 4 °C por minuto hasta 140 °C. Se emplea helio como gas transportador. Contiene no menos de 98 % de $\text{CF}_3\text{CON}[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]_2$. El tiempo de retención es de aproximadamente 15 minutos.

Índice de refracción - Entre 1,3820 y 1,3860, a 20 °C.

Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida con trimetildiclorosilano - Emplear uno de grado apropiado.

Bisulfato de amonio - NH_4HSO_4 - (PM: 115,1) - Cristales blancos. Fácilmente soluble en agua;

prácticamente insoluble en alcohol, acetona y piridina.

Valoración - Disolver aproximadamente 300 mg, exactamente pesados, en 50 ml de una mezcla de agua y alcohol (25:25). Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 11,51 mg de NH_4HSO_4 . Contiene no menos de 98 %.

Bisulfato de potasio - KHSO_4 - (PM: 136,2) - Masas delicuescentes, blancas fundidas o gránulos. Muy soluble en agua. Cuando se incinera, se generan SO_3 y H_2O , cambiando primero a piro-sulfato de potasio luego a sulfato.

Acidez - Disolver 4 g, exactamente pesados, en 50 ml de agua, agregar fenolftaleína (SR) y titular con álcali 1 N: contiene entre 34 y 36 %, calculado como H_2SO_4 .

Materia insoluble y precipitado de hidróxido de amonio - Disolver 10 g en 100 ml de agua, agregar rojo de metilo (SR), alcalinizar con amoníaco (SR), calentar a ebullición durante 1 minuto y digerir en un baño de vapor durante 1 hora. Filtrar a través de un crisol filtrante previamente pesado, lavar y secar a 105 °C durante 2 horas: el precipitado no pesa más de 1 mg (0,01 %).

Para los siguientes ensayos, preparar una *Solución muestra* del siguiente modo: disolver 6 g en 45 ml de agua, agregar 2 ml de ácido clorhídrico, calentar a ebullición suavemente durante 10 minutos, enfriar y diluir con agua a 60 ml.

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - A 30 ml de *Solución muestra*, agregar fenolftaleína (SR) y neutralizar con amoníaco (SR). Agregar 0,5 ml de ácido acético glacial, diluir con agua a 40 ml y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): cualquier color pardo producido no es más oscuro que el de un control que contiene 10 ml de *Solución muestra* y 0,02 mg de Pb (0,001 %).

Hierro <580> - A 5 ml de *Solución muestra*, agregar 2 ml de ácido clorhídrico y diluir con agua a 47 ml: la solución no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,002 %).

Bisulfato de sodio - Ver *Sulfato ácido de sodio*.

Bisulfato de tetrabutilamonio - (*Sulfato Hidrogenado de Tetrabutilamonio*) - $\text{C}_{16}\text{H}_{37}\text{NO}_4\text{S}$ - (PM: 800) - Polvo cristalino o cristales incoloros. Fácilmente solubles en agua y metanol.

Intervalo de fusión <260> - Entre 169 y 173 °C.

Absorbancia - Preparar una solución de 50 mg de Bisulfato de tetrabutilamonio por ml y medir la

absorbancia entre 240 y 300 nm: no debe ser mayor a 0,05.

Bisulfito de sodio - Emplear *Metabisulfito de sodio*.

Bitartrato de sodio - $\text{NaHC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$ - (PM: 190,1) - Cristales blancos o polvo cristalino. Soluble en agua fría.

Valoración - Disolver aproximadamente 500 mg, exactamente pesados, en 30 ml de agua, agregar fenolftaleína (SR). Titular con hidróxido de sodio 0,1N (SV): cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 19,01 mg de $\text{NaHC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Contiene entre 99 y 100,5 %.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 10 g (0,01 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,2 mg de Cl (0,02 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - Disolver 4 g en 25 ml de agua, agregar 2 gotas de fenolftaleína (SR) y luego agregar amoníaco (SR), gota a gota, hasta que la solución sea algo rosada. Agregar 4 ml de ácido clorhídrico 1 N, diluir con agua a 40 ml y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): ningún color pardo que se produzca debe ser más oscuro que el de un control que contenga 0,04 mg de Pb (0,001%).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. 1 g no presenta más de 0,2 mg de SO_4 (0,02 %).

Boldina

(*1,10-Dimetoxi-6- α -aporfina-2,9-diol*)- $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{NO}_4$ - (PM: 327,1) - Polvo cristalino blanco, soluble en alcohol y soluciones diluidas de ácidos, ligeramente soluble en agua.

Punto de fusión <260> - Aprox. 163 °C.

Rotación específica <170> - Aprox. + 127°, determinado sobre una solución de 1 g por litro en metanol.

Cromatografía -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en placa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía con 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno, dietilamina y metanol (80:10:10).

Revelador 1 - Iodobismutato de potasio (SR2).

Revelador 2 - Preparar una solución de 100 g de nitrato de sodio por litro.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 10 μl de una solución de 0,4 mg de boldina por ml de metanol. Desarrollar el cromatograma hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, dejar secar, pulverizar sobre la placa con *Revelador 1*. Dejar secar y pulverizar

sobre la placa con *Revelador 2*: el cromatograma debe presentar sólo una mancha principal.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un equipo para cromatografía de líquido (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector ultravioleta ajustado a 304 nm y una columna de 250 cm × 4,6 mm recubierta con fase estacionaria constituida por octadecilsilano de 5 µm. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto con fase móvil constituida por una mezcla de 84 volúmenes de una mezcla 99,8 ml de agua y 0,8 ml de dietilamina ajustado a pH 3,0 con ácido fórmico y 16 volúmenes de una solución preparada con 99,8 ml de acetonitrilo y 0,2 ml de dietilamina. La respuesta del pico principal no debe ser menor de 99,0 % de la suma de las respuestas de todos los picos.

Borato de sodio - (*Bórax; Tetraborato de sodio*) - $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 381,4) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Borohidruro de sodio - NaBH_4 - (PM: 37,8) - Sólido blanco, cristalino. Fácilmente soluble en agua; soluble (con reacción) en metanol. Sus soluciones se descomponen rápidamente por calentamiento a ebullición.

Valoración -

Solución de iodato de potasio (0,25 N) - Disolver 8,917 g, previamente secados a 110 °C hasta peso constante y exactamente pesados, en agua para obtener 1 litro.

Procedimiento - Disolver aproximadamente 500 mg, exactamente pesados, en 125 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 25) en un matraz aforado de 250 ml, diluir a volumen con la solución de hidróxido de sodio y mezclar. Transferir 10 ml de la solución a un matraz para iodo de 250 ml, agregar 35,0 ml de *Solución de iodato de potasio* y mezclar. Agregar 2 g de ioduro de potasio, mezclar, agregar 10 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 10), insertar el tapón en el matraz y dejar reposar en la oscuridad durante 3 minutos. Titular la solución con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Calcular la cantidad, en mg, de NaBH_4 en la muestra por la fórmula siguiente:

$$[(35,0)(0,25)] - 0,1V)4,729$$

en la cual *V* es el volumen, en ml, de tiosulfato de sodio 0,1 N empleado en la titulación. Contiene no menos de 98 %.

Bromato de potasio - KBrO_3 - (PM: 167,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Bromo - Br - (PA: 79,90) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

α-Bromo-2-acetonafona - (*Bromometil 2-naftil cetona*) - $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{BrO}$ - (PM: 249,1) - Cristales de color rosado a tostado claro.

Intervalo de fusión <260> - Entre 81 y 83 °C.

p-Bromoanilina - $\text{C}_6\text{H}_6\text{BrN}$ - (PM: 172,0) - Cristales blancos a casi blancos. Insoluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Valoración - Transferir aproximadamente 650 mg, exactamente pesados, a un envase apropiado y disolver en 50 ml de ácido acético glacial (SR). Agregar cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 17,20 mg de $\text{C}_6\text{H}_6\text{BrN}$. Contiene no menos de 98 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 60 y 65 °C, con un intervalo fusión no mayor de 2 °C.

5-Bromo-2'-desoxiuridina - $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{BrN}_2\text{O}_5$ - (PM: 307,1).

Punto de fusión <260> - Aprox. 194 °C.

Cromatografía - Analizar según se indica en *Sustancias relacionadas* para *Idoxiuridina* depositando 5 µl de una solución de 5-iodouracilo de 0,25 mg por ml. El cromatograma sólo presenta una mancha principal.

N-Bromosuccinimida - $\text{C}_4\text{H}_4\text{BrNO}_2$ - (PM:178,0) - Cristales o polvo de color blanco o casi blanco, de olor débil. Fácilmente soluble en agua, acetona y ácido acético glacial. *Precaución* - *Sumamente irritante a los ojos, piel y mucosas.*

Valoración - Transferir 200 mg, exactamente pesados, a un erlenmeyer, agregar 25 ml de hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N, cubrir con un vidrio de reloj, calentar a ebullición durante 5 minutos. Enfriar, transferir la solución a un vaso de precipitados, lavar el erlenmeyer con agua hasta que el volumen total de solución más los lavados sea de aproximadamente 100 ml y agregar 10 ml de ácido acético glacial. Insertar electrodos apropiados y titular con nitrato de plata 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 17,80 mg de $\text{C}_4\text{H}_4\text{BrNO}_2$. Contiene no menos de 98 %.

Bromuro de amonio - NH_4Br - (PM: 97,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Bromuro de dimidio
Bromuro de 3,8-diamino-5-metil-6-fenilfenantridinium.

$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{BrN}_3$ - (PM: 380,3) - Cristales negro-rojizos. Levemente soluble en agua a 20 °C; poco soluble en agua a 60 °C y alcohol.

Bromuro de cianógeno - BrCN - (PM: 105,9) - Cristales incoloros. Se volatiliza a temperatura ambiente. Sus vapores son altamente irritantes y muy tóxicos. Funde aproximadamente a 52 °C. Fácilmente soluble en agua y alcohol. Almacenar en envases de cierre perfecto, en un sitio frío.

Solubilidad - Porciones separadas de 1 g se disuelven completamente en 10 ml de agua y en 10 ml de alcohol, respectivamente, produciendo soluciones incoloras.

Bromuro de iodo - IBr - (PM: 206,8) - Cristales negro-azulados o negro-parduscos. Fácilmente soluble en agua, alcohol, éter y ácido acético glacial. Funde aproximadamente a 40 °C. Punto de ebullición: aproximadamente a 116 °C. Conservar en envase inactivo, en un sitio fresco.

Bromuro de p-nitrobencilo - NO₂C₆H₄CH₂Br - (PM: 216,0) - Cristales de color casi blanco a amarillo pálido, se oscurece por exposición a la luz. Prácticamente insoluble en agua; fácilmente soluble en alcohol, éter y ácido acético glacial. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto.

Intervalo de fusión <260> - Entre 98 y 100 °C.

Solubilidad - Porciones separadas de 200 mg proporcionan soluciones transparentes en 5 ml de alcohol y en 5 ml de ácido acético glacial.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 200 mg.

Bromuro de potasio - KBr - (PM: 119,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Bromuro de sodio - NaBr - (PM: 102,9) - Cristales cúbicos o polvo granular blanco, inodoro. Soluble en agua; poco soluble en alcohol.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - La materia insoluble a partir de 20 g, disuelta en 150 ml de agua caliente, no pesa más de 1 mg (0,005 %).

pH <250> - Entre 5,5 y 7,5, determinado en una solución (1 en 20).

Bario - Disolver 6 g en 15 ml de agua, agregar 5 ml de ácido acético, 5 ml de peróxido de hidrógeno al 30 % y 1 ml de ácido clorhídrico y digerir en un vaso de precipitados cubierto hasta que cese la reacción. Retirar la cubierta y evaporar hasta sequedad. Disolver el residuo en 15 ml de agua, filtrar si fuera necesario, diluir con agua a 23 ml y agregar 2 ml de solución de dicromato de potasio (1 en 10). Agregar hidróxido de amonio hasta que se haya disipado el color anaranjado y el color amarillo persista luego agregar 25 ml de metanol, agitar vigorosamente y dejar reposar durante 10 minutos: cualquier turbidez que aparezca no excede la de un control que contenga 1,0 g de muestra y 100 µg de ion bario (0,002 %).

Bromato - Disolver 1 g en 10 ml de agua, agregar 100 µl de solución de yoduro de potasio (1 en 10), 1 ml de almidón (SR) y 25 µl de ácido sulfúrico diluido (1 en 36) y dejar reposar a 25 °C: no se produce color azul ni violeta dentro de los 10 minutos (aproximadamente 0,001 %).

Calcio, magnesio y precipitado de R₂O₃ - Agregar al filtrado del ensayo para *Materia insoluble*, 5 ml de oxalato de amonio (SR), 2 ml de fosfato de amonio (SR) y 10 ml de hidróxido de amonio. Dejar reposar durante aproximadamente 16 horas, filtrar, lavar con amoníaco (SR) diluido (1 en 4), someter a ignición y pesar: el peso del residuo no es mayor de 1 mg (0,005%).

Cloruro - Disolver 500 mg en 15 ml de ácido nítrico diluido (1 en 3) en un erlenmeyer apropiado, agregar 3 ml de peróxido de hidrógeno al 30 % y digerir en un baño de vapor hasta que la solución sea incolora. Lavar las paredes del erlenmeyer con agua, digerir durante un periodo adicional de 15 minutos, enfriar y diluir con agua a 200 ml. Diluir una alícuota de 2 ml con agua a 25 ml y agregar 1 ml de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata (SR): si se produce turbidez no excede la de un control que contenga 10 µg de ion cloruro (0,2 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 0,0005 %.

Hierro <580> - 2 g, disueltos en 47 ml de agua que contenga 2 ml de ácido clorhídrico, no presentan más de 0,01 mg de Fe (5 ppm).

Compuestos nitrogenados (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 5 µg de N (0,0005 %).

Potasio (Ensayo para reactivos) -

Solución de ensayo - Disolver 10 g en agua, diluir con agua a 100 ml y mezclar.

Solución muestra - Diluir 10,0 ml de *Solución de ensayo* con agua a 100 ml y mezclar.

Solución control - Agregar a 10,0 ml de *Solución de ensayo*, 50 µg de ion potasio (K), diluir con agua a 100 ml y mezclar. No más de 0,005 %.

Sulfato - Disolver 10 g en 100 ml de agua, filtrar si fuera necesario y agregar 1 ml de ácido clorhídrico: la solución proporciona no más de 1,2 mg de residuo (0,005 %).

Bromuro de tetrabutilamonio - (C₄H₉)₄NBr - (PM: 322,4) - Polvo cristalino blanco.

Valoración - Disolver aproximadamente 34 mg, exactamente pesados, en 50 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido

perclórico 0,1 N equivale a 32,24 mg de $(C_4H_9)_4NBr$. Contiene no menos de 99 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 103 y 105 °C.

Bromuro de tetraheptilamonio - $(C_7H_{15})_4NBr$ - (PM: 490,7) - Polvo blanco, escamoso.

Intervalo de fusión <260> - Entre 89 y 91 °C.

Bromuro de tetrametilamonio - $(CH_3)_4NBr$ - (PM: 154,1) - Cristales incoloros. Soluble en agua; moderadamente soluble en alcohol absoluto; insoluble en cloroformo y éter.

Valoración - Transferir aproximadamente 400mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados, agregar 50 ml de agua y 10 ml de ácido nítrico diluido, agitar por rotación hasta disolver la muestra, agregar 50,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV) y mezclar. Agregar 2 ml de sulfato férrico amónico (SR) y titular el exceso de nitrato de plata con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N consumido equivale a 15,41 mg de $(CH_3)_4NBr$. Contiene no menos de 98 %.

Bromuro mercúrico - $HgBr_2$ - (PM: 360,4) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

1,3-Butanodiol - (*1,3-Butilenglicol*) - $C_4H_{10}O_2$ - (PM: 90,1) - Líquido viscoso, incoloro. Muy higroscópico. Soluble en agua, alcohol, acetona y metil etil cetona; prácticamente insoluble en hidrocarburos alifáticos y tolueno.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,8 m x 3 mm que contiene 20 % de una fase estacionaria constituida por polietilenglicol (p.m.p. aproximadamente 15.000) diepóxido en un soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad, no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector a aproximadamente 265 °C. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un ascenso de 8 °C por minuto hasta 210 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de butanodiol no es menor de 98 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,4390 y 1,4410, a 20 °C.

2,3-Butanodiona - (*Diacetilo*) - $CH_3COCOCH_3$ - (PM: 86,1) - Líquido amarillo brillante a verde amarillento con fuerte olor, acre. Soluble en agua. Miscible con alcohol y éter. Hierve aproxima-

mente a 88 °C. Densidad relativa: aproximadamente 0,98.

Valoración -

Solución de clorhidrato de hidroxilamina - Disolver 20 g de clorhidrato de hidroxilamina en 40 ml de agua, y diluir con alcohol a 400 ml. Agregar, con agitación, 300 ml de hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N y filtrar. Descartar después de 2 días.

Procedimiento - Transferir aproximadamente 1 g, exactamente pesado, a un erlenmeyer con tapón de vidrio de 250 ml, agregar 75,0 ml de *Solución de clorhidrato de hidroxilamina*, e insertar el tapón en el erlenmeyer. Calentar a reflujo la mezcla durante 1 hora luego enfriar a temperatura ambiente. Agregar azul de bromofenol (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,5 N (SV) hasta punto final amarillo verdoso. [NOTA: alternativamente, la solución puede titularse potenciométricamente hasta pH 3,4.] Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido clorhídrico 0,5 N equivale a 43,05 mg de $CH_3COCOCH_3$. Contiene no menos de 97 % de $CH_3COCOCH_3$.

Índice de refracción - Entre 1,3935 y 1,3965, a 20 °C.

Intervalo de solidificación <180> - Entre - 2,0 y - 5,5 °C.

Butanol - Ver Alcohol butílico.

2-Butanona - Ver Metil etil cetona.

Butano sulfonato de sodio - (*Sal sódica del ácido 1-butano sulfónico*) - $C_4H_9NaO_3S$ - (PM: 160,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Butilamina normal - Ver *n*-Butilamina.

***n*-Butilamina** - $CH_3CH_2CH_2CH_2NH_2$ - (PM: 73,1) - Líquido incoloro a amarillo pálido, inflamable. Miscible con agua, alcohol y éter. Almacenarlo en envases de cierre perfecto. Densidad relativa: aproximadamente 0,740.

Intervalo de destilación <240> - *Método I*. No menos de 95 % destila entre 76 y 78 °C.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 1,0 %.

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g (1,5 ml) no presenta más que 0,01 mg de Cl (0,001 %).

Impurezas ácidas - A 50 ml, agregar 5 gotas de una solución saturada de azul violeta en benceno y titular rápidamente con metóxido sódico 0,1 N (SV) hasta punto final azul profundo, tomando precauciones para impedir la absorción de dióxido de carbono atmosférico mediante el empleo de una atmósfera de nitrógeno. No más de 1,0 ml de

metóxido sódico 0,1 N se requieren para la neutralización.

4-(Butilamino)benzoico, ácido - Ver *ácido 4-(Butilamino)benzoico*.

4-ter-Butilfenol - $C_{10}H_{14}O$ - (PM: 150,2) - Escamas o agujas blancas, cristalinas. Prácticamente insoluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Intervalo de fusión (260) - Entre 98 y 101 °C.

Butilhidroxianisol - Emplear *Butilhidroxianisol*.

Butilhidroxitolueno - Emplear *Butilhidroxitolueno*.

ter-Butil metil éter - $C_5H_{12}O$ - (PM: 88,2) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*)

equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μ m de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 100 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a temperatura ambiente y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 150 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico $C_5H_{12}O$ no es menor de 99,8 % del área total.

Butilparabeno - (*p*-hidroxibenzoato de butilo) - $C_{11}H_{14}O_3$ - (PM: 194,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Butírico, ácido - Ver *Ácido butírico*.

Índice de refracción $\langle 230 \rangle$ - Entre 1,367 y 1,371, a 20 °C.

C

Cadmio - Cd - 112,4 - Metal blanco plateado brillante. Prácticamente insoluble en agua. Fácilmente soluble en ácido nítrico y ácido clorhídrico caliente.

Cafeína - Ver *Cafeína*.

Caolín ligero - Silicato de aluminio hidratado natural, purificado con un dispersante apropiado. Polvo blanco, ligero, libre de partículas granulares. Graso al tacto. Prácticamente insoluble en agua y ácidos minerales.

Partículas gruesas - Transferir 5,0 g de Caolín ligero a una probeta con tapón esmerilado, agregar 60 ml de una solución de 10 mg de pirofosfato de sodio por ml, agitar enérgicamente y dejar reposar durante 5 minutos. Con la ayuda de una pipeta, extraer 50 ml, tomados a unos 5 cm por debajo de la superficie. Agregar 50 ml de agua, agitar y dejar reposar durante 5 minutos. Repetir esta operación hasta que se hayan retirado 400 ml. Transferir la suspensión restante a una cápsula, evaporar a sequedad en un baño de agua y secar el residuo a una temperatura comprendida entre 100 y 105 °C hasta peso constante. El peso del residuo no debe ser mayor a 25 mg (0,5 %).

Partículas finas - Dispersar 5,0 g de Caolín ligero en 250 ml de agua, agitar enérgicamente durante 2 minutos y transferir a una probeta. Con la ayuda de una pipeta, transferir 20 ml de la suspensión a una cápsula, evaporar a sequedad en un baño de agua y secar el residuo a una temperatura comprendida entre 100 y 105 °C hasta peso constante. Dejar el resto de la suspensión en reposo a 20 °C durante 4 horas y con la ayuda de una pipeta transferir 20 ml tomados exactamente a 5 cm por debajo de la superficie de la suspensión, a una cápsula. Evaporar a sequedad en un baño de agua y secar el residuo a una temperatura comprendida entre 100 y 105 °C hasta peso constante. El peso del residuo de la segunda extracción no debe ser menor al 70 % del peso del residuo obtenido en la primera extracción.

Carbamato de metilo - C₂H₅NO₂ - (PM: 75,1) - Cristales blancos. Fácilmente soluble en agua.

Intervalo de fusión <260> - Entre 54 y 56 °C.

Carbazol - C₁₂H₉N - (PM: 167,21) - Polvo casi blanco a canela.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un equipo para cromatografía de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m

× 0,25 mm recubierta con una capa de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpoliloxano de 1 µm. Mantener el inyector, el detector y la columna a aproximadamente 280, 300 y 280 °C, respectivamente. Se debe emplear helio como gas transportador. La respuesta del pico de C₁₂H₉N no debe ser menor de 95,5 % de la respuesta total.

Carbón vegetal activado - (*Carbón activado; Carbón decolorante*) - Polvo fino, negro, inodoro, es el residuo de la destilación destructiva de diversos materiales orgánicos, tratado para aumentar su alta capacidad de adsorción de sustancias orgánicas coloreadas, así como bases nitrogenadas.

Poder adsorbente - Disolver 100 mg de sulfato de estriquina en 50 ml de agua, agregar 1 g de muestra, agitar durante 5 minutos y filtrar a través de un filtro seco, descartando los primeros 10 ml del filtrado. A 10 ml del filtrado, agregar 1 gota de ácido clorhídrico y 5 gotas de ioduro mercúrico (SR): no se produce turbidez.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - El residuo no pesa más de 20 mg, determinado sobre 500 mg (4,0 %).

Reacción - Calentar a ebullición 2 g con 50 ml de agua durante 5 minutos, dejar enfriar, restaurar el volumen original agregando cantidad suficiente de agua y filtrar: el filtrado es incoloro y es neutro al papel de tornasol.

Sustancias solubles en ácidos - Calentar a ebullición 1,0 g con 25 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 5) durante 5 minutos, filtrar a través de un crisol de porcelana previamente pesado y lavar el residuo con 10 ml de agua caliente. Combinar los lavados y el filtrado, agregar 1 ml de ácido sulfúrico, evaporar hasta sequedad e incinerar hasta peso constante: el residuo no pesa más de 35 mg (3,5 %).

Sustancias solubles en alcohol - Calentar a ebullición 2 g con 40 ml de alcohol durante 5 minutos bajo un condensador a reflujo y filtrar. Evaporar 20 ml del filtrado en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 2 mg (0,2%).

Elementos constitutivos no carbonizados - A 250 mg agregar 10 ml de hidróxido de sodio (SR), calentar a ebullición y filtrar: el filtrado es incoloro.

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 5 ml del filtrado obtenido en el ensayo para *Reacción* no presenta más de 0,04 mg de Cl (0,02 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I.* 5 ml del filtrado obtenido en el ensayo de *Reacción* no presenta más de 0,3 mg de SO_4 (0,15 %).

Sulfuro - Colocar 1 g en un erlenmeyer pequeño con un cuello estrecho, agregar 35 ml de agua y 5 ml de ácido clorhídrico y calentar a ebullición suavemente: los vapores que se desprenden no oscurecen un papel humedecido con acetato de plomo (SR).

Carbonato de amonio - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Carbonato de calcio - CaCO_3 - (PM: 100,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Carbonato de calcio, estándar para quelatometría - CaCO_3 - (PM: 100,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Carbonato de calcio precipitado - Emplear *Carbonato de calcio precipitado*.

Carbonato de potasio - Ver Carbonato de potasio anhidro.

Carbonato de potasio anhidro - K_2CO_3 - (PM: 138,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Carbonato de sodio - Emplear Carbonato de sodio anhidro.

Carbonato de sodio anhidro - Na_2CO_3 - (PM: 106,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Carbonato sódico hidrogenado - Ver Bicarbonato de sodio.

Caseína - Polvo blanco o algo amarillo, inodoro, granular. Insoluble en agua y otros solventes neutros; fácilmente soluble en amoníaco (SR) y soluciones de hidróxidos de álcali, generalmente forma una solución turbia.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - El residuo no pesa más de 20 mg, determinado sobre 2 g (1,0 %).

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 10,0 % de su peso.

Alcalinidad - Agitar 1 g con 20 ml de agua durante 10 minutos y filtrar: el filtrado no es alcalino frente al papel de tornasol rojo.

Sustancias solubles - Evaporar el filtrado del ensayo de *Alcalinidad* y secarlo a 105 °C, el residuo no pesa más de 1 mg (0,1 %).

Grasas - Disolver 1 g en una mezcla de 10 ml de agua y 5 ml de amoníaco alcohólico (SR) y agitar con dos porciones de 20 ml de éter de petróleo. Evaporar el éter de petróleo a temperatura

baja y secar a 80 °C: el peso del residuo no excede 5 mg (0,5 %).

Determinación de nitrógeno <200> - *Método I.* Contiene entre 15,2 y 16,0 % de N, sobre la sustancia anhidra.

Cuando se requiera caseína libre de vitaminas, emplear caseína que se ha liberado de su contenido de vitaminas liposolubles mediante extracción continua con alcohol caliente durante 48 horas seguido de secado al aire para remover el solvente.

Caseinato de calcio - Polvo blanco o algo amarillo, casi inodoro. Insoluble en agua fría, pero forma una solución lechosa cuando es suspendido en agua, agitado y calentado.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 5 g a 550 °C: el residuo pesa entre 150 y 300 mg (3,0 a 6,0 %).

Calcio - Tratar el residuo del ensayo anterior con 10 ml de ácido clorhídrico diluido, filtrar, y al filtrado transparente agregarle 5 ml de oxalato de amonio (SR): en reposo aparece un precipitado blanco.

Pérdida por secado <680> - Secar al vacío a 70 °C hasta peso constante: no pierde más de 7,0 % de su peso.

Grasa - Suspender 1,0 g en 5 ml de alcohol en un matraz de Mojonnier, agregar 0,8 ml de agua de amoníaco fuerte y 9 ml de agua y agitar. Agregar una segunda porción de 5 ml de alcohol luego agregar porciones sucesivas de 25 ml cada una de éter de petróleo, agitando después de cada agregado invirtiendo el matraz 30 veces. Centrifugar, decantar la fase orgánica, evaporar a temperatura baja y secar en un baño de vapor: el residuo pesa no más de 20 mg (2,0 %).

Determinación de nitrógeno <200> - *Método I.* Contiene entre 12,5 y 14,3 % de N, calculado sobre la sustancia anhidra.

Suspendibilidad en agua - Colocar 2 g en un vaso de precipitados y agregar agua fresca lentamente con agitación hasta formar una pasta delgada, suave. Completar con agua hasta obtener 100 ml. Agitar, y calentar a 80 °C: se forma una suspensión lechosa que no sedimenta después de 2 horas de reposo.

Catalizador de níquel-aluminio - Emplear uno de grado apropiado.

Catecol - (*o*-Dihidroxibenceno) - $\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2$ - (PM: 110,1) - Cristales blancos, que se decoloran por exposición al aire y luz. Fácilmente soluble en agua, alcohol, éter, cloroformo y piridina, formando soluciones claras.

Intervalo de fusión <260> - Entre 104 y 105 °C.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 500 mg con 5 gotas de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,2 %).

Cefelina - (*Dihidrocloreuro de (R)-1-[(2S,3R,11bS)-3-etil-1,3,4,6,7,11b-hexahidro-9,10-dimetoxi-2H-benzo[α]quinolin-2-ilmetil]-1,2,3,4-tetrahidro-7-metoxi-6-isoquinolinol heptahidrato; Desmetilemetina*) - $C_{28}H_{40}Cl_2N_2O_4 \cdot 7H_2O$ - (PM: 666) - Polvo cristalino blanco o amarillento. Fácilmente soluble en agua, soluble en acetona y alcohol.

Rotación específica <170> - +25 °, determinada a 20 °C en una solución que contenga 20 mg por ml.

Celulosa con indicador de fluorescencia para cromatografía - Mezcla de celulosa con una sustancia fluorescente apropiada.

Celulosa microcristalina - Emplear *Celulosa microcristalina*.

Celulosa para cromatografía - Emplear uno de grado apropiado.

Cerebro de buey desecado con acetona, polvo de - Cortar en trozos pequeños un cerebro de buey fresco, libre de tejidos vasculares y conjuntivos. Deshidratar el material sumergiéndolo en acetona. Triturar 30 g en un mortero para completar la deshidratación y agregar porciones sucesivas de 75 ml de acetona hasta obtener un polvo seco luego de filtrar. Secar a 37 °C durante 2 horas o hasta que el olor a acetona desaparezca.

Cetrimida - (*Bromuro de alquiltrimetilamonio*) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cianoacetato de etilo - $CNCH_2COOC_2H_5$ - (PM: 113,1) - Líquido incoloro a amarillo pálido, de olor agradable. Poco soluble en agua. Miscible con alcohol y éter. Intervalo de ebullición: entre 205 y 209°C, con descomposición. A una presión de 10 mm de Hg destila aproximadamente a 90 °C.

Densidad relativa <160> - Entre 1,057 y 1,062.

Acidez - Disolver 2 ml en 25 ml de alcohol neutralizado, agregar fenoltaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,10 N: no se requieren más de 1,5 ml para producir color rosado.

Cianoguanidina - (*Diciandiamida; 1-cianoguanina*) - $C_2H_4N_4$ - (PM: 84,1) - Polvo blanco cristalino. Moderadamente soluble en alcohol; prácticamente insoluble en cloroformo y cloruro de metileno. Funde a proximadamente a 210 °C.

Cianuro de potasio - KCN - (PM: 65,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cianuro de sodio - NaCN - (PM: 49,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ciclohexano - C_6H_{12} - (PM: 84,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ciclohexanol - $C_6H_{12}O$ - (PM: 100,2) - Líquido transparente de olor alcanforáceo. Fácilmente soluble en agua. Miscible con alcohol, acetato de etilo e hidrocarburos aromáticos. Punto de fusión: aproximadamente a 23 °C. Densidad relativa: aproximadamente 0,962, a 20 °C.

Valoración - Cuando se analiza por cromatografía gas-líquido, empleando un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) y condiciones apropiadas, presenta una pureza no menor al 98 %.

Cinamato de bencilo - (*3-Fenilprop-2-enoato de bencilo*) - $C_{16}H_{14}O_2$ - (PM: 238,3) - Cristales amarillentos o incoloros. Prácticamente insoluble en agua, soluble en alcohol y éter. Punto de fusión: aproximadamente a 39 °C.

Cromatografía - Analizar según se especifica en la monografía de *Bálsamo de Perú*, aplicando sobre la placa 20 μ l de una solución al 0,3 % en acetato de etilo. Luego de pulverizar la placa y calentar, el cromatograma presenta una mancha principal cuyo R_f es aproximadamente 0,6.

Cinc - Zn - (PA: 65,39) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cinconidina - $C_{19}H_{22}N_2O$ - (PM: 294,4) - Cristales, polvo cristalino o granular color blanco. Soluble en alcohol y cloroformo; prácticamente insoluble en agua.

Valoración - Disolver aproximadamente 125 mg, exactamente pesados, en 50 ml de ácido acético glacial. Agregar unas gotas de *p*-naftolbenceína (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 14,72 mg de $C_{19}H_{22}N_2O$. Contiene no menos de 99,0 %.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 1,0 % de su peso.

Intervalo de fusión <260> - Entre 200 y 205 °C.

Rotación específica <170> - Entre -105° y -115°, calculado sobre la sustancia seca, determinada en una solución alcohólica que contiene 10 mg por ml.

Cinconina - $C_{19}H_{22}N_2O$ - (PM: 294,4) - Cristales, polvo cristalino o granular color blanco. Poco soluble en cloroformo; moderadamente soluble en alcohol; prácticamente insoluble en agua.

Valoración - Disolver aproximadamente 125 mg, exactamente pesados, en 50 ml de ácido acético glacial. Agregar unas pocas gotas de *p*-naftolbenceína (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 14,72 mg de $C_{19}H_{22}N_2O$. Contiene no menos de 99,0 %.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 1,0 % de su peso.

Intervalo de fusión <260> - Entre 255 y 261 °C.

Rotación específica <170> - Entre +219° y +229°, calculado sobre la sustancia seca, determinada en una solución alcohólica que contiene 50 mg por 10 ml.

Cineol - (*Eucaliptol*; 1,8-Cineol; 1,8-Epoxi-*p*-mentano) - $C_{10}H_{18}O$ - (PM: 154,3) - Líquido incoloro, miscible en alcohol y éter; prácticamente insoluble en agua.

Densidad relativa <160> - Entre 0,922 y 0,927.

Índice de refracción <230> - Entre 1,456 y 1,459.

Punto de solidificación <180> - Entre 0 y 1 °C.

Intervalo de destilación <240> - Entre 174 y 177 °C.

Fenol - Agitar 1 g de Cineol con 20 ml de agua. Dejar reposar. Separar 10 ml de la fase acuosa y agregar 0,1 ml de cloruro férrico (SR): no debe producirse coloración violeta.

Escencia de trementina - Disolver 1 g de Cineol en 5 ml de alcohol. Agregar gota a gota agua de bromo, recientemente preparada: el viraje al amarillo de persistir durante 30 minutos y no se requieren más de 0,5 ml de agua de bromo.

Residuo de evaporación - A 10 ml de Cineol agregar 25 ml de agua, evaporar en un baño de agua y secar el residuo entre 100 y 105 °C hasta peso constante: no debe contener más de 0,05 %.

Para uso en cromatografía de gases, debe cumplir con el siguiente ensayo.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 60 m × 0,25 mm recubierta con una capa de fase estacionaria constituida por goma de polietilenglicol 20.000. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 220 °C. La temperatura de la columna se debe mantener a 60 °C durante 10 minutos, se programa un ascenso de 2 °C por minuto hasta 180 °C, y mantener a esta temperatura durante 5 minutos. Se emplea helio como gas transportador, el caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto. La respuesta

del pico principal no debe ser menor de 98,0 % de la suma de las respuestas de todos los picos.

Circonilo, nitrato de - $ZrO(NO_2)_2 \cdot 2H_2O$ - Polvo blanco o cristales higroscópicos. Soluble en agua. La solución acuosa debe ser transparente o ligeramente opalescente. Conservar en envases herméticos.

L-Cistina - (PM: 240,3) - $HOOC(NH_2)CHCH_2S-SCH_2CH(NH_2)COOH$ - Polvo blanco, cristalino. Muy poco soluble en agua; soluble en ácidos minerales diluidos y en soluciones de hidróxidos alcalinos; insoluble en alcohol y en otros solventes orgánicos.

Rotación específica <170> - Entre -215° y -225°, determinada en una solución (2 en 100) de la muestra, secada previamente sobre gel de sílice durante 4 horas, en ácido clorhídrico diluido (1 en 10), a 20 °C.

Pérdida por secado <680> - Secar sobre gel de sílice durante 4 horas: no pierde más de 0,2 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,1 %.

Citral - $C_{10}H_{16}O$ - (PM: 152,2) - Mezcla de (2*E*)- y (2*Z*)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal. Líquido amarillo claro, miscible con alcohol, éter y glicerina, prácticamente insoluble en agua.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en placa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia con 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno y acetato de etilo (85:15).

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 10 µl de una solución de citral en tolueno de 1 g por litro. Desarrollar el cromatograma hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, dejar secar y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm: el cromatograma debe presentar sólo una mancha principal.

Para uso en cromatografía de gases, debe cumplir con el siguiente ensayo.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 60 m × 0,25 mm recubierta con una capa de fase estacionaria constituida por goma de polietilenglicol 20.000 de 0,2 µm. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 260 °C. La temperatura de la columna se debe mantener a 80 °C durante 2 minutos, se programa un ascenso de 3 °C por

minuto hasta 150 °C, luego un ascenso de 2,2 C por minuto hasta 185 °C y luego se programa un ascenso de 9,3 °C por minuto hasta 250 °C. Se emplea helio como gas transportador, el caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto. El contenido de citral (neral + geranial) no debe ser menor de 95,0 %, calculado por el procedimiento de normalización.

Citrato cúprico - (*[Citrato(4-)]dicobre*) - (PM: 315,2) - $\text{Cu}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_7$ - Emplear uno de grado apropiado.

Citrato de sodio - Emplear *Citrato de sodio*.

Citrato de calcio - $\text{Ca}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 570,5) - Polvo blanco, inodoro, cristalino. Poco soluble en agua; fácilmente soluble en ácido clorhídrico 3 N y ácido nítrico 2 N; insoluble en alcohol. A 15 ml de ácido sulfúrico 2 N caliente agregar, en porciones y con agitación, aproximadamente 500 mg de citrato de calcio. Calentar a ebullición la mezcla durante 5 minutos y filtrar en caliente: el filtrado enfriado responde al ensayo de identificación para *Citrato* (ver 410. *Ensayos generales de identificación*).

Valoración - Pesar exactamente 400 mg de la sal, previamente secada a 150 °C hasta peso constante, y transferir a un vaso de precipitados de 250 ml. Disolver la muestra en 150 ml de agua que contiene 2 ml de ácido clorhídrico 3 N, agregar 15 ml de hidróxido de sodio 1 N y 250 mg de azul hidroxinaftol. Titular con edetato disódico 0,05 M (SV) hasta que la solución se torna de color azul profundo. Cada mililitro de edetato disódico 0,05 M equivale a 8,307 mg de $\text{Ca}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2$. Contiene entre 97,5 y 101 %.

Óxido de calcio y carbonato - Triturar 1 g de citrato de calcio con 5 ml de agua durante 1 minuto: la mezcla no colorea de rojo el papel de tornasol azul. Luego agregar 5 ml de ácido clorhídrico 3 N caliente: sólo se desprenden unas pocas burbujas aisladas.

Materia insoluble en ácido clorhídrico - Disolver 5 g calentando con una mezcla de 10 ml de ácido clorhídrico y 50 ml de agua durante 30 minutos: se obtiene no más de 2,5 mg de residuo insoluble (0,05%).

Pérdida por secado <680> - Secar a 150 °C hasta peso constante: pierde entre 12,2 y 13,3 % de su peso.

Límite de arsénico <540> - Proceder según se indica para compuestos orgánicos, empleando 0,50 g (6 ppm de As).

Metales pesados <590> - *Método I*. No más de 0,002 %.

Citrato dibásico de amonio - $(\text{NH}_4)_2\text{HC}_6\text{H}_5\text{O}_7$ - (PM: 226,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Citrato férrico amónico - Escamas delgadas, transparentes, de color rojo granate o gránulos o polvo amarillo pardusco, inodoro o con un ligero olor a amoníaco. Es delicuescente y sensible a la luz. Muy soluble en agua; insoluble en alcohol.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 1 g y transferir a un erlenmeyer con tapón de vidrio. Disolver en 25 ml de agua, agregar 5 ml de ácido clorhídrico y 4 g de ioduro de potasio, colocar el tapón en el erlenmeyer y dejar reposar en la oscuridad durante 15 minutos. Agregar 100 ml de agua y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 5,585 mg de Fe. Contiene entre 16,5 y 18,5 %.

Citrato férrico - A 250 mg disueltos en 25 ml de agua, agregar 1 ml de ferrocianuro de potasio (SR): no se forma precipitado azul.

Tartrato - Disolver 1 g en 10 ml de agua, agregar 1 ml de hidróxido de potasio (SR), calentar a ebullición para coagular el hidróxido férrico, agregando más hidróxido de potasio (SR), si fuera necesario, para precipitar todo el hierro, filtrar y acidificar levemente el filtrado con ácido acético glacial. Agregar 2 ml de ácido acético glacial y dejar reposar durante 24 horas: no se forma precipitado blanco cristalino.

Plomo <600> - Disolver 1,0 g en 30 ml de agua, agregar 5 ml de ácido nítrico diluido (1 en 21), calentar a ebullición suavemente durante 5 minutos, enfriar y diluir con agua a 50 ml: 20 ml de solución no presentan más de 0,008 mg de Pb (0,002 %).

Citronelal - (*3,7-Dimetil-6-octenal*) - $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$ - (PM: 154,3) - Soluble en alcoholes, muy poco soluble en agua.

Densidad relativa <160> - Entre 0,848 y 0,856.

Índice de refracción <230> - Aprox. 1,446.

Rotación específica <170> - Aprox. + 11,50°.

Para uso en cromatografía de gases, debe cumplir con el siguiente ensayo.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 60 m x 0,25 mm recubierta con una capa de fase estacionaria constituida por goma de polietilenglicol 20.000 de 0,2 µm. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 260 °C. La temperatura de la columna se debe mantener a 80 °C durante 2 minutos, se programa un ascenso de 3 °C por

minuto hasta 150 °C, luego un ascenso de 2,2 C por minuto hasta 185 °C y luego se programa un ascenso de 9,3 °C por minuto hasta 250 °C. Se emplea helio como gas transportador, el caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto. El contenido de citronelal no debe ser menor de 95,0 %, calculado por el procedimiento de normalización.

Cloramina T - (*p*-Toluensulfocloramida) - (PM: 281,7) - $C_7H_7ClNNaO_2S \cdot 3H_2O$ - Cristales o polvo cristalino blanco o débilmente amarillo, con un leve olor a cloro. Fácilmente soluble en agua y agua hirviendo; soluble en alcohol, con descomposición; insoluble en cloroformo y éter. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto, en un sitio frío.

Valoración - Pesar exactamente 400 mg y disolver en 50 ml de agua. Agregar, en el siguiente orden, 10 ml de ioduro de potasio (SR) y 5 ml de ácido sulfúrico diluido. Dejar reposar durante 10 minutos y titular el yodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV). Cada mililitro de solución de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 14,1 mg de $C_7H_7ClNNaO_2S \cdot 3H_2O$. Contiene entre 98,0 y 103,0 % de $C_7H_7ClNNaO_2S \cdot 3H_2O$.

Compuesto orto - Calentar a ebullición 2,0 g con una mezcla de 10 ml de agua y 1,0 g de metabisulfito de sodio, enfriar en hielo y filtrar rápidamente: el residuo, luego de lavarse con tres porciones de 5 ml de hielo-agua fría y secado al vacío sobre pentóxido de fósforo, funde a una temperatura mayor o igual a 134 °C.

Cloruro de sodio - Pesar exactamente 1 g, agitar con 15 ml de alcohol absoluto, filtrar, lavar el residuo con dos porciones de 5 ml de alcohol absoluto y secar a 105 °C hasta peso constante: el residuo representa no más de 1,5 % del peso tomado.

Clorato de potasio - $KClO_3$ - (PM: 122,6) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Clorhidrato de alprenolol - $C_{15}H_{23}NO_2 \cdot HCl$ - (PM: 285,8) - Emplear uno de grado apropiado.

Clorhidrato de clortetraciclina - Emplear *Clorhidrato de clortetraciclina*.

Clorhidrato de 3,3'-diaminobencidina - (PM: 360,1) - $(NH_2)_2C_6H_3C_6H_3(NH_2)_2 \cdot 4HCl$ - Cristales en forma de aguja, de color blanco a canela amarillento (ocasionalmente púrpura). Soluble en agua. Estable en solventes orgánicos pero inestable en solución acuosa a temperatura ambiente. Almacenar las soluciones acuosas en un refrigerador.

Materia insoluble - Disolver 2 g en 100 ml de agua sin calentar y filtrar de inmediato: el residuo insoluble no es mayor de 1 mg (0,05 %).

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 2 g (0,05 %).

Ensayo de aptitud para la detección de selenio - Disolver 1,633 g de ácido selenioso (H_2SeO_3) en agua y diluir con agua a 1 litro. Diluir 10 ml de esta solución con agua a 1 litro, hasta obtener una solución que contenga 0,010 mg de Se por ml (*Solución de selenio estándar*). Transferir 1 ml de la solución resultante a un vaso de precipitados de 100 ml, agregar 2 ml de solución de ácido fórmico (1 en 7) y diluir con agua a 50 ml. Agregar 2 ml de solución de clorhidrato de 3,3'-diaminobencidina (1 en 200) y dejar reposar durante 30 a 50 minutos. Ajustar con hidróxido de amonio 6 N a pH entre 6 y 7. Transferir a una ampolla de decantación de 125 ml, agregar 10,0 ml de tolueno y agitar vigorosamente durante 30 segundos: se produce un color amarillo característico en la fase de tolueno. Un blanco conteniendo clorhidrato de diaminobencidina pero no *Solución de selenio estándar*, tratado de la misma manera, no presenta color en la fase de tolueno.

Clorhidrato de 2-etilaminopropiofenona - (PM: 213,7) - $C_6H_5COCH(CH_3)NHC_2H_5 \cdot HCl$ - Emplear uno de grado apropiado.

Clorhidrato p-fenilendiamina - (*Diclorhidrato de 1,4-diaminobenceno*) - $C_6H_8N_2 \cdot 2HCl$ - (PM: 181,1) - Cristales de color entre blanco y canela pálido o polvo cristalino, que se torna de color rojo por exposición al aire. Fácilmente soluble en agua; algo soluble en alcohol y éter. Conservar en envases inactivos de cierre perfecto.

Materia insoluble - Disolver 1 g en 10 ml de agua: la solución es clara y completa.

Absortividad molar (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) - Disolver 60 mg en 100,0 ml de agua y mezclar. Transferir 2 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con solución reguladora pH 7 y mezclar. La absortividad molar de esta solución, a 239 nm, no es menor de 9000.

Clorhidrato de fenilhidracina - (PM: 144,6) - $C_6H_5NHNH_2 \cdot HCl$ - Cristales o polvo blanco o amarillento. Soluble en agua y alcohol. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto.

Intervalo de fusión <260> - Entre 242 y 246 °C, con un leve oscurecimiento.

Solubilidad - Disolver porciones separadas de 500 mg en 10 ml de agua y en 10 ml de alcohol, respectivamente, para obtener soluciones completas y transparentes o prácticamente transparentes.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,1 %).

Clorhidrato de fenoxibenzamina - [N-(2-Cloroetil)-N-(1-metil-2-fenoxietil)bencilamina clorhidrato] - $C_{18}H_{22}ClNO$. HCl - (PM: 340,3) - Polvo blanco, cristalino.

Intervalo de fusión <260> - Entre 137 y 140 °C.

Absortividad - Su absortividad (1 %, 1 cm) en el intervalo de 272 a 290 nm, en solución de cloroformo es aproximadamente 178.

Clorhidrato de guanidina - CH_5N_3 . HCl - (PM: 95,5) - Polvo cristalino blanco. Fácilmente soluble en agua y alcohol.

Intervalo de fusión <260> - Entre 178 y 189 °C.

Contenido de cloruro - Disolver aproximadamente 400 mg, exactamente pesados, en 5 ml de agua. Agregar 5 ml de ácido acético glacial, 50 ml de metanol y 1 gota de eosina (SR). Titular con nitrato de plata 0,1N (SV). Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 3,545 mg de Cl. Contiene no menos de 36,1 % y no más de 37,1 %, calculado sobre la sustancia anhidra.

Clorhidrato de guanina - $C_5H_5N_5O$. HCl . H_2O - (PM: 205,6) - Polvo blanco, cristalino. Funde por encima de 250 °C, con descomposición. Poco soluble en agua y alcohol; soluble en agua acidulada e hidróxido de sodio (SR). Sus soluciones no son precipitadas por iodo (SR) o por yoduro de potasio (SR) pero forman un precipitado con trinitrofenol (SR).

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 100 mg.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 10,0 % de su peso.

Clorhidrato de hidroxilamina - NH_2OH . HCl - (PM: 69,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Clorhidrato de metafenilendiamina - (Diclorhidrato de metafenilendiamina) - $C_6H_4(NH_2)_2$. $2HCl$ - (PM: 181,1) - Polvo cristalino blanco o algo rojizo. Fácilmente soluble en agua. Expuesto a la luz adquiere un color rojizo. Almacenar en envases inactivos.

Solubilidad - Una solución de 1 g en 200 ml de agua es incolora.

[NOTA: la solución de clorhidrato de metafenilendiamina puede ser decolorada mediante tratamiento con una pequeña cantidad de carbón activado.]

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,1 %).

Clorhidrato de metilbenzotiazolona-hidrazona - Ver Metilbenzotiazolona-hidrazona, clorhidrato de.

Clorhidrato de 1-naftilamina - $C_{10}H_7NH_2$. HCl (PM: 179,7) - Polvo blanco, cristalino que se torna azulado por exposición a la luz y al aire. Soluble en agua, alcohol y éter.

Una solución (1 en 100) acidificada con ácido acético, da un color violeta con 5 gotas de cloruro férrico (SR). Una solución (1 en 40) en ácido acético diluido es incolora y sólo algo opalescente.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 200 mg con unas pocas gotas de ácido sulfúrico: el peso del residuo es mínimo.

Clorhidrato de N-(1-naftil)etilendiamina - $C_{12}H_{14}N_2$. HCl - (PM: 259,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Clorhidrato del éster metílico de p-toluensulfonil-L-arginina - $C_{14}H_{22}N_4O_4S$. HCl - (PM: 378,9) - Determinar su aptitud según se especifica en el ensayo *Límite de tripsina en Quimotripsina*.

Clorhidrato del éster etílico de N-benzoil-L-arginina - $C_{15}H_{22}N_4O_3$. HCl - (PM: 342,8) - Determinar si es apropiado para emplear como sustrato según se especifica en *Tripsina cristalizada*.

Clorhidrato de piridoxal - $C_8H_9NO_3$. HCl - (PM: 203,6) - Cristales o polvo cristalino de un color entre blanco a ligeramente amarillo. Se oscurece gradualmente por exposición al aire o a la luz solar. Fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol; insoluble en acetona, cloroformo y éter. Sus soluciones son ácidas (aproximadamente pH 3).

Intervalo de fusión <260> - Entre 171 y 175 °C, con descomposición.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,1 %.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 2 horas: no pierde más de 0,5 % de su peso.

Contenido de nitrógeno (Ensayo para reactivos) - Determinar por el método de Kjeldahl, empleando una muestra secada previamente a 105 °C durante 2 horas: contiene entre 6,7 y 7,1 % de N.

Contenido de cloruro - Pesar exactamente 500 mg, previamente secados a 105 °C durante 2 horas, y disolver en 50 ml de agua. Agregar 3 ml de ácido nítrico y 50,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV) luego agregar 5 ml de nitrobenzoceno, agitar durante aproximadamente 2 minutos, agregar sulfato férrico amónico (SR) y titular el nitrato de plata en exceso con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N

equivale a 3,545 mg de Cl. Contiene entre 17,2 y 17,7 %.

Cloro - Cl₂ - (PM: 70,9) - Gas amarillo verdoso. Grado de alta pureza comercialmente disponible por la mayoría de los proveedores de gases de la especialidad.

m-Cloroacetanilida - C₈H₈ClNO - (PM: 169,6) - Gránulos de color beige a casi blanco.

Valoración -

Fase móvil - Acetonitrilo y agua (22:3).

Procedimiento - Inyectar aproximadamente 20 µl en un cromatógrafo de líquidos (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector a 254 nm y una columna de 15 cm x 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice porosa de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal es de aproximadamente 1,5 ml por minuto. El área del pico de C₈H₈ClNO no es menor de 99,9 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 79 y 80 °C.

p-Cloroacetanilida - C₈H₈ClNO - (PM: 169,6) - Cristales o polvo cristalino en forma de agujas, blanco o amarillo pálido. Insoluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Solubilidad - 1 g se disuelve en 30 ml de alcohol para formar una solución transparente.

Intervalo de fusión <260> - Entre 178 y 181 °C.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,1 %.

1-Cloroadamantano - C₁₀H₁₅Cl - (PM: 170,7) - Sólido cristalino de color blanco.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m x 0,25 mm recubierta con una capa de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano de 1 µm. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de C₁₀H₁₅Cl no es menor de 97,5 % del área total.

3-Cloroanilina - C₆H₆ClN - (PM: 127,6) - Líquido incoloro a pardo claro. Soluble en ácido y en la mayoría de los solventes orgánicos; prácticamente insoluble en agua.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m x 0,25 mm recubierta con una capa de 1 µm de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano.

Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de C₆H₆ClN no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,592 y 1,596, a 20 °C.

Clorobenceno - C₆H₅Cl - (PM: 112,6) - Líquido transparente, incoloro de olor característico. Insoluble en agua; soluble en alcohol, cloroformo y éter.

Densidad relativa <160> - Entre 1,100 y 1,111.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 129 y 131 °C.

Acidez - A 200 ml de metanol agregar rojo de metilo (SR) y neutralizar con hidróxido de sodio 0,1 N, sin tener en cuenta la cantidad de álcali consumido. Disolver 23 ml de muestra en el metanol neutralizado y titular con hidróxido de sodio 0,10 N: no se requiere más de 1,0 ml para neutralizar la muestra (aproximadamente 0,015 % como HCl).

Residuo de evaporación - Evaporar 91 ml en una placa calefactora y secar a 105 °C durante 30 minutos: el residuo no pesa más de 10 mg (aproximadamente 0,010 %).

4-Clorobenzofenona - C₁₃H₉ClO - (PM: 216,7) - Emplear uno de grado apropiado.

1-Clorobutano - Ver Cloruro de n-butilo.

Clorobutanol - (1,1,1-tricloro-2-metil-2-propanol) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

2-Cloroetilamina monoclóhidrato - (PM: 116,0) - C₂H₆ClN . HCl - Polvo casi blanco.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m x 0,25 mm recubierta con una capa de 1 µm de fase estacionaria que consiste en 14 % de cianopropilfenil y 86 % de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 150 °C y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a aproximadamente 50 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 200 °C. Se empleando helio como gas transportador. El área del pico de C₂H₆ClN . HCl no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 150 y 246 °C.

p-Clorofenol - C₆H₅ClO - (PM: 128,6) - Sólido cristalino blanco a amarillo pálido, de olor

característico. Moderadamente soluble en agua; muy soluble en acetona, éter y metanol.

Valoración - Transferir aproximadamente 200 mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados de 100 ml, agregar 25 ml de agua, agitar por rotación hasta disolver y agregar gota a gota, suficiente solución de hidróxido de sodio para asegurar la completa disolución de la muestra. Transferir la solución a un erlenmeyer con tapón de vidrio de 500 ml, emplear agua para lavar el vaso de precipitados y diluir con agua a aproximadamente 100 ml. Agregar 25,0 ml de bromurobromato de potasio 0,1 N (SV) y 10 ml de ácido clorhídrico, inmediatamente insertar el tapón en el erlenmeyer y agitar por rotación vigorosamente durante 2 a 3 minutos. Remover el tapón, agregar rápidamente 5 ml de solución de yoduro de potasio (1 en 5), teniendo cuidado de evitar pérdida de bromo, insertar de inmediato el tapón y agitar vigorosamente durante aproximadamente 1 minuto. Lavar el tapón y el cuello del erlenmeyer con agua. Titular con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Cada mililitro de bromuro-bromato de potasio 0,1 N equivale a 6,43 mg de C_6H_5OCl . Contiene no menos de 99 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 42 y 44 °C.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 90 % destila entre 218,5 y 221,5 °C.

Cloroformo - $CHCl_3$ - (PM: 119,4) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloroformo libre de alcohol - Emplear uno de grado apropiado.

Cloroformo, metil - Ver Metilcloroformo.

1-Cloronaftaleno - (*Alfacloronaftaleno*) - (PM: 162,6) - $C_{10}H_7Cl$ - Líquido incoloro a amarillo claro.

Valoración - Emplear un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,83 m × 3,2 mm con una fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano al 7 % sobre soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad, pero no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y 310 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se programa para que aumente 10 °C por minuto de 50

a 250 °C. Contiene no menos de 98 % de $C_{10}H_7Cl$, siendo 2-cloronaftaleno no más de 2 %.

Índice de refracción - Entre 1,6320 y 1,6340, a 20 °C.

2-Cloro-4-nitroanilina - $C_6H_5ClN_2O_2$ - (PM: 172,6) - Polvo cristalino amarillo. Fácilmente soluble en metanol. Funde aproximadamente a 107 °C. Conservar en envases inactivos.

Cloroplatinato de potasio - K_2PtCl_6 - (PM: 486,0) - Polvo pesado, amarillo. Soluble en ácido clorhídrico y ácido nítrico.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 300 mg, transferirlos a un vaso de precipitados de 600 ml, agregar 20 ml de ácido clorhídrico y calentar suavemente, si fuera necesario, para lograr la disolución completa. Agregar granallas de cinc, lentamente, hasta que no se disuelvan más. Agregar 2 ml de ácido clorhídrico y digerir durante 1 hora en un baño de vapor para coagular el platino reducido. Agregar más ácido, si fuera necesario, para asegurar que se haya disuelto todo el cinc. Filtrar a través de papel, lavando el vaso de precipitados con ácido clorhídrico diluido hasta que todo el precipitado sea transferido al filtro luego lavar con varias porciones de agua. Incinerar el filtro en un crisol previamente pesado a 800 ± 25 °C hasta peso constante. Cada miligramo de residuo equivale a 1,0 mg de platino. Contiene no menos de 40 %.

5-Cloro salicílico, ácido - Ver ácido 5-cloro salicílico.

Clorotrimetilsilano - C_3H_9ClSi - (PM: 108,6) - Líquido transparente, incoloro a amarillo claro. Emite gases cuando se expone al aire húmedo.

Precaución - *Reacciona violentamente con agua, alcoholes y otros dadores de hidrógeno. Almacenar en envases de vidrio de cierre perfecto.*

Índice de refracción - Entre 1,3850 y 1,3890, a 20 °C.

Cloruro cobaltoso - (*Cloruro de cobalto*) - (PM: 237,9) - $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro cúprico - $CuCl_2 \cdot H_2O$ - (PM: 170,5) - Cristales deliquescentes verde azulados. Fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol; poco soluble en éter.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1,0 mg, determinado sobre 10 g (0,010 %). Retener el filtrado y los lavados combinados para el ensayo de *Sulfato*.

Nitrato - Disolver 500 mg en 30 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 30). Lentamente agregar la solución, con agitación constante, a 20 ml de

solución de hidróxido de sodio (1 en 10) y digerir en un baño de vapor durante 15 minutos. Enfriar, diluir con agua a 50 ml y filtrar. A 10 ml del filtrado transparente, agregar 0,05 ml de índigo carmín (SR) seguido de 10ml de ácido sulfúrico: el color azul no desaparece completamente dentro de 5 minutos (aproximadamente 0,15 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método II*. El filtrado y los lavados combinados retenidos del ensayo para *Materia insoluble* no producen más de 1,2 mg de residuo (0,005 %).

Sustancias no precipitadas por sulfuro de hidrógeno - Disolver 2 g en 100 ml de agua, agregar 1 ml de ácido sulfúrico, calentar la solución a 70 °C y pasar sulfuro de hidrógeno a través de la solución hasta que el cobre precipite completamente. Dejar que el precipitado sedimente y filtrar sin lavar. Transferir 50,0 ml del filtrado a un cristallizador previamente pesado y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Suavemente calcinar el cristallizador sobre una llama y luego a 800 ± 25 °C hasta peso constante. Enfriar y pesar: el residuo no pesa más de 1,0 mg (0,1%). Retener el residuo para el ensayo de *Hierro*.

Hierro <580> - Al residuo retenido del ensayo anterior, agregar 2 ml de ácido clorhídrico, 2 ml de agua y 0,05 ml de ácido nítrico. Evaporar lentamente en un baño de vapor hasta sequedad luego tomar el residuo en 1 ml de ácido clorhídrico y 10 ml de agua. Diluir con agua a 100 ml y mezclar. A 20 ml de la dilución agregar 10 ml de agua y mezclar: 10 ml de esta solución no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,015 %). Retener la dilución del residuo para el ensayo de *Otros metales*.

Otros metales - A 20 ml de la solución del residuo retenida del ensayo para *Hierro* agregar un leve exceso de hidróxido de amonio, calentar a ebullición la solución durante 1 minuto, filtrar y lavar el residuo con agua hasta que el filtrado y los lavados combinados midan 20 ml. Neutralizar el filtrado con ácido clorhídrico diluido, diluir con agua a 25 ml y agregar 0,15 ml de hidróxido de amonio y 1 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): cualquier color producido no es más oscuro que el de un control que contiene, en el mismo volumen, 0,15 ml de hidróxido de amonio, 1 ml de sulfuro de hidrógeno (SR) y 0,02 mg de Ni (0,01 % como Ni).

Cloruro de acetilcolina - (PM: 181,7) - [CH₃COOCH₂CH₂N(CH₃)]Cl - Polvo blanco cristalino, inodoro o casi inodoro. Muy deliquescente. Muy soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol.

Intervalo de fusión <260> - Cuando se seca previamente a 110 °C en un tubo capilar durante 1 hora, funde entre 149 y 152 °C.

Reacción - Una solución 1 en 10 es neutra frente al tornasol.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 200 mg.

Solubilidad en alcohol - Una solución de 500 mg en 5 ml de alcohol es completa e incolora.

Porcentaje de acetilo (CH₃CO) - Pesar exactamente 400 mg, previamente secados a 105 °C durante 3 horas, y disolver en 15 ml de agua en un erlenmeyer con tapón de vidrio. Agregar 40,0 ml de hidróxido de sodio 0,1 N (SV), calentar en un baño de vapor durante 30 minutos. Insertar el tapón, dejar enfriar, agregar fenoltaleína (SR) y titular el exceso de álcali con ácido sulfúrico 0,1 N (SV). Determinar la normalidad exacta del hidróxido de sodio 0,1 N titulando 40,0 ml, una vez tratados de la misma manera que en el ensayo. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 4,305 mg de CH₃CO. Contiene entre 23,2 y 24,2 %.

Porcentaje de cloro (Cl) - Pesar exactamente 400 mg, previamente secados a 105 °C durante 3 horas, y disolver en 50 ml de agua en un erlenmeyer de 125 ml con tapón de vidrio. Agregar mediante agitación 30,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV), a continuación agregar 5 ml de ácido nítrico y 5 ml de nitrobenzono, agitar, agregar 2 ml de sulfato férrico amónico (SR) y titular el nitrato de plata en exceso con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N (SV) equivale a 3,545 mg de Cl. Contiene entre 19,3 y 19,8 % de Cl.

Cloruro de acetilo - CH₃COCl - (PM: 78,5) - Líquido transparente, incoloro, de fuerte olor acre. Se descompone en presencia de agua y alcohol. Miscible con cloroformo. Densidad relativa: aprox. 1,1.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 94 % destila entre 49 y 53 °C.

Residuo de evaporación - Evaporar 10 ml en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 2,5 mg (aproximadamente 0,02 %).

Miscibilidad con cloroformo - Porciones separadas de 5 ml proporcionan soluciones claras con 20 ml de cloroformo.

Solubilidad - Colocar 5 ml en una probeta de 50 ml y agregar con cuidado, gota a gota, aproximadamente 3 ml de agua, agitando luego de cada agregado hasta que la reacción se complete, luego diluir con agua a 50 ml: la solución es transparente.

Compuestos fosforados (Ensayo para reactivos) - Agregar 3 ml de ácido nítrico a 5 ml de la solución obtenida en el ensayo para *Solubilidad* y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. El residuo, disuelto en 20 ml de agua, no presenta más de 0,03 mg de PO_4 (0,02 % como P).

Metales pesados - Diluir 10 ml de la solución obtenida en el ensayo para *Solubilidad* con 30 ml de agua, agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR) y alcalinizar con amoníaco (SR): no se produce ningún cambio notorio en el color.

Cloruro de amonio - NH_4Cl - (PM: 53,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de bario - $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 244,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de bario anhidro - BaCl_2 - (PM: 208,2) - Puede obtenerse secando cloruro de bario en capas delgadas a 125 °C hasta que la pérdida de peso entre dos periodos de secado de 3 horas sucesivos no sea mayor de 1 %.

Cloruro de bario dihidrato - Emplear cloruro de bario.

Cloruro de bencenosulfonilo - $\text{C}_6\text{H}_5\text{SO}_2\text{Cl}$ - (PM: 176,6) - Líquido incoloro, aceitoso. Insoluble en agua fría; soluble en alcohol y éter. Solidifica a 0 °C.

Intervalo de fusión <260> - Entre 14 y 17 °C.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 251 y 252 °C.

Cloruro de benciltrimetilamonio - (PM: 185,7) $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{Cl}$ - Disponible como una solución acuosa al 60 %. Esta solución es transparente e incolora o algo amarillenta y tiene un leve olor a amina.

Valoración - Transferir 2 ml a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con agua. Transferir 20 ml de la solución en un erlenmeyer de 125 ml, agregar aproximadamente 30 ml de agua, luego agregar 0,25 ml de diclorofluoresceína (SR) y titular con nitrato de plata 0,1 N (SV).

Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 18,57 mg de $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{Cl}$. Contiene entre 59,5 y 60,5 %.

Cloruro de benzalconio - Emplear *Cloruro de benzalconio*.

Cloruro de benzoilo - $\text{C}_6\text{H}_5\text{COCl}$ - (PM: 140,6) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de cobalto - $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 237,9) - Polvo cristalino rojo o cristales rojo oscuro. Muy soluble en agua; soluble en alcohol.

Cloruro de n-butilo - (*1-Clorobutano*) - $\text{C}_4\text{H}_9\text{Cl}$ - (PM: 92,6) - Líquido transparente,

incoloro, volátil, de olor leve, característico. Altamente inflamable. Prácticamente insoluble en agua. Miscible con alcohol y éter.

Valoración - Analizar por cromatografía gas-líquido empleando un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,8 m \times 3 mm con una fase estacionaria de polietilenglicol (p.m.p aproximadamente 15.000 [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido]) sobre soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad, pero no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el detector y el inyector a aproximadamente 310 y 230 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se programa para aumentar 10 °C por minuto de 35 a 150 °C. Se emplea helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 40 ml por minuto. Presenta una pureza de no menos de 98 %.

Intervalo de ebullición <240> - Entre 76 y 80 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 2 °C.

Índice de refracción - Entre 1,4015 y 1,4035, a 20 °C.

Acidez - Agregar fenoltaleína (SR) a 75 ml y titular con hidróxido de potasio 0,1 N en metanol hasta color rosado débil persistente, con agitación, durante 1,5 segundos: no se requieren más de 0,91 ml (aproximadamente 0,005 % como HCl).

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 0,02 %.

Residuo después de la evaporación - Evaporar aproximadamente 60 ml (50 g), exactamente pesados, en una cápsula de platino, previamente pesada, en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: no contiene más de 0,005 %.

Cloruro de calcio - $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 147,0) - Emplear cloruro de calcio dihidrato de grado apropiado.

Cloruro de calcio anhidro (para secado) - CaCl_2 - (PM: 111,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de cesio - CsCl - (PM: 168,4) - Polvo blanco. Muy soluble en agua; fácilmente soluble en metanol; prácticamente insoluble en acetona.

Cloruro de cetiltrimetilamonio al 25 % en agua - $\text{C}_{19}\text{H}_{42}\text{ClN}$ - (PM: 320,0) - Emplear uno de grado apropiado.

Cloruro de cinc anhidro pulverizado - Emplear *Cloruro de cinc* secado y pulverizado.

Cloruro de colina - $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{Cl}$ - (PM: 139,6) - Cristales blancos o polvo cristalino. Muy soluble en agua. Es higroscópico. Almacenar en envases de cierre perfecto.

Valoración - Transferir aproximadamente 100 mg, previamente secados a 105 °C durante 2 horas y exactamente pesados, a un vaso de precipitados, agregar 20 ml de agua y 1 gota de solución de cloruro de aluminio (1 en 10) y mezclar. Agregar lentamente 20 ml de una solución de tetrafenilborato de sodio recientemente preparada y filtrada (1 en 50) y dejar la mezcla en reposo durante 30 minutos agitando ocasionalmente por rotación. Filtrar a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media y lavar el vaso de precipitados y el precipitado con cuatro porciones de 10 ml de agua. El peso del precipitado, determinado luego de secar a 105 °C durante 2 horas y multiplicado por 0,3298, da el peso equivalente de $\text{C}_3\text{H}_{14}\text{ClNO}$. Contiene no menos de 99,5 %.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,1 %.

Cloruro de dimetiletil(3-hidroxifenil)amonio - Emplear *Cloruro de edrofonio*.

Cloruro de 3,5-dinitrobenzoilo - (PM: 230,6) - $(\text{NO}_2)_2\text{C}_6\text{H}_3\text{COCl}$ - Polvo cristalino amarillo pálido. Fácilmente soluble en soluciones de hidróxido de sodio diluidas; soluble en alcohol.

Intervalo de fusión <260> - Entre 67 y 69 °C.

Solubilidad en hidróxido de sodio - Una solución de 500 mg en 25 ml de hidróxido de sodio 1 N es transparente o no más que débilmente turbia.

Residuo de ignición - Someter a ignición 1 g con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,1 %).

Cloruro de etileno - (*1,2-Dicloroetano*) - $\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$ - (PM: 99,0) - Líquido transparente e incoloro: Miscible con éter. Soluble en 120 partes de agua aproximadamente; soluble en 2 partes de alcohol.

Densidad relativa <160> - Aprox. 1,250.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 82 y 84 °C.

Cloruro de 3-hidroxifenildimetiletil amonio - [*Cloruro de dimetiletil(3-hidroxifenil)amonio*] - Emplear *Cloruro de edrofonio*.

Cloruro de lantano - LaCl_3 - (PM: 245,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de litio - LiCl - (PM: 42,4) - Cristales o gránulos blancos, deliquescentes. Fácilmente soluble en agua; soluble en acetona, alcohol,

alcohol amílico y éter. Conservar en envases de cierre perfecto.

Valoración - Disolver aproximadamente 1,3 g, previamente secados a 120 °C durante 1 hora y exactamente pesados, en agua para obtener 50,0 ml. Transferir 5 ml de la solución a un erlenmeyer de 250 ml y agregar 5 ml de ácido acético glacial, 50 ml de metanol y 2 gotas de eosina (SR). Titular lentamente con nitrato de plata 0,1 N (SV), agregándolo gota a gota hacia el final, hasta que se torne de un color rojo intenso algo fluorescente. Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 4,239 mg de LiCl . Contiene no menos de 98 %.

Neutralidad - Disolver 2 g en 20 ml de agua y agregar 1 gota de rojo de metilo (SR): cualquier color rojo producido vira al amarillo con el agregado de no más de 0,30 ml de hidróxido de sodio 0,020 N. Cualquier color amarillo producido vira a rosado con el agregado de no más de 0,30 ml de ácido clorhídrico 0,020 N.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1,0 mg, determinado sobre 10 g (0,010 %).

Nitrato (Ensayo para reactivos) - 1 g disuelto en 2 ml de agua no presenta más color que el que se observa en 1,0 ml de *Solución de nitrato estándar* (0,001 %).

Fosfato (Ensayo para reactivos) - 2 g no presentan más de 0,02 mg de PO_4 (0,001 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. 1 g presenta no más de 0,2 mg de SO_4 (0,02 %).

Amonio -

Solución de amonio estándar - Disolver 296 mg de cloruro de amonio en agua para obtener 1 litro. Esta solución contiene el equivalente de 0,1 mg de amonio (NH_4) por ml.

Procedimiento - A una solución de 900 mg en 50 ml de agua, agregar 1 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 10) y 2 ml de iodomercuriato de potasio alcalino (SR): no se produce más color que el producido por 0,3 ml de *Solución de amonio estándar*, diluido con agua a 50 ml y tratado en forma similar (0,003 %).

Bario - Disolver 2 g en 20 ml de agua, filtrar y fraccionar el filtrado en dos porciones iguales. A una porción agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido y al otro agregar 1 ml de agua: luego de 2 horas, las dos porciones están igualmente claras.

Calcio (Ensayo para reactivos) - Disolver 2,50 g en agua para obtener 100 ml (*Solución muestra*). Disolver otros 2,50 g en una mezcla de 5,00 ml de *Solución de calcio estándar* y agua para obtener 100ml (*Solución control*). Determinar el calcio según se indica en *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica para reactivos* (Ensayo para reactivos) (0,02%).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 0,001 %.

Hierro <580> - Una solución de 500 mg en 47 ml de agua que contiene 2 ml de ácido clorhídrico no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,002 %).

Magnesio -

Solución de magnesio estándar - Disolver 1,014 g de cristales transparentes no eflorecidos de sulfato de magnesio en agua para obtener 1 litro. Esta solución contiene el equivalente de 0,1 mg de magnesio (Mg) por ml.

Procedimiento - A una solución de 1 g en 45 ml de agua, agregar 0,5 ml de solución de amarillo de tiazol (1 en 10.000) y 5 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 10): el color rosado que se produce no es más intenso que el producido por 1 ml de *Solución de magnesio estándar*, diluida con agua a 45 ml y tratada en forma similar (0,1 %).

Potasio (Ensayo para reactivos) - Disolver 5,0 g en agua para obtener 100 ml (*Solución muestra*). Disolver otros 5,0 g en una mezcla de 1,00 ml de *Solución de potasio estándar* y agua para obtener 100 ml (*Solución control*). Determinar el potasio según se indica en *Fotometría de llama para reactivos* (Ensayo para reactivos) (0,01 %).

Sodio (Ensayo para reactivos) - Disolver 200 mg en agua para obtener 100 ml (*Solución muestra*). Disolver otros 200 mg en una mezcla de 20 ml de *Solución de sodio estándar* y agua para obtener 100 ml (*Solución control*). Determinar el sodio según se indica en *Fotometría de llama para reactivos* (Ensayo para reactivos) (0,1 %).

Cloruro de magnesio - $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ - (PM: 203,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de metileno - (*Diclorometano*) - CH_2Cl_2 - (PM: 84,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de nitrobenzoilo - $C_7H_4ClNO_3$ - (PM: 185,6) - Masa cristalizada o cristales amarillos que se descomponen en el aire húmedo. Muy soluble en soluciones de hidróxido de sodio dando una solución amarilla-anaranjada.

Punto de fusión - Aprox. 72 °C.

Cloruro de oro - (*Ácido cloráurico*) - $HAuCl_4 \cdot 3H_2O$ - (PM: 393,8) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de paladio - $PdCl_2$ - (PM: 177,3) - Polvo cristalino marrón. Soluble en agua, alcohol, acetona y ácido clorhídrico diluido.

Valoración - Disolver 80 mg, exactamente pesados, en 10 ml de ácido clorhídrico diluido, diluir con agua a 50 ml y agregar 25 ml de una

solución 1 en 100 de dimetilglioxima en alcohol. Dejar reposar durante 1 hora y filtrar. Controlar la completa precipitación con la solución de dimetilglioxima. Incinerar el precipitado en un crisol de platino, previamente pesado, a 850 °C durante 2 horas, enfriar y pesar el paladio. El peso del residuo no es menor de 59,0 % del peso de la muestra.

Cloruro de potasio - KCl - (PM: 74,6) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de sodio - NaCl - (PM: 58,4) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de tetrametilamonio - $(CH_3)_4NCl$ - (PM: 109,6) - Cristales incoloros. Soluble en agua y alcohol; insoluble en cloroformo.

Valoración - Transferir aproximadamente 200 mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados, agregar 50 ml de agua y 10 ml de ácido nítrico diluido, agitar por rotación hasta disolver la muestra, agregar 50,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV) y mezclar. Agregar 2 ml de sulfato férrico amónico (SR) y 5 ml de nitrobenzono, agitar y titular el exceso de nitrato de plata con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 10,96 mg de $(CH_3)_4NCl$. Contiene no menos de 98 %.

Cloruro de trifeniltetrazolio - $C_{19}H_{15}ClN_4$ - (PM: 334,8) - Polvo cristalino blanco a amarillento. Fácilmente soluble en agua y alcohol; poco soluble en acetona; insoluble en éter. Contiene generalmente solvente de cristalización y cuando se seca a 105 °C funde aproximadamente a 240 °C, con descomposición.

Solubilidad - Porciones separadas de 100 mg se disuelven completamente en 10 ml de agua y en 10 ml de alcohol, respectivamente, dando soluciones transparentes o prácticamente transparentes.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 5,0 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 100 mg.

Sensibilidad - Disolver 10 mg en 10 ml de alcohol absoluto (A). Luego disolver 10 mg de dextrosa en 20 ml de alcohol absoluto (B). A 0,2 ml de B agregar 1 ml de alcohol absoluto y 0,5 ml de hidróxido de tetrametilamonio (SR) diluido (1 volumen se diluye con 9 volúmenes de alcohol absoluto) luego agregar 0,2 ml de A: un color rojo intenso se desarrolla dentro de los 10 minutos.

Cloruro de trifluorvinilo (polímero) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de vinilo - C_2H_3Cl - (PM: 62,5) - Gas incoloro. Poco soluble en solventes orgánicos.

Cloruro de trimetilacetohidrazida amonio - (*Cloruro de betain hidracida; Reactivo de Girard T*) $[(CH_3)_3N^+CH_2CONHNH_2]Cl^-$ - (PM: 167,6) - Cristales incoloros o blancos. Fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol; insoluble en cloroformo y éter. Higroscópico.

Intervalo de fusión <260> - Entre 185 y 192 °C, determinado luego de recristalización de alcohol caliente, si fuera necesario.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 10 mg (1 %).

Cloruro estañoso - $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ - (PM: 225,7) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro férrico - $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ - (PM: 270,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro mercúrico - $HgCl_2$ - (PM: 271,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro platínico - (*Ácido cloroplatínico*) - $H_2PtCl_6 \cdot 6H_2O$ - (PM: 517,9) - Emplear Ácido cloroplatínico de grado apropiado.

Cloruro talioso - $TiCl_4$ - (PM: 239,8) - Polvo fino, blanco, cristalino. Poco soluble en agua fría; moderadamente soluble en agua en ebullición; insoluble en alcohol. *Precaución* - *Veneno*; emplear con ventilación apropiada.

Valoración - Disolver aproximadamente 500 mg, exactamente pesados, en una mezcla de 80 ml de agua y 0,5 ml de ácido sulfúrico. Cuando la disolución es completa, agregar 20 ml de ácido clorhídrico. Calentar a 60 °C y mantener esta temperatura mientras se titula con sulfato cérico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente, empleando electrodos de plata-cloruro de plata y platino. Cada mililitro de sulfato cérico 0,1 N equivale a 11,99 mg de $TiCl_4$. Contiene no menos de 99 %.

Cobaltinitrito de sodio - $Na_3Co(NO_2)_6$ - (PM: 403,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cobalto, cloruro de - Ver Cloruro de cobalto.

Cobre - Cu - (PA: 63,55) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Colestano - $C_{27}H_{48}$ - (PM: 372,7) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Colesterilo, n-heptilato - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Compactina - $C_{23}H_{34}O_5$ - (PM: 390,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cortisona - $C_{21}H_{28}O_5$ - (PM: 360,4) - Polvo blanco, cristalino. Prácticamente insoluble en agua; moderadamente soluble en alcohol y acetona. Funde aproximadamente a 220 °C, con descomposición.

Máximo de absorción - El espectro de absorción ultravioleta de una solución 1 en 100.000 en alcohol presenta un máximo aproximadamente a 238 nm.

Rotación específica <170> - Aproximadamente + 209°, determinada en una solución 1 en 100 en alcohol.

Cromato de potasio - K_2CrO_4 - (PM: 194,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cromatografía, celulosa con indicador de fluorescencia para - Ver Celulosa con indicador de fluorescencia para cromatografía.

Cromatografía, éter de petróleo para - Ver Éter de petróleo para cromatografía.

Cromatografía, gel de sílice para - Ver Gel de sílice para cromatografía.

Cromatografía, gel de sílice con indicador de fluorescencia para - Ver Gel de sílice con indicador de fluorescencia para cromatografía.

Cromatografía, n-heptano para - Ver n-Heptano para cromatografía.

Cromatografía, óxido de magnesio para - Ver Óxido de magnesio para cromatografía.

Cromatografía, tierra de Fuller para - Ver Tierra de Fuller para cromatografía.

Cromatografía, tierra silícea para - Ver Tierra silícea para cromatografía.

Cromatografía, tierra silícea silanizada para - Ver Tierra silícea silanizada para cromatografía.

Cromazurol - $(5-[(3-Carboxilato-5-metil-4-oxociclohexa-2,5-dien-1-ilideno)(2,6-dicloro-3-sulfonatofenil)metil]-2-hidroxi-3-metilbenzoato de trisodio)$ - $C_{23}H_{13}Cl_2Na_3O_9S$ - (PM: 605,0) - Polvo negro pardusco, soluble en agua, poco soluble en alcohol.

Cromotropato de sodio - Ver Ácido cromotrópico.

Cromotropato disódico - (*Sal disódica del ácido 4,5-dihidroxi-2,7-naftalenodisulfónico*) - $C_{10}H_6O_8S_2Na_2 \cdot 2H_2O$ - (PM: 400,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Curcumina - (*1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)hepta-1,6-dieno-3,5-diona*) - $C_{21}H_{20}O_6$ - (PM: 368,4) - Polvo cristalino, pardo-anaranjado. Soluble en ácido acético glacial; prácticamente insoluble en agua y éter.

Punto de fusión - Aprox. 183 °C.

D

Dantrón - (1,8-Dihydroxiantraquinona) - $C_{14}H_8O_4$ (PM: 240,2) - Emplear uno de grado apropiado.

Decanol - (Alcohol *n*-decílico) - $C_{10}H_{22}O$ - (PM: 158,3) - Líquido transparente, viscoso. Densidad relativa: aproximadamente 0,83, a 20 °C. Solidifica aproximadamente a 6,5 °C. Insoluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Valoración - Cuando se analiza por cromatografía gas-líquido (ver 100. *Cromatografía*) empleando un cromatógrafo de gases y condiciones apropiadas, presenta una pureza no menor a 99 %.

1-Decanosulfonato de sodio - Emplear uno de grado apropiado.

Decilsulfato de sodio - $C_{10}H_{21}NaO_4S$ - (PM: 260,3) - Sólido blanco, cristalino.

Valoración - Transferir aproximadamente 1 g, exactamente pesado, a un crisol apropiado, previamente pesado, humedecer con unas gotas de ácido sulfúrico y someter a ignición suavemente hasta peso constante. Cada miligramo de residuo equivale a 3,662 mg de $C_{10}H_{21}NaO_4S$. Contiene no menos de 95%.

Desoxicolato de sodio - Ver Sales biliares.

2'-Desoxiuridina - $C_9H_{12}N_2O_5$ - (PM:228,2).

Punto de fusión <260> - Aprox. 165 °C.

Cromatografía - Analizar según se indica en el ensayo para *Sustancias relacionadas* en *Idoxiuridina* aplicando 5 μ l de una solución de 5-iodouracilo que contenga 0,25 mg por ml. El cromatograma sólo presenta una mancha principal.

Deuterocloroformo - $CDCl_3$ - (PM: 120,4) - Emplear uno de grado apropiado.

Dextrina - $(C_6H_{10}O_5)_n \cdot xH_2O$ - Polvo amorfo blanco. Lentamente soluble en agua fría; más fácilmente soluble en agua caliente; insoluble en alcohol.

Materia insoluble - Calentar a ebullición 1 g con 30 ml de agua en un matraz apropiado: la solución es incolora y transparente o débilmente no opalescente.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 10,0 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 5 mg (0,5 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - Disolver 3 g en 75 ml de agua hirviendo, enfriar, diluir con agua

a 75 ml y filtrar si fuera necesario. A 25 ml del filtrado agregar 2 ml de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata (SR) y dejar reposar durante 5 minutos: cualquier turbidez producida no es mayor que la de un control que contiene 0,02 mg de Cl (0,002 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I.* A una porción de 25 ml del filtrado del ensayo anterior, agregar 0,5 ml de ácido clorhídrico diluido y 2 ml de cloruro de bario (SR) y dejar reposar durante 10 minutos: cualquier turbidez producida no es mayor que la de un control que contiene 0,2 mg de SO_4 (0,02 %).

Sustancias solubles en alcohol - Calentar a ebullición 1 g con 20 ml de alcohol durante 5 minutos bajo un refrigerante y filtrar en caliente. Evaporar 10 ml del filtrado en un baño de vapor y secar a 105 °C: el residuo no pesa más de 5 mg (1 %).

Azúcares reductores - Agitar 2 g con 100 ml de agua durante 10 minutos y filtrar hasta clarificar. A 50 ml del filtrado, agregar 50 ml de tartrato cúprico alcalino (SR) y calentar a ebullición durante 3 minutos. Filtrar a través de un crisol filtrante, previamente pesado, lavar con agua luego con alcohol y finalmente con éter y secar a 105 °C durante 2 horas: el precipitado de óxido cuproso no pesa más de 115 mg (correspondiente a aproximadamente 5 % de azúcares reductores como dextrosa).

Dextro pantotenato de calcio - Emplear *Pantotenato de calcio*.

Dextrosa anhidra - $C_6H_{12}O_6$ - (PM: 180,2) - Emplear *D*-glucosa anhidra de grado apropiado.

Diacetilo - Ver 2,3-Butanodiona.

2,3-Diaminonaftaleno - $C_{10}H_{10}N_2$ - (PM: 158,2) - Emplear uno de grado apropiado.

Diaveridina - $C_{13}H_{16}N_4O_2$ - (PM: 260,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Dibencilo - Ver Bibencilo.

2,6-Dibromoquinona-clorimida - (2,6-Dibromo-*N*-cloro-*p*-benzoquinonaimina; reactivo *DBQ*) - $O:C_6H_2Br_2:NCI$ - (PM: 299,4) - Polvo amarillo, cristalino. Insoluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones de hidróxidos alcalinos diluidos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 82 y 84 °C.

Solubilidad en alcohol - Una solución de 100 mg en 10 ml de alcohol presenta sólo una leve turbidez.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 500 mg con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,2 %).

Sensibilidad - A 10 ml de una solución en agua que contiene 0,01 mg de fenol agregar 0,3 ml de una solución reguladora de borato de sodio (preparada disolviendo 2,84 g de borato de sodio cristalizado en 90 ml de agua caliente, agregando 8,2 ml de hidróxido de sodio 1 N y diluyendo con agua a 100 ml) y 0,1 ml de una solución de 10 mg de la muestra en 20 ml de alcohol: se desarrolla un color azul característico dentro de los 10 minutos.

Dibutilamina - $C_8H_{19}N$ - (PM: 129,3) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μ m de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a 200 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 100 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 200 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico $C_8H_{19}N$ no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,415 y 1,419, a 20 °C.

Diciclohexilamina - $(C_6H_{11})_2NH$ - (PM: 181,3) - Líquido transparente, fuertemente alcalino, con débil olor a pescado. Moderadamente soluble en agua. Miscible con solventes orgánicos comunes. Densidad: 0,9104. Solidifica a + 0,1 °C; funde aproximadamente a 20 °C.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 400mg en un pesafiltro previamente pesado. Transferir el pesafiltro tapado a un vaso de precipitados de 250 ml, agregar ácido acético glacial (SR) suficiente para cubrir el pesafiltro y abrirlo bajo la superficie del ácido. Agregar cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV). Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 18,13 mg de $(C_6H_{11})_2NH$. Contiene no menos de 98 %.

Densidad relativa <160> - Entre 0,911 y 0,917.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 255 y 257 °C.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 0,5 %.

Diciclohexilo - (*Biciclohexilo*) - $C_{12}H_{22}$ - (PM: 166,3).

Punto de ebullición - Aprox. 227 °C.

Punto de fusión <260> - Aprox. 4 °C.

Diciclohexilurea - (*1,3-Diciclohexilurea*) - $(C_{13}H_{24}N_2O)$ - (PM: 222,4) - Polvo cristalino blanco.

Punto de fusión <260> - Aprox. 232 °C.

N,N-Diclorhidrato de dimetil-p-fenilendiamina - $(CH_3)_2NC_6H_4NH_2 \cdot 2HCl$ - (PM: 209,1) - Sólido fino cristalino casi blanco, higroscópico, puede tener un tinte rosado. Fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol.

Valoración - Transferir aproximadamente 400 mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados de 250 ml y disolver en aproximadamente 75 ml de agua. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) determinando el punto final potenciométricamente. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 10,46 mg de $C_8H_{12}N_2 \cdot 2HCl$. Contiene no menos de 98 %.

Solubilidad - Una solución de 1 g en 10 ml de agua no produce más que una leve turbidez.

Diclorhidrato de o-fenilendiamina - (PM: 181,1) $C_6H_8N_2 \cdot 2HCl$ - Polvo blanco.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Alcohol butílico, agua y ácido acético (12:5:3).

Procedimiento - Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: se observa una sola mancha, con trazas de impurezas.

Diclorhidrato de p-fenilendiamina - Ver Clorhidrato de p-fenilendiamina.

Diclorhidrato de hidracina - $(NH_2)_2 \cdot 2HCl$ - (PM: 105,0) - Polvo blanco.

Valoración - Disolver aproximadamente 34 mg, exactamente pesados, en 50 ml de agua. Agregar cuidadosamente con agitación, 1 g de bicarbonato de sodio. *Precaución* - *Se puede producir una rápida liberación de dióxido de carbono*. Titular con solución de iodo 0,1 N determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de solución de iodo 0,1 N equivale a 2,63 mg de $(NH_2)_2 \cdot 2HCl$. Contiene no menos de 98 %.

Diclorhidrato de N-(1-Naftil)etilendiamina - $C_{10}H_7NH(CH_2)_2NH_2 \cdot 2HCl$ - (PM: 259,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Diclorhidrato de piridoxamina - (PM: 241,1) $C_8H_{12}N_2O_2 \cdot 2HCl$ - Cristales o polvo

crystalino de color blanco o amarillo. Se oscurece gradualmente por exposición al aire o luz solar. 1 g se disuelve en aproximadamente 1 ml de agua y en aproximadamente 60 ml de alcohol. Insoluble en cloroformo y éter. Sus soluciones son ácidas.

Intervalo de fusión <260> - Entre 225 y 230 °C, con descomposición.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,15 %.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105°C durante 2 horas: no pierde más de 0,5 % de su peso.

Contenido de nitrógeno (Ensayo para reactivos) - Determinar por el método de Kjeldahl, empleando una muestra previamente secada a 105 °C durante 2 horas. Contiene entre 11,3 y 11,8 % de N.

Contenido de cloruro - Proceder según se indica en el ensayo para *Contenido de cloruro en Clorhidrato de piridoxal*. Contiene entre 29,1 y 29,6 % de Cl.

2,5-Dicloroanilina - $\text{Cl}_2\text{C}_6\text{H}_3\text{NH}_2$ - (PM: 162,0) - Cristales blancos en forma de agujas. Poco soluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Intervalo de fusión <260> - *Método I*. Entre 49 y 50 °C.

2,6-Dicloroanilina - $\text{C}_6\text{H}_3\text{Cl}_2\text{N}$ - (PM: 162,0) - Polvo casi blanco.

Intervalo de fusión <260> - Entre 38 y 41 °C.

o-Diclorobenceno - $\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl}_2$ - (PM: 147,0) - Líquido transparente, de color pardo amarillento claro y olor aromático. Prácticamente insoluble en agua. Miscible con alcohol y éter. Hierve aproximadamente a 180 °C.

Valoración - Cuando se analiza por cromatografía gas-líquido (ver 100. *Cromatografía*) empleando un cromatógrafo de gases y condiciones apropiadas, presenta una pureza no menor a 98 %.

Densidad relativa <160> - Entre 1,299 y 1,301.

Índice de refracción - Entre 1,548 y 1,550, a 25°C.

Residuo de evaporación - Evaporar 80 ml en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 50 mg (0,005 %).

Acidez - Agregar fenoltaleína (SR) a 25 ml de metanol y titular con hidróxido de potasio alcohólico 0,02 N (SV) hasta un color rosado suave persistente durante 15 segundos. Transferir 25 ml de muestra a la solución, mezclar, evitar la exposición a la atmósfera y titular con hidróxido de potasio alcohólico 0,02 N (SV). No se requieren más de 2,2 ml para restaurar el color rosado (aproximadamente 0,005 %).

1,2-Dicloroetano - Ver Dicloruro de etileno.

2,6-Diclorofenol-indofenol sódico - (2,6-Dicloroindofenol sódico) - $\text{O}:\text{C}_6\text{H}_2\text{Cl}_2:\text{NC}_6\text{H}_4\text{ONa}$

con aproximadamente $2\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 290,1, anhidro) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Diclorofluoresceína - $\text{C}_{20}\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{O}_5$ - (PM: 401,2) - [NOTA: esta especificación es tanto para el isómero 4,5 como para el 2,7 de diclorofluoresceína; el que sea apropiado para la preparación de diclorofluoresceína (SR).] Polvo cristalino de color anaranjado débil. Moderadamente soluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones de hidróxidos alcalinos.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 200 mg con 5 gotas de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,5 %).

Sensibilidad - Disolver 100 mg en 60 ml de alcohol, agregar 2,5 ml de hidróxido de sodio 0,1 N y diluir con agua a 100 ml. Agregar 1 ml de esta solución a una solución de yoduro de potasio preparada disolviendo 100 mg de yoduro de potasio, previamente secados a 105 °C hasta peso constante y exactamente pesados, en 50 ml de agua que contienen 1 ml de ácido acético glacial y titular con nitrato de plata 0,1 N (SV) hasta que el color del precipitado cambie de anaranjado amarillento pálido a rosado. El volumen de nitrato de plata 0,1 N consumido no es más de 0,10 ml mayor que el volumen calculado en base al contenido de KI de la muestra seca determinado en la *Valoración en Yoduro de potasio*.

Diclorofluorometano - CHCl_2F - (PM: 102,9) - Gas incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de conductividad térmica y una columna capilar de 30 m × 0,53 mm recubierta con una capa de 5 μm de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a 200 °C. La temperatura de la columna se mantiene a 0 °C y se programa un ascenso de 5 °C por minuto hasta alcanzar 40 °C y luego un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 180 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de CHCl_2F no es menor de 98 % del área total.

Diclorometano - Ver Cloruro de metileno.

2,4-Dicloro-1-naftol - $\text{C}_{10}\text{H}_6\text{OCl}_2$ - (PM: 213,1) Polvo color pardo brillante.

Intervalo de fusión <260> - Entre 103 y 107 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 2 °C.

2,6-Dicloroquinona-clorimida - (2,6-Dicloro-N-cloro-p-benzoquinona imina) -

O: $C_6H_2Cl_2:NCl$ - (PM: 210,4) - Polvo cristalino amarillo pálido. Insoluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones de hidróxidos alcalinos diluidos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 65 y 67 °C.

Solubilidad en alcohol - Una solución de 100 mg en 10 ml de alcohol es completa y transparente.

Residuo de ignición - Someter a ignición 500 mg con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,2 %).

Sensibilidad - Cumple con los requisitos del ensayo para *Sensibilidad* en 2,6-Dibromoquinonaclorimida.

Dicloruro de etileno - (1,2-Dicloroetano) - (PM: 99,0) - $C_2H_4Cl_2$ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Dicromato de potasio - $K_2Cr_2O_7$ - (PM: 294,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Dicromato de sodio - (Para la preparación de mezcla sulfocrómica para limpieza de materiales de vidrio) - $Na_2Cr_2O_7 \cdot 2H_2O$ - (PM: 298,0) - Cristales o gránulos de color rojo anaranjado. Muy soluble en agua; insoluble en alcohol.

Dietilacetil de dimetilformamida - $C_7H_{17}NO_2$ - (PM: 147,2) - *N,N*-dimetilformamida-dietilacetil. Punto de ebullición entre 128 y 130 °C. Índice de refracción: aproximadamente 1,40.

Dietilamina - $(C_2H_5)_2NH$ - (PM: 73,1) - Líquido incoloro, inflamable, altamente alcalino. Miscible con agua y alcohol. Forma un hidrato con agua. *Precaución* - Puede ser irritante para la piel y mucosas. Almacenar en envases bien cerrados.

Valoración - A 50 ml de agua agregar 6 a 8 gotas de un indicador recientemente preparado (mezclando 5 partes de una solución (1 en 1000) de verde de bromocresol en metanol con 1 parte de una solución (1 en 1000) de rojo de metilo en metanol) y neutralizar con ácido clorhídrico 0,1 N hasta la desaparición del color verde. Transferir aproximadamente 2 g de muestra, exactamente pesados, a un erlenmeyer con tapón de vidrio, previamente pesado, de 250 ml que contiene un pocos ml del agua neutralizada. Agregar el resto del agua neutralizada y titular con ácido clorhídrico 1 N (SV) hasta la desaparición del color verde. Cada mililitro de ácido clorhídrico 1 N equivale a 73,1 mg de $(C_2H_5)_2NH$. Contiene no menos de 99,0%.

Densidad relativa <160> - Entre 0,700 y 0,705.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 55 y 58 °C.

Residuo después de la evaporación - Evaporar 14 ml (10 g) en un cristizador en un baño de vapor hasta sequedad, secar a 105 °C durante 1 hora,

enfriar y pesar: el peso del residuo no es mayor de 1,0 mg (0,010 %).

Sustancias insolubles en agua - Transferir 25 ml a un erlenmeyer de 125 ml y agregar 25 ml de agua en porciones de 5 ml, agitando bien luego de cada agregado. Agregar otros 25 ml de muestra a 25 ml de agua de la misma manera. En ningún caso se produce oscurecimiento o turbidez.

***N,N*-Dietilnilina** - $C_6H_5N(C_2H_5)_2$ - (PM: 149,2) - Líquido amarillo claro a ámbar.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada (aproximadamente 0,2 μ l) en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,8 m \times 3 mm recubierta por una fase estacionaria constituida por un compuesto de polietilenglicol al 20 % (p.m.p aproximadamente 15.000 [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido]) sobre un soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases, la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector y el detector a 250 y 310 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 140 °C y se programa un ascenso de 6 °C por minuto hasta alcanzar 200 °C. Se emplea helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 40 ml por minuto. El tiempo de retención para la *N,N*-dietilnilina es de aproximadamente 4,9 minutos y el área del pico no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,5405 y 1,5425, a 20 °C.

Dietilditiocarbamato de plata - $(C_2H_5)_2NCS_2Ag$ (PM: 256,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Dietilditiocarbamato de sodio - (PM:225,3) $(C_2H_5)_2NCS_2Na \cdot 3H_2O$ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Dietilenglicol - $C_4H_{10}O_3$ - (PM: 106,1) - Líquido incoloro a débilmente amarillo, viscoso e higroscópico, con olor leve. Miscible con agua, alcohol, éter y acetona. Insoluble en tetracloruro de carbono.

Densidad relativa <160> - Entre 1,117 y 1,120, a 20 °C.

Intervalo de destilación <240> - Entre 240 y 250 °C.

Acidez - Transferir 54 ml (60 g) a un erlenmeyer de 250 ml, agregar fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de potasio alcohólico 0,02 N (SV) hasta color rosado estable durante no menos de 15 segundos. No se requieren más de 2,5 ml (0,005 % como CH₃COOH).

Agua <120> - No más de 0,2 %.

Residuo de ignición <270> - Transferir 50 g a una cápsula de platino, previamente pesada, calentar la cápsula suavemente hasta que los vapores se enciendan y la muestra se queme completamente. Someter a ignición el residuo a 800 ± 25 °C, enfriar y pesar: el residuo no pesa más de 2,5 mg (0,005 %).

Dietilenglicol succinato poliéster - (OCH₂CH₂OCH₂CH₂OOCCH₂CH₂COO)_n - Líquido transparente, viscoso. Soluble en cloroformo. Es estabilizado mediante modificación del poliéster succinato de dietilenglicol, haciéndolo apropiado para emplear en cromatografía gas-líquido a una temperatura de 200 °C.

Dietilentriamina - C₄H₁₃N₃ - (PM: 103,2) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m × 0,25 mm recubierta con una fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a 200 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 100 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 250 °C, manteniendo esta temperatura durante 5 minutos. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico principal no es menor de 95 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,4815 y 1,4845, a 20 °C.

Di(2-etilhexil)ftalato - (*Bis (2-etilhexil) ftalato*) - C₂₄H₃₈O₄ - (PM: 390,6) - Emplear uno de grado apropiado.

Difenilamina - (C₆H₅)₂NH - (PM: 169,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Difenilantraceno - (*9,10-Difenilantraceno*) - C₂₆H₁₈ - (PM: 330,4) - Polvo cristalino, amarillo o amarillento. Fácilmente soluble en éter; prácticamente insoluble en agua.

Punto de fusión <260> - Aprox. a 248 °C.

Difenilborinato de 2-aminoetilo - (Aminoetil-difenilborinato) - C₁₄H₁₆BNO - (PM: 225,1) - Polvo cristalino blanco.

Intervalo de fusión <260> - Entre 192 y 194 °C.

Difenilcarbazona - (C₆H₅NHNH)₂CO - (PM: 242,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Difenilcarbazona - (*Difenilcarbazona con s-difenilcarbazona (1:1)*) - (PM: 482,6) - C₆H₅NHNHCON:NC₆H₅.C₆H₅NHNHCONHNH C₆H₅ Emplear un reactivo analítico apropiado.

Difenil éter - (*Éter de fenilo*) - (C₆H₅)₂O - (PM: 170,2) - Líquido incoloro. Insoluble en agua; soluble en ácido acético glacial y la mayoría de los solventes orgánicos. Hierve aproximadamente a 259 °C.

Intervalo de fusión <260> - Entre 26 y 28 °C.

2,2-Difenilglicina - C₁₄H₁₃NO₂ - (PM: 227,3) - Polvo casi blanco. Funde aproximadamente a 244 °C, con descomposición.

Valoración - Disolver aproximadamente 115 mg, exactamente pesados, en 30 ml de metanol. Lentamente agregar aproximadamente 20 ml de agua, calentando suavemente, si fuera necesario, para disolver completamente. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 22,73 mg de C₁₄H₁₃NO₂. Contiene no menos de 98,0 %.

Digerido pancreático de caseína (peptona bacteriológica) - (*Triptona*) - Polvo amarillo grisáceo, de olor característico pero no pútrido. Fácilmente soluble en agua; insoluble en alcohol y en éter. La caseína empleada en la preparación de este digerido debe reunir las siguientes especificaciones:

Residuo de ignición - No más de 2,5 %.

Pérdida por secado - No más de 8 %.

Ácido libre (como ácido láctico) - No más de 0,25 %.

Grasa - No más de 0,5 %.

Azúcares reductores - Trazas.

Finura - Todo debe pasar a través de un tamiz N° 20.

Grado de digestión - Disolver 1 g en 10 ml de agua y emplear esta solución para los siguientes ensayos:

(a) Cubrir 1 ml de la solución de digestión con 0,5 ml de una solución de 1 ml de ácido acético glacial en 10 ml de alcohol diluido: ningún anillo o precipitado se forma en la unión de los dos líquidos y cuando se agita no se produce turbidez

(indicando la ausencia de caseína no digerida).

(b) Mezclar 1 ml de solución de digestión con 4 ml de una solución saturada de sulfato de cinc: se forma una cantidad moderada de precipitado (indicando la presencia de proteosas). Filtrar y retener el filtrado.

(c) A 1 ml del filtrado del ensayo anterior, agregar 3 ml de agua y a continuación 1 gota de bromo (SR): se produce un color rojo violeta (indicando de la presencia de triptofano).

Compuestos nitrogenados (Ensayo para reactivos) - Determinar por el método de Kjeldahl, empleando una muestra previamente secada a 105 °C hasta peso constante. Contiene no menos de 10,0 %.

Pérdida por secado <680> - Secar a 100 °C hasta peso constante: no pierde más de 7,0 % de su peso.

Residuo de ignición <270> - Someter a ignición 500 mg con 1 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 75 mg (15 %).

Nitrito - A 5 ml de una solución del digerido (1 en 50) agregar 0,5 ml de sulfanílico- α -naftilamina (SR), mezclar y dejar reposar durante 15 minutos: no se desarrolla color rosado o rojo.

Contenido microbiano - Disolver 1 g en 10 ml de agua. Difundir 0,01 ml en 1 cm² de un portaobjetos de vidrio. Teñir por el método de Gram y examinar con una lente de inmersión en aceite: no más de un total de 50 microorganismos o agregados, son visibles en 10 campos consecutivos.

Ensayo bacteriológico - El digerido cumple con los siguientes ensayos para propiedades de nutrientes bacterianos. Preparar medios de las siguientes composiciones:

(a) 2 % de digerido, en agua;

(b) 0,1 % de digerido, en agua;

(c) 1 % de digerido, 0,5 % de cloruro de sodio, 0,5 % de dextrosa, en agua;

(d) 1 % de digerido, en agua;

(e) 2 % de digerido, 0,5 % de cloruro de sodio, 1,5% de agar, en agua.

Ajustar todos los medios a pH 7,2 a 7,4.

Ausencia de carbohidratos fermentables - Al medio (a) agregar rojo de fenol (SR) suficiente para dar un color apreciable, colocar en tubos de fermentación de Durham y esterilizar en autoclave. Inocular con un cultivo de 24 horas de *Escherichia coli*: no se produce ácido o sólo una traza en la recámara y no se produce ningún gas durante la incubación por 48 horas.

Producción de indol - Inocular 5 ml del medio (b) con *Escherichia coli*, incubar durante 24 horas y agregar aproximadamente 0,5 ml de *p*-dimetilaminobenzaldehído (SR): se observa un

color rosado o rojo característico que es soluble en cloroformo.

Producción de acetilmetilcarbinol - Inocular 5 ml del medio (c) con *Aerobacter aerogenes* e incubar durante 24 horas. Agregar al cultivo un volumen igual de solución de hidróxido de sodio (1 en 10), agitar y dejar reposar a temperatura ambiente durante varias horas: la aparición de color rosado indica la presencia de acetilmetilcarbinol.

Producción de sulfuro de hidrógeno - Inocular 5 ml de medio (d) con *Salmonella typhosa*. Mantener una tira de papel de acetato de plomo entre el tapón de algodón y la boca del tubo de ensayo para que cuelgue aproximadamente 5 cm encima del medio. Luego de incubar durante 24 horas, la punta inferior del papel de acetato de plomo presenta poco o ningún oscurecimiento. Luego de 48 horas, presenta una cantidad apreciable de ennegrecimiento pardusco (que indica la formación de sulfuro de plomo).

Propiedades que favorecen el crecimiento - En los ensayos previos los medios producen buen desarrollo de *Escherichia coli*, *Aerobacter aerogenes* y *Salmonella typhosa*. El medio (e) inoculado por picadura con un cultivo madre *Brucella abortus* presenta buen desarrollo en la línea de siembra luego de 48 horas de incubación. El medio (e) preparado en forma inclinada, inoculado con *Escherichia coli*, *Aerobacter aerogenes*, *Salmonella typhosa*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus albus*, presenta desarrollo característico luego de incubar durante 24 horas. El medio (e) al que se le ha agregado aproximadamente 5 % de sangre de ovino o sangre de conejo y que se ha inoculado y vertido en placas de petri, presenta zonas características alfa o beta cerca de las colonias de *neumococos* y *estreptococo beta hemolítico* (grupos serológicos A y B) reconocible dentro de 24 horas y plenamente desarrollado luego de incubar durante 48 horas. El medio (e) al que se le ha agregado aproximadamente 10 % de sangre y el cual luego ha sido calentado de 80 a 90 °C hasta que la sangre se torna de color chocolate pardo, permite el crecimiento de colonias de *gonococos* dentro de 48 horas cuando se incuba en una atmósfera conteniendo aproximadamente 10 % de dióxido de carbono.

Digerido papáinico de harina de soja - Material nutritivo soluble preparado por la acción de la enzima papaína sobre la harina de soja seguido de purificación y concentración apropiada. Cumple las especificaciones dadas en *Digerido pancreático de caseína*, excepto en lo que se refiere a *Compuestos nitrogenados* y en

que presenta cantidades importantes de azúcares reductores. Contiene carbohidratos fermentables y da positivo el ensayo para indol, acetilmetilcarbinol y sulfuro con inoculación e incubación con los microorganismos especificados.

Compuestos nitrogenados (Ensayo para reactivos) Determinar por el método Kjeldahl, empleando una muestra previamente secada a 105 °C hasta peso constante. Contiene no menos de 8,5 %.

Digerido péptico de tejido animal (peptona bacteriológica) - Polvo color pardo, de olor característico pero no pútrido. Soluble en agua; insoluble en alcohol y éter. Una solución (2 en 100) esterilizada en autoclave es transparente y posee reacción neutra o casi neutra.

Grado de digestión - Disolver 1 g en 10 ml de agua y emplear esta solución para los siguientes ensayos:

- (a) Cubrir 1 ml de la solución digerida con 0,5 ml de una solución de 1 ml de ácido acético glacial en 10 ml de alcohol diluido: no se forma ningún anillo precipitado en la unión de los dos líquidos y al agitar no se produce turbidez (indicando la ausencia de proteína no digerida).
- (b) Mezclar 1 ml de la solución digerida con 4 ml de sulfato de cinc saturado: se forma una cantidad pequeña de precipitado (indicando la presencia de proteosas). Filtrar y retener el filtrado.
- (c) A 1 ml del filtrado anterior agregar 1 gota de bromo (SR): el cambio de color amarillo claro a rojo pardo indica la presencia de triptofano.

Compuestos nitrogenados, Pérdida por secado, Residuo de ignición y Nitrito - Proceder según se indica en *Digerido pancreático de caseína*.

Contenido microbiano - Disolver 1 g en 10 ml de agua. Difundir 0,01 ml en 1 cm² de un portaobjetos de vidrio. Teñir por el método de Gram y examinar con una lente de inmersión en aceite: no más de 50 microorganismos o agregados, son visibles en 10 campos consecutivos.

Ensayo bacteriológico - Cumple los siguientes ensayos para propiedades de nutriente bacteriano. Preparar medios de las siguientes composiciones:

- (a) 2 % de digerido y rojo de fenol (SR) suficiente para dar un color perceptible en agua;
- (b) 0,1 % de digerido en agua;
- (c) 0,1 % de digerido y 0,5 % de dextrosa en agua;
- (d) 1 % de digerido en agua.

Ajustar todos los medios a pH de 7,2 a 7,4. Transferir 5 ml de (a) a tubos de fermentación de Durham y 5 ml de (b), (c) y (d) a tubos de ensayo. Esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minu-

tos. Luego de 24 horas en reposo todos los medios permanecen transparentes.

Presencia de carbohidratos fermentables - Inocular medio (a) con *Escherichia coli* y con *Streptococcus liquefaciens*: el ácido es producido por *E. coli* pero no por *S. liquefaciens* luego de incubar durante 24 horas.

Producción de indol - Inocular medio (b) con *Escherichia coli* y con *Aerobacter aerogenes* e incubar durante 24 horas. Agregar aproximadamente 0,5 ml de *p*-dimetilaminobenzaldehído (SR): la aparición de un color rosado o rojo (soluble en cloroformo) indica la producción de indol por *E. coli*. El cultivo de *A. aerogenes* da resultado negativo.

Producción de acetilmetilcarbinol - Inocular medio (c) con *Escherichia coli* y con *Aerobacter aerogenes* e incubar durante 24 horas. Agregar al cultivo un volumen igual de solución de hidróxido de sodio (1 en 10), agitar y dejar reposar a temperatura ambiente durante varias horas: la aparición de un color rosado indica la producción de acetilmetilcarbinol por *A. aerogenes*. El cultivo de *E. coli* da resultado negativo.

Producción de sulfuro de hidrógeno - Inocular medio (d) con *Salmonella typhosa*. Colocar una tira de papel de acetato de plomo entre el tapón de algodón y la boca del tubo de ensayo para que cuelgue aproximadamente 5 cm encima del medio. Luego incubar durante 24 horas: la parte inferior del papel de acetato de plomo presenta un ennegrecimiento apreciable (indica la formación de sulfuro de plomo).

Digitonina - C₅₆H₉₂O₂₉ - (PM: 1.229,3) - Polvo blanco, cristalino. Prácticamente insoluble en agua; soluble en alcohol caliente, ácido acético glacial y ácido acético al 75 %; insoluble en cloroformo y éter. Funde aproximadamente a 230 °C, con descomposición.

Rotación específica <170> - Entre - 47° y - 49°, determinado en una solución de ácido acético al 75 % conteniendo 100 mg por ml.

Solubilidad en alcohol - Una solución de 500 mg en 20 ml de alcohol caliente es incolora y completa.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 6 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,3 %.

Digoxigenina - C₂₃H₃₄O₅ - (PM: 390,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

10,11-Dihidrocarbamecina - C₁₅H₁₄N₂O - (PM: 238,3) - Cristales blancos.

Valoración - Cuando es ensayada por cromatografía en capa delgada, con el empleo de placas recubiertas con gel de sílice para cromatografía, con el uso de una fase móvil preparada con tolueno y metanol (80:20) y es examinada visualmente bajo luz ultravioleta a 366 nm: es observada una única mancha.

Diiodofluoresceína - $C_{20}H_{10}I_2O_5$ - (PM: 584,1) - Polvo inodoro rojo anaranjado. Poco soluble en agua; soluble en alcohol y soluciones de hidróxidos alcalinos.

Residuo de ignición - Someter a ignición 200 mg con 5 gotas de ácido sulfúrico: el peso del residuo no es mayor a 1,0 mg (0,5 %).

Sensibilidad - Disolver aproximadamente 100 mg de ioduro de potasio, exactamente pesados y previamente secados a 105 °C hasta peso constante, en 50 ml de agua. Agregar 1 ml de solución de diiodofluoresceína (SR) preparada con la muestra y 1 ml de ácido acético glacial y titular con nitrato de plata 0,1 N (SV) hasta que el precipitado cambie de color rojo pardusco a rojo azulado. El volumen de nitrato de plata 0,1 N consumido no es más de 0,10 ml mayor del volumen calculado en base al contenido de KI del ioduro de potasio seco determinado del siguiente modo. Disolver aproximadamente 500 mg de ioduro de potasio, exactamente pesados, en aproximadamente 10 ml de agua y agregar 35 ml de ácido clorhídrico y 5 ml de cloroformo. Titular con iodato de potasio 0,05 M (SV) hasta que el color púrpura del yodo desaparezca del cloroformo. Agregar las últimas porciones de la solución de iodato, gota a gota, agitando en forma vigorosa y continua. Luego que se haya decolorado el cloroformo, dejar reposar la mezcla durante 5 minutos. Si el cloroformo desarrolla un color púrpura, continuar titulando con la solución de iodato. Cada ml de iodato de potasio 0,05 M equivale a 16,60 mg de KI.

Diisodecil ftalato - (*Bis (isodecil) ftalato*) - $C_{28}H_{46}O_4$ - (PM: 446,7) - Emplear uno de grado apropiado.

Diisopropilamina - $[(CH_3)_2CH]_2NH$ - (PM: 101,2) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,83 m × 3,2 mm con un soporte de poliestireno entrecruzado. Mantener el inyector y el detector a 250 y 310 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se programa para aumentar 10 °C por minuto de 50 a 220 °C. Contiene no menos de 98 % de $C_6H_{15}N$.

Índice de refracción - Entre 1,3915 y 1,3935, a 20 °C.

Diisopropil éter (Éter isopropílico) - (PM: 102,2) $[(CH_3)_2CH]_2O$ - Líquido incoloro, móvil. Poco soluble en agua. Miscible con alcohol y éter.

Precaución - Altamente inflamable. No evaporar hasta sequedad, ya que tiende a formar peróxidos explosivos.

Densidad relativa - Entre 0,716 y 0,720.

Intervalo de destilación <240> - Método II. No menos de 95 % destila entre 65 y 70 °C.

Peróxidos - A 10 ml, contenidos en una probeta limpia, con tapón de vidrio previamente lavada con una porción del éter bajo ensayo, agregar 1 ml de solución de ioduro de potasio recientemente preparada (1 en 10). Agitar y dejar reposar durante 1 minuto: no se observa color amarillo en ninguna de las fases (aproximadamente 0,001 % como H_2O_2).

Residuo de evaporación - [NOTA: si hay peróxidos presentes, no llevar a cabo este procedimiento.] Evaporar 14 ml (10 g) en un cristallizador, previamente pesado, y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 1 mg (0,01 %).

Acidez - Agregar 2 gotas de azul de bromotimol (SR) a 10 ml de agua en un erlenmeyer de 50 ml con tapón de vidrio y titular con hidróxido de sodio 0,010 N hasta que el color azul persista luego de agitar vigorosamente. Agregar 5 ml de diisopropil éter y titular con hidróxido de sodio 0,010 N. No se requieren más de 0,30 ml para restaurar el color azul (0,005 % como CH_3COOH).

[NOTA: para determinaciones espectrofotométricas, emplear diisopropil éter que cumple con el siguiente requisito adicional:

Absorbancia - La absorbancia a 255 nm, en una celda de cuarzo de 10 mm, empleando agua como blanco, no es mayor de 0,2]

Diisopropiletilamina - (PM: 129,2) - $C_8H_{19}N$ - (*N,N*-Diisopropiletilamina) - Líquido transparente, incoloro. Soluble en ácido acético glacial.

Valoración - Disolver aproximadamente 500 mg, exactamente pesados, en 50 ml de ácido acético glacial, mezclar, agregar cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV). Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 12,92 mg de $C_8H_{19}N$. Contiene no menos de 98 %.

Índice de refracción - Entre 1,4125 y 1,4145, a 20 °C.

N,N-Diisopropiletildiamina - (*N-Etil*diisopropilamina) - (PM: 129,3) -

$[(\text{CH}_3)_2\text{CH}]_2\text{NC}_2\text{H}_5$ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

***N,N*-Dimetilacetamida** - $\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}$ - (PM: 87,1) - Líquido transparente, incoloro. Miscible con agua y solventes orgánicos.

Valoración - Cuando se analiza por cromatografía gas-líquido (ver 100. *Cromatografía*) empleando un cromatógrafo de gases y condiciones apropiadas, presenta una pureza no menor a 99 %.

Intervalo de destilación <240> - Entre 164,5 y 167,5 °C.

Residuo de evaporación - Evaporar 215 ml en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 2 mg (0,001 %).

pH de una solución al 20 % - Transferir 20 g, exactamente pesados, a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua: la solución presenta un pH entre 4,0 y 7,0.

Absorbancia ultravioleta - Determinar la absorbancia en una celda de 1 cm, entre 270 y 400 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando agua como blanco: la absorbancia no es mayor de 1,00 a 270 nm; 0,30 a 280 nm; 0,15 a 290 nm; 0,05 a 310 nm; 0,03 a 320 nm y 0,01 de 360 a 400 nm.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 0,05 %.

***p*-Dimetilaminoazobenceno** - (*Amarillo de metilo*) - $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}:\text{NC}_6\text{H}_4\text{N}(\text{CH}_3)_2$ - (PM: 225,3) - Escamas amarillas o polvo cristalino amarillo. Insoluble en agua; moderadamente soluble en cloroformo, éter y aceites grasos.

Solubilidad - Disolver 100 mg en 20 ml de alcohol: la disolución es completa o prácticamente completa y la solución resultante es transparente.

Intervalo de fusión <260> - Entre 115 y 117 °C.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,1 %.

Sensibilidad - Agregar 0,05 ml de una solución de alcohol (1 en 200) y 2 g de cloruro de amonio a 25 ml de agua: el color amarillo limón de la solución cambia a anaranjado por el agregado de 0,05 ml de ácido clorhídrico 0,1 N y se restaura por el agregado posterior de 0,05 ml de hidróxido de sodio 0,1 N.

***p*-Dimetilaminobenzaldehído** - (PM: 149,2) - $(\text{CH}_3)_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{CHO}$ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

***p*-Dimetilaminocinamaldehído** - (PM: 175,2) - $(\text{CH}_3)_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{CH}:\text{CHCHO}$ - Polvo amarillo anaranjado. Soluble en acetona y alcohol.

Intervalo de fusión <260> - Entre 132 y 136 °C.

Dimetilaminofenol (isómero meta) - $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}$ - (PM: 137,2) - Sólido cristalino de color negro, púrpura, gris o canela.

Intervalo de fusión <260> - Entre 83 y 85 °C.

2,6-Dimetilanilina - $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{N}$ - (PM: 121,2) - Líquido amarillo.

Índice de refracción <230> - 1,560, a 20 °C.

***N,N*-Dimetililanilina** - $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}(\text{CH}_3)_2$ - (PM: 121,2) Líquido amarillo brillante, transparente e incoloro cuando está recientemente destilado pero luego adquiere un color rojizo a pardo rojizo. Densidad relativa: aproximadamente 0,960. Punto de congelación: aproximadamente 2 °C. Insoluble en agua; soluble en alcohol, cloroformo, éter y ácidos minerales diluidos.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada (aproximadamente 0,2 μl) en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,8 m \times 3 mm con fase estacionaria constituida por un compuesto de polietilenglicol al 20 % (p.m.p aproximadamente 15.000 [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido]) sobre soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el inyector y el detector a 250 y 310 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 50 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 200 °C. Se emplea helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 40 ml por minuto. El tiempo de retención para la *N,N*-Dimetililanilina es de aproximadamente 11,5 minutos y el área del pico no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,5571 y 1,5591, a 20 °C.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Destilar 100 ml: la diferencia entre las temperaturas observadas cuando han destilado 1 ml y 95 ml, no es mayor de 2,5 °C. La temperatura de ebullición a una presión de 760 mm Hg es 194,2 °C.

Hidrocarburos - Disolver 5 ml en una mezcla de 10 ml de ácido clorhídrico y 15 ml de agua: se obtiene una solución transparente que permanece así cuando se enfría cerca de 10 °C.

Anilina o monometilanilina - Transferir 5 ml a un erlenmeyer con tapón de vidrio, agregar 5 ml de una solución de anhídrido acético en benceno (1 en 10), mezclar y dejar reposar durante 30 minutos. Agregar 30,0 ml de hidróxido de sodio 0,5 N (SV), agitar la mezcla, agregar fe-

nolftaleína (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,5 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. No se requieren más de 0,30 ml de hidróxido de sodio 0,5 N.

3,4-Dimetilbenzofenona - $C_{15}H_{14}O$ - (PM: 210,3) - Trozos blancos que funden a 45 °C.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m × 0,25 mm recubierta con fase estacionaria constituida por aceite de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a 300 °C. La temperatura de la columna se mantiene a 180 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 280 °C y se mantiene a esa temperatura durante 10 minutos. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico principal no es menor de 99 % del área total.

5,5-Dimetil-1,3-ciclohexanodiona - $C_8H_{12}O_2$ - (PM: 140,2) - Sólido blanco, cristalino. Poco soluble en agua; soluble en alcohol, metanol, cloroformo y ácido acético.

Intervalo de fusión <260> - Entre 148 y 150 °C.

Dimetil estearilamida - $C_{20}H_{41}NO$ - (PM: 327,5) - (*N,N*-Dimetil estearilamida) - Masa sólida, blanca o casi blanca. Soluble en numerosos solventes orgánico, incluyendo acetona. Punto de fusión: aproximadamente 51 °C.

1,1-Dimetiletilamina - $C_2H_5N(CH_3)_2$ - (PM: 73,1). Emplear un reactivo analítico apropiado.

2,6-Dimetilfenol - $(CH_3)_2C_6H_3OH$ - (PM: 122,2) Sólido cristalino blanco a amarillo pálido.

Valoración - Inyectar una solución (1 en 3) en xileno en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,83m × 3,2 mm con una fase estacionaria constituida por un compuesto de polietilenglicol TPA al 10 % [NOTA: un compuesto de alto peso molecular de un polietilenglicol y un diepóxido que se esterifica con ácido tereftálico], sobre un soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C. [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 250 y 310 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se

programa para aumentar 8 °C por minuto de 100 a 200 °C. Se emplea helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 40 ml por minuto. En forma similar inyectar una alícuota de xileno. El área del pico $C_8H_{10}O$ no es menor de 98 % del área total corregida por el pico de xileno.

Intervalo de fusión <260> - Entre 44 y 46 °C.

Dimetilformamida - (*N,N*-dimetilformamida) - $HCON(CH_3)_2$ - (PM: 73,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Dimetilglioxima - (*2,3-Butanodiona dioxima*) - $C_4H_8N_2O_2$ - (PM: 116,1) - Polvo cristalino blanco o cristales incoloros, solubles en alcohol y éter, muy poco solubles en agua en ebullición, prácticamente insolubles en agua fría.

Punto de fusión <260> - Aprox. a 240 °C, con descomposición.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,05 %.

***N,N*-Dimetil-1-naftilamina** - $C_{12}H_{13}N$ - (PM: 171,2) - Líquido amarillo pálido a amarillo, aromático. Soluble en alcohol y éter.

Valoración - Transferir aproximadamente 250 mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados, agregar 100 ml de ácido acético glacial y disolver mediante agitación. Cuando la disolución sea completa, titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 17,12 mg de $C_{12}H_{13}N$. Contiene no menos de 98 %.

Índice de refracción - Entre 1,6210 y 1,6230, a 20 °C, empleando luz de sodio.

Ensayo de sulfanilamida - Disolver 20 mg de *Sulfanilamida SR-FA* en 100 ml de agua para obtener la *Solución de sulfanilamida*. Transferir a dos vasos de precipitados de 150 ml, 1,0 ml y 2,5 ml de la *Solución de sulfanilamida*, respectivamente. Diluir con agua a 90 ml. Transferir 90 ml de agua a un tercer vaso de precipitados que se empleará como blanco. A cada vaso de precipitados agregar 8,0 ml de solución de ácido tricloroacético (3 en 20) y 1,0 ml de solución de nitrito de sodio (1 en 1000). Agitar las soluciones durante 5 minutos, agregar 10 ml de solución reguladora de acetato (SR) y 1,0 ml de una solución (1 en 1.000) de *N,N*-dimetil-1-naftilamina en alcohol. El pH es aproximadamente de 5 a 6, empleando papel de pH. Agitar durante un periodo adicional de 5 minutos y agregar 20 ml de ácido acético glacial. El pH es

aproximadamente de 3 a 4, empleando papel de pH. Comparando con el blanco, el vaso de precipitados que contiene 1,0 ml de la *Solución de sulfanilamida* presenta color rosado, mientras que el otro vaso de precipitados presenta un color rosa profundo a rojo.

***N,N*-Dimetiloctilamina** - $C_{10}H_{23}N$ - (PM: 157,3) - Líquido incoloro.

Índice de refracción <230> - 1,4243, a 20 °C.

2,2-Dimetil-2-silapentano-5-sulfonato de sodio - Ver 3-(trimetilsilil)-1-propano sulfonato de sodio.

Dimetiltetradecilamina - $C_{16}H_{35}N$ - (PM: 241,5) (*N,N*-Dimetiltetradecilamina) - Líquido transparente o casi transparente, incoloro o casi incoloro, prácticamente insoluble en agua; miscible con acetona, alcohol y metanol. Contiene no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{16}H_{35}N$.

Densidad relativa <160> - Aprox. 0,80, a 20 °C.

Intervalo de destilación - Aprox. a 260 °C.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 0,3 %.

Valoración - Disolver 200 mg de dimetiltetradecilamina en 10 ml de alcohol. Titular con ácido clorhídrico 0,1 N en presencia de 0,1 ml de rojo de metilo (SR) hasta coloración roja. Cada mililitro de ácido clorhídrico 0,1 N equivale a 24,15 mg de $C_{16}H_{35}N$.

Dimetilsulfona - (*Metilsulfona*) - $(CH_3)_2SO_2$ - (PM: 94,1) - Cristales blancos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 109 y 111 °C.

Dimetilsulfóxido - Ver Metilsulfóxido.

Dimetilsulfóxido grado espectrofotométrico - Emplear metilsulfóxido que cumple las siguientes especificaciones adicionales:

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada (aproximadamente 0,1 μ l) en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de conductividad térmica y una columna de vidrio 2 m \times 3 mm con una fase estacionaria constituida por un compuesto de polietilenglicol al 20% (p.m.p aproximadamente 15.000 [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido]) en un soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 180 °C. La colum-

na se mantiene aproximadamente a 95 °C. Se emplea helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 50 ml por minuto. El área del pico simétrico del dimetilsulfóxido no es menor de 99 % del área total.

Absorción ultravioleta - Determinar la absorbancia de la muestra en una celda de 1 cm, entre 400 y 262 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando agua como blanco. La absorbancia no es mayor de 1,00 a 262 nm; 0,360 a 270 nm; 0,080 a 300 nm y 0,010 en el intervalo de 340 a 400 nm. La curva de absorbancia es suave y no presenta absorbancias extrañas dentro del intervalo observado.

2,5-Dimetoxibenzaldehído - $C_9H_{10}O_3$ - (PM: 166,2) - Cristales casi blancos.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,3 mm recubierta con fase estacionaria constituida por aceite de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 270 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 270 °C. Se emplea nitrógeno como gas transportador. El área del pico principal no es menor de 97 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 50 y 52 °C.

3,4-Dimetoxibenzaldehído - (*Veratraldehído*) - $C_9H_{10}O_3$ - (PM: 166,2) - Cristales aciculares, fácilmente solubles en alcohol y éter, ligeramente solubles en agua.

Intervalo de fusión <260> - Entre 42 y 43 °C.

1,2-Dimetoxietano - $C_4H_{10}O_2$ - (PM: 90,1) - Líquido transparente, incoloro, de olor etéreo. Miscible con agua y alcohol. Soluble en hidrocarburos. *Precaución* - *Puede formar peróxidos durante el almacenamiento.*

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 83 y 86 °C.

Índice de refracción <230> - Entre 1,379 y 1,381, a 20 °C.

Acidez - A 20 ml agregar azul de bromofenol (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,020 N. No se requieren más de 2,0 ml (aproximadamente 0,015 % como CH_3COOH).

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 0,2 %.

(3,4-Dimetoxifenil)-acetonitrilo - $C_{10}H_{11}NO_2$ - (*Homoveratronitrilo*) - (PM: 177,2) - Fibras casi blancas.

Intervalo de fusión <260> - Entre 65 y 67 °C.

m-Dinitrobenceno - $C_6H_4(NO_2)_2$ - (PM: 168,1) - Cristales o polvo cristalino color amarillo pálido. Casi insoluble en agua fría; poco soluble en agua caliente; soluble en cloroformo; moderadamente soluble en alcohol. Es volátil en vapor.

Intervalo de fusión <260> - Entre 89 y 92 °C.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,5 %.

2,4-Dinitroclorobenceno - $C_6H_3(NO_2)_2Cl$ - (PM: 202,6) - Cristales amarillos a amarillo parduscos. Insoluble en agua; soluble en alcohol caliente y éter.

Intervalo de fusión <260> - Entre 51 y 53 °C.

Residuo de ignición - Someter a ignición 500 mg con 5 gotas de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,2 %).

2,4-Dinitrofenilhidracina - $C_6H_3(NO_2)_2NHNH_2$ - (PM: 198,1) - Cristales rojo anaranjado, que bajo el microscopio parecen ser individualmente agujas de color amarillo limón. Poco soluble en agua y alcohol; moderadamente soluble en ácidos inorgánicos diluidos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 197 y 200 °C.

Solubilidad en ácido sulfúrico - Disolver 500 mg en una mezcla de 25 ml de ácido sulfúrico y 25 ml de agua: la solución es transparente o apenas turbia.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 500 mg.

2,4-Dinitrofluorobenceno - $C_6H_3FN_2O_4$ - (PM: 186,1) - (*1-Fluor-2,4-dinitrobenceno*) - Sólido amarillo claro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada (aproximadamente 0,2 μ l) en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de conductividad térmica y una columna de acero inoxidable de 1,8 m \times 4 mm con una fase estacionaria al 10 % constituida por aceite de dime-tilpolisiloxano, sobre un soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el inyector y detector a 290 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 140 °C y se programa un ascenso de 3 °C por minuto hasta alcanzar 190 °C. Se

emplea helio como gas transportador. El área del pico de 2,4-dinitrofluorobenceno no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 28 y 31 °C.

Dioxano - (*Dietilen dióxido; 1,4-Dioxano*) - $C_4H_8O_2$ - (PM: 88,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Dióxido de manganeso - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Dipicrilamina - Ver Hexanitrodifenilamina.

α,α' -Dipiridilo - Ver 2,2N-Bipiridina.

Disulfuro de carbono - CS_2 - (PM: 76,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Disulfuro de carbono cromatográfico - Emplear uno de grado apropiado.

Disulfuro de dioctadecilo - $C_{36}H_{74}S_2$ - (PM: 571,1) - Polvo blanco, prácticamente insoluble en agua.

Intervalo de fusión - Entre 53 y 58 °C.

5,5'-Ditiobis (ácido 2-nitrobenzoico) - (PM: 396,4) - $C_{14}H_8N_2O_8S_2$ - (*3-Carboxi-4-nitrofenil disulfuro; Reactivo de Ellman*) - Polvo amarillo; funde aproximadamente a 242 °C. Moderadamente soluble en alcohol.

3-(3,5-di-ter-butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo - $C_{35}H_{62}O_3$ - (PM: 530,9) - Polvo cristalino blanco o ligeramente amarillento. Prácticamente insoluble en agua; muy soluble en acetona y hexano; poco soluble en metanol.

Intervalo de fusión - Entre 49 y 55 °C.

Ditiol - (*Tolueno-3,4-ditiol. 4-Metilbenceno-1,2-ditiol*) - $C_7H_8S_2$ - (PM: 156,3) - Cristales blancos, higroscópicos. Soluble en metanol y soluciones de hidróxidos alcalinos. Almacenar en envases de cierre hermético.

Punto de fusión <260> - Aprox. a 30 °C.

Ditionito de sodio - Ver Hidrosulfito de sodio.

Ditiotreitól - $HSCH_2CH(OH)CH(OH)CH_2SH$ - (*Reactivo de Cleland; treo-1,4-Dimercapto-2,3-butanodiól; DTT*) - (PM: 154,3) - Agujas algo higroscópicas cuando se obtienen a partir de éter, fácilmente solubles en agua, acetona, etanol, acetato de etilo y éter.

Intervalo de fusión <260> - Entre 23 y 25 °C.

Ditizona - $C_6H_5N:NCSNHNHC_6H_5$ - (PM: 256,3) - (*Difeniltiocarbazona; Ácido feni-*

lazotiofórmico 2-fenilhidrazida) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Docusato sódico - (*Diocilsulfosuccinato de sodio*) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

1-Dodecanol - $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{OH}$ - (PM: 186,3) - (*Alcohol dodecílico*) - Líquido transparente, incoloro. Cristaliza como escamas en solución de alcohol diluido.

Intervalo de fusión <260> - Entre 23 y 25 °C.

Dodecil sulfato de sodio - $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{SO}_4\text{Na}$ - (PM: 288,4) - Polvo cristalino amarillo claro.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 800 mg y disolver en 100 ml de agua. Verter la solución a través de una columna de intercambio catiónico, recolectando el eluato en un recipiente

apropiado. Lavar la columna con 400 ml de agua, recolectando el lavado en el mismo recipiente que el eluato. Titular la solución con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) empleando fenolftaleína (SR) como indicador. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 28,84 mg de $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{SO}_4\text{Na}$. Contiene no menos de 99,0 %.

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 200 mg no presentan más de 0,02 mg de Cl (0,01 %).

Metales pesados <590> - *Método II*. No más de 2 ppm.

Fosfato (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 10 g en un crisol y enfriar. El residuo, disuelto en 25 ml de ácido sulfúrico 0,5 N, no debe contener más de 0,01 mg de PO_4 (1 ppm).

Dulcitol - Ver Galactitol.

E

Edetato disódico - (*Etilendiaminotetraacetato disódico*) - $C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \cdot 2H_2O$ - (PM: 372,2) - Emplear un grado apropiado de la sal disódica dihidratada del ácido etilendinitrilo tetraacético.

Edetato cálcico disódico - (*Etilendiaminotetraacetato cálcico disódico*) - $C_{10}H_{12}N_2O_8CaNa_2$ - (PM: 374,3) - Emplear un grado apropiado de la sal disódica cálcica del ácido etilendinitrilo tetraacético. Puede ser anhidro o dihidrato.

n-Eicosano - $C_{20}H_{42}$ - (PM: 282,6) - Sólido blanco, cristalino.

Intervalo de fusión <260> - Entre 37 y 39 °C.

Enzima fosfática - Una preparación de enzimas de origen microbiano, con alta actividad de fosfatasa y de amilasa, siendo la primera propiedad la que la hace apropiada para emplearse en la liberación de tiamina de sus ésteres ortofosfato y pirofosfato. Polvo color crema brillante o algo gris. Fácilmente soluble en agua. Hidroliza 300 veces su peso de almidón en 30 minutos.

Actividad de amilasa - Transferir a un tubo de ensayo 5 ml de una solución (1 en 50) de almidón soluble en solución reguladora de acetato de sodio 0,2 M, pH 5 (que contenga 1,6 g de acetato de sodio anhidro en cada litro y ácido acético glacial suficiente para ajustar a pH 5) y agregar 4 ml de agua. Mezclar y colocar en un baño de agua a 40 °C. Agregar 1 ml de una solución que contiene 0,3 mg de la enzima fosfática, mezclar y observar el tiempo exacto. Luego de 30 minutos retirar 1,0 ml de la mezcla y agregarla a 5,0 ml de iodo 0,0005 N en un tubo de ensayo de 150 mm × 20 mm: se produce un color rojo transparente.

Eosina (eosina Y) - (*Tetrabromofluoresceína sódica*) - $C_{20}H_6Br_4Na_2O_5$ - (PM: 691,9) - Piezas o polvo de un color entre rojo y pardusco. 1 g se disuelve en aproximadamente 2 ml de agua y en 50 ml de alcohol.

Apariencia y color - Una solución (1 en 500) presenta una coloración entre amarillenta y rojo púrpura con fluorescencia verdosa. Una solución (1 en 12.000) en alcohol presenta una coloración entre rosada y rojo púrpura con fluorescencia amarilla verdosa. El agregado de ácidos minerales a una solución (1 en 100) produce un precipitado entre anaranjado y anaranjado rojizo de tetrabromofluoresceína. Al agregar 2 ml de solución saturada de hidróxido de sodio a 10 ml de una solución del colorante (1 en 100) se forma un precipitado rojo.

Epiandrosterona - $C_{19}H_{30}O_2$ - (PM: 290,4) - Polvo cristalino de color blanco.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno y etanol (9:1).

Procedimiento - Examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm. Se observa una sola mancha con trazas de impurezas.

Intervalo de fusión <260> - Entre 172 y 177 °C.

Equilenina - $C_{18}H_{18}O_2$ - (PM: 266,3) - Cristales o polvo cristalino incoloros o blancos. Insoluble en agua; soluble en cloroformo y dioxano; moderadamente soluble en alcohol.

Intervalo de fusión <260> - *Método II*. Entre 256 y 260 °C.

Rotación específica <170> - Entre + 85° y + 88°, determinada en una solución en dioxano que contiene 75 mg de equilenina cada 10 ml.

Máximos de absorción - Una solución de alcohol presenta máximos de absorción a 231, 282, 325 y 340 nm.

Eriocromo cianina R - $C_{23}H_{15}Na_3O_9S$ - (PM: 536,4) - Polvo oscuro, rojo pardusco. Fácilmente soluble en agua; insoluble en alcohol.

Solubilidad - 200 mg en 100 ml de agua producen una solución que permanece transparente y está exenta de materia no disuelta durante 30 minutos.

Pérdida por secado <680> - Secar al vacío sobre gel de sílice hasta peso constante: no pierde más de 2 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - 0,5 g tratados con 1 ml de ácido sulfúrico y 2 ml de ácido nítrico, producen entre 42,0 y 44,0 % de peso seco (teórico 42,9 % de Na_2SO_4).

Sensibilidad - Agregar 2 ml de una solución (1 en 1000) a 1 ml de solución de sulfato de aluminio (1 en 10.000), calentar a 37 ± 3 °C durante 5 minutos, enfriar y agregar 1 ml de acetato de sodio (SR): se produce un color fuerte entre rojo y rojo violáceo en no más de 5 minutos.

Eritritol - (*Mesoeritritol; 1,2,3,4-Butanotetrol*) - $C_4H_{10}O_4$ - (PM: 122,1) - Prismas tetragonales. Estable al aire. Muy soluble en agua proporcionando una solución transparente, incolora. Almacenar en un sitio frío o a temperatura ambiente en un área seca.

Intervalo de fusión <260> - Entre 118 y 120 °C.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 0,5 %.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,1 %.

Erucamida - ((z)-Docos-13-enamida) - (PM: 337,6) - $C_{22}H_{43}NO$ - Polvo o granulado blanco a amarillento. Prácticamente insoluble en agua; muy soluble en cloruro de metileno; soluble en etanol.

Punto de fusión - Aproximadamente a 70 °C.

Escina - Mezcla de saponósidos relacionados, obtenida a partir de las semillas de *Aesculus hippocastanum* L. Polvo amorfo, fino, prácticamente blanco o ligeramente amarillento o rojizo.

Cromatografía -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía.

Fase móvil - Butanol, agua y ácido acético glacial (50:40:10).

Revelador - Anisaldehído (SR1).

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 20 µl de una solución de 1 mg de escina por ml de alcohol al 70 % v/v. Desarrollar el cromatograma hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, secar entre 100 y 105 °C, pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar entre 100 y 105 °C hasta la aparición de bandas rojas. El cromatograma una mancha principal con valor de R_f de 0,4.

Escualano - (2,6,10,15,19,23-Hexametilтетраcosano) - $C_{30}H_{62}$ - (PM: 422,8) - Líquido oleoso, incoloro. Fácilmente soluble en éter y aceites; poco soluble en acetona, alcohol, ácido acético glacial y metanol.

Densidad relativa <160> - Entre 0,811 y 0,813, a 20 °C.

Índice de refracción <230> - Entre 1,451 y 1,453, a 20 °C.

Estaño - Sn - (PA: 118,71) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Estearato de metilo - $C_{19}H_{38}O_2$ - (PM: 298,5) - Sólido cristalino casi blanco.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar recubierta con una capa 1 µm de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 300 °C. La temperatura de la columna se mantiene a 200 °C y se programa un aumento de 10 °C por minuto hasta 300 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico $C_{19}H_{38}O_2$ no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 40 y 42 °C.

Éster etílico de N-acetil-L-tirosina - $C_{13}H_{17}NO_4$ - (PM: 251,3) - Determinar si el material es apropiado según se indica en *Valoración de Quimotripsina*.

Estrona - (PM: 270,4) - Emplear un reactivo analítico de grado apropiado.

Etanol - Ver Alcohol etílico.

Etanolamina - (2-Aminoetanol) - C_2H_7NO - (PM: 61,1) - Líquido higroscópico, viscoso incoloro, transparente, miscible con agua y metanol; muy soluble en éter. Conservar en envase hermético.

Punto de fusión - Aprox. 11 °C.

Índice de refracción - Aprox. 1,454; determinada a 20 °C:

Densidad relativa - Aprox. 1,04; determinada a 20 °C.

Éter - Ver Éter etílico.

Éter absoluto - Ver Éter etílico anhidro.

Éter butílico - (n-Dibutil éter) - $C_8H_{18}O$ - (PM: 130,2) - Emplear uno de grado apropiado.

Éter de petróleo - (Bencina de petróleo; Hexano solvente) - Líquido transparente, volátil, de olor etéreo débil, similar al del petróleo. Prácticamente insoluble en agua; soluble en alcohol absoluto. Miscible con éter, cloroformo y la mayoría de los aceites fijos y volátiles.

Precaución - Es muy inflamable. Mantener alejado de las llamas y almacenar en envases de cierre perfecto en un sitio fresco.

Apariencia y color - Verter 100 ml, previamente mezclados en su envase original, en un tubo de comparación de color de 100 ml y comparar con un estándar, en un tubo similar, que contenga 2 ml de platino-cobalto (SR) en volumen similar: los dos líquidos son igualmente transparentes y exentos de material o sedimento en suspensión y cuando se observan a través de las columnas por luz transmitida, la muestra no posee color más oscuro que el estándar.

Olor - Su olor no es desagradable y no sugiere mercaptanos o tiofeno.

Intervalo de destilación (Ensayo para reactivos) - Destilar 100 ml: no se obtiene destilado por debajo de 30 °C y no menos de 100 % destila entre 30 y 60 °C.

Residuo de evaporación - Evaporar 150 ml (100 g) en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 30 minutos: el residuo no pesa más de 1 mg (0,001 %).

Acidez - Agitar 10 ml con 5 ml de agua durante 2 minutos y dejar separar las fases: la fase acuosa no colorea de azul el papel de tornasol rojo dentro de un intervalo de 15 segundos.

Aceites pesados y grasas - Verter gradualmente 10 ml sobre el centro de un papel de filtro limpio: no hay olor desagradable y ninguna mancha grasosa visible en el papel una vez transcurridos 30 minutos.

Éter de petróleo para cromatografía - Cumple con las especificaciones para Éter de petróleo y con los requisitos del siguiente ensayo adicional.

Pureza espectral - Determinar en una celda de 1 cm a 300 nm, con un espectrofotómetro apropiado, frente al aire como blanco: su absorbancia no es mayor de 0,08.

Éter difenílico - Ver Difenil éter.

Éter etílico - (*Éter dietílico; Éter*) - $(C_2H_5)_2O$ - (PM: 74,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Éter etílico anhidro - (*Éter absoluto*) - $(C_2H_5)_2O$ - (PM: 74,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Éter isopropílico - Ver Diisopropil éter.

Éter monoetílico de etilenglicol - (*2-Etoxietanol*) - $C_4H_{10}O_2$ - (PM: 90,1) - Líquido transparente, incoloro de olor leve, característico. Miscible con agua, alcohol, éter y acetona.

Densidad relativa <160> - Aprox. 0,93.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 133 y 135 °C.

Éter, polietilenglicol fenil nonil - Ver (*p*-ter-Octilfenoxi) nonaetoxietanol.

4[(etilamino)metil]piridina - $C_8H_{12}N_2$ - (PM: 136,2) - Líquido amarillo pálido.

Densidad relativa <160> - Aprox. 0,98.

Índice de refracción <230> - Aprox. 1,156.

Punto de ebullición - Aprox. 98 °C.

Etilbenceno - C_8H_{10} - (PM: 106,2) - Líquido transparente e incoloro. Soluble en acetona y alcohol; prácticamente insoluble en agua. Emplear un reactivo analítico apropiado, no menos de 99,5 % peso en peso.

Índice de refracción - Aprox. 1,496 20 °C.

Punto de ebullición - Aprox. 135 °C.

4-Etilbenzaldehído - $C_2H_5C_6H_4CHO$ - (PM: 134,2) - Líquido incoloro a amarillo pálido.

Valoración - Disolver aproximadamente 600 mg, exactamente pesados, en una mezcla de 100 ml de alcohol y 25 ml de clorhidrato de hidroxilamina 1 M en un vaso de precipitados. Cubrir el vaso de precipitados con un vidrio de reloj. Calentar suavemente hasta que empiece a formarse un condensado en el vidrio de reloj. Dejar enfriar durante aproximadamente 30 minutos. Titular con hidróxido de sodio 0,5 N (SV), determinan-

do el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,5 N equivale a 67,09 mg de $C_2H_5C_6H_4CHO$. Contiene no menos de 98 %.

Etilendiaminotetraacetato disódico - Ver Ede-tato disódico.

Etilendiaminotetraacetato tetrasódico - (*Sal tetrasódica del ácido etilendinitrilo tetraacético*) - $C_{10}H_{12}N_2Na_4O_8$ - (PM: 380,2) - Polvo fino, blanco, cristalino. Soluble en agua.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 4 horas: no pierde más de 8 % de su peso.

Etilenglicol - $HOCH_2CH_2OH$ - (PM: 62,1) - Líquido transparente, incoloro, poco viscoso, higroscópico, prácticamente inodoro. Poco soluble en éter. Miscible con agua y alcohol.

Densidad relativa - Aprox. 1,11.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 194 y 200 °C.

Residuo de ignición - Evaporar 100 ml (110 g) en un cristizador, previamente pesado, sobre una llama hasta que los vapores continúen quemándose luego de retirar la llama. Dejar que los vapores se quemen hasta que la muestra se consuma. Someter a ignición a 800 ± 25 °C durante 1 hora, enfriar y pesar: el residuo no pesa más de 5,5 mg (0,005 %).

Acidez - Agregar 0,2 ml de rojo de fenol (SR) a 50 ml de agua y titular con hidróxido de sodio 0,1 N hasta punto final rojo. Agregar 50 ml (55 g) de etilenglicol y titular con hidróxido de sodio 0,1 N: no se requiere más de 1 ml para restaurar el color rojo (0,01 % como CH_3COOH).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 4,5 ml (5 g) no presenta más de 0,025 mg de Cl (5 ppm).

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 0,20 %.

Eucaliptol - Ver Cineol.

Eugenol - (*4-Alil-2-metoxifenol*) - $C_{10}H_{12}O_2$ - (PM: 164,2) - Líquido oleoso, incoloro o amarillo pálido. Por exposición al aire y a la luz, se colorea y se hace más viscoso. Miscible con aceites, aceites esenciales, alcohol y éter. Prácticamente insoluble en agua. Proteger de la luz.

Densidad relativa <160> - Aprox. 1,07.

Punto de ebullición - Aprox. 250 °C.

Para uso en cromatografía de gases, debe cumplir con el siguiente ensayo.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de vidrio de 60 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de fase estacionaria constituida por goma de polietilenglicol 20.000. Mante-

ner el inyector y el detector a aproximadamente 270 °C. La temperatura de la columna se debe mantener a 60 °C durante 8 minutos, se programa un ascenso de 3 °C por minuto hasta 180 °C, y se mantiene a esta temperatura durante 5 minutos. Se emplea helio como gas transportador, el caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto. La respuesta del pico principal no debe ser menor de 98,0 % de la suma de las respuestas de todos los picos.

Extracto de levadura - Un derivado soluble en agua, similar a peptona de células de levadura (*Saccharomyces*) preparado bajo condiciones óptimas, clarificado y secado hasta obtener un polvo amarillo rojizo o pardo, de olor característico pero no pútrido. Soluble en agua, proporcionando una solución amarilla parda, teniendo una reacción algo ácida. No contiene carbohidratos agregados. 1 g representa no menos de 7,5 g de levadura.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 5 % de su peso.

Residuo de ignición <270> - Someter a ignición 500 mg con 1 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 75 mg (15 %).

Proteína coagulable - Calentar una solución filtrada (1 en 20) a ebullición: no se forma precipitado.

Cloruro (Ensayo para reactivos) - No presenta más de 5 % de Cl, calculado como cloruro de sodio.

Compuestos nitrogenados (Ensayo para reactivos) - Determinar por el método Kjeldahl, empleando una muestra previamente secada a 105 °C hasta peso constante: contiene entre 7,2 y 9,5 % de N.

Contenido microbiano - Cumple con los requisitos del ensayo para *Contenido microbiano* en Digerido pancreático de caseína.

Extracto de carne - Concentrado de caldo de carne obtenido mediante la extracción de carne fresca, cocida con agua y evaporando el caldo a baja temperatura, generalmente al vacío, hasta que se obtenga un residuo espeso, pastoso. Masa color marrón, algo ácida, pastosa con olor a carne agradable. Almacenarlo en envases inactivos de cierre perfecto.

Para los siguientes ensayos, preparar una *Solución muestra* disolviendo 25 g en agua hasta obtener 250 ml de una solución prácticamente transparente y casi libre de sedimento.

Contenido de nitrógeno en las sustancias solubles en alcohol - Transferir una porción del filtrado y los lavados remanentes del ensayo para *Sustancias insolubles en alcohol*, correspondiente a 1 g de sólidos solubles en alcohol, a un matraz de Kjeldahl de 500 ml. Agregar aproximadamente 10 g de sulfato

de potasio pulverizado y 20 ml de ácido sulfúrico. Calentar la mezcla a baja temperatura hasta que cese la espuma luego subir la temperatura y calentar a ebullición hasta que la mezcla adquiera un color amarillo pálido o se convierta en prácticamente incolora. Enfriar el matraz, agregar aproximadamente 250 ml de agua y, con cuidado, solución de hidróxido de sodio (3 en 10) hasta que el contenido sea alcalino luego agregar 5 ml adicionales. Conectar el matraz inmediatamente a través de una trampa a un condensador, cuyo tubo de salida se sumerge bajo la superficie de 50,0 ml de ácido sulfúrico 0,1 N (SV) contenido en un matraz colector. Destilar la mezcla hasta recoger aproximadamente 100 ml de destilado en el ácido. Agregar rojo de metilo (SR) y titular el exceso de ácido con hidróxido de sodio 0,1 N (SV). Cada mililitro de ácido sulfúrico 0,1 N equivale a 1,401 mg de N. Contiene no menos de 60 mg de nitrógeno.

Valoración de nitrógeno como amoníaco - A 100 ml de *Solución muestra*, contenida en un matraz de Kjeldahl de 500 ml, agregar 5 g de carbonato de bario y 100 ml de agua y a través de una trampa conectada a un condensador cuyo tubo de salida inferior se sumerge bajo la superficie de 50,0 ml de ácido sulfúrico 0,1 N (SV) contenido en un matraz colector. Destilar la mezcla hasta recolectar aproximadamente 100 ml de destilado, agregar rojo de metilo (SR) y titular el exceso de ácido con hidróxido de sodio 0,1 N (SV). Cada mililitro de ácido sulfúrico 0,1 N equivale a 1,703 mg de NH₃. La cantidad de amoníaco encontrado no excede 0,35 % de los sólidos totales en la porción de *Solución muestra* tomada.

Sólidos totales - Distribuir 10 ml de *Solución muestra* sobre arena o asbesto limpio y seco, previamente pesado en una cápsula de porcelana y secar a 105 °C durante 16 horas: el residuo no pesa menos de 750 mg (75 %).

Residuo de ignición - Someter a ignición el residuo obtenido en el ensayo para *Sólidos totales* calentando la placa moderadamente: el residuo no excede 30 % de los sólidos totales.

Cloruros calculados como cloruro de sodio - Disolver la ceniza obtenida en el ensayo para *Residuo de ignición* en aproximadamente 50 ml de agua y cuidadosamente transferir a un matraz aforado de 100 ml. Agregar a la solución unas pocas gotas de ácido nítrico y 10,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV). Agregar agua a volumen y mezclar. Filtrar en un matraz seco a través de un filtro seco, rechazando los primeros 10 ml del filtrado. A 50,0 ml del filtrado posterior agregar 1 ml de sulfato férrico amónico (SR) y titular con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 5,844 mg de NaCl. El peso

de cloruros calculado como cloruro de sodio obtenido, multiplicando por 2, no es mayor de 6 % de los sólidos totales.

Sustancias insolubles en alcohol - Transferir 25 ml de *Solución muestra* a un erlenmeyer de 100 ml, agregar 50 ml de alcohol y agitar. Recolectar el precipitado en un filtro, lavarlo tres veces con una mezcla de 2 volúmenes de alcohol y 1 volumen de agua y secar a 105 °C durante 2 horas: el peso del precipitado, representando los sólidos insolubles de alcohol, no es mayor de 10 % de los sólidos totales en la porción de *Solución muestra* tomada.

Nitrato - Calentar a ebullición 10 ml de *Solución muestra* durante 1 minuto con 1,5 g de carbón activado, agregar agua para reemplazar la pérdida por evaporación, filtrar y agregar 1 gota del filtrado a 3 gotas de una solución de difenilamina en ácido sulfúrico (1 en 100): no se produce color azul.

F

Factor X_a (Factor X Activado) para el ensayo de antifactor X_a - El Factor X_a es la enzima proteolítica obtenida a partir del plasma bovino, que escinde a la protrombina para formar trombina. Es una glicoproteína que tiene un peso molecular de 40.000. Por electroforesis en gel (ver 300. *Electroforesis*) la proteína principal de interés constituye no menos de 90 % de la cantidad total de zonas proteicas. Para emplear como un reactivo en el ensayo de Antifactor X_a, la enzima es activada por el veneno de serpiente de Russel, se retira el agente activante mediante cromatografía, la preparación se estabiliza con albúmina bovina y se liofiliza.

Actividad específica - No menos de 40 UI de Factor X_a por mg de proteína, cuando se ensaya del siguiente modo: mezclar 0,1 ml de una solución saturada de cefalina derivada de tromboplastina cerebral de conejos, equivalente a la tromboplastina de aproximadamente 20 mg de polvo de cerebroacetona de conejo por ml, en plasma bovino y 0,1 ml de cloruro de calcio 0,025 M; agregar de inmediato 0,1 ml de la solución de Factor X_a, correspondiente a una concentración de 0,01 mg de proteína específica por ml, e incubar a 37 °C: produce un coágulo en 15 segundos.

Ausencia de trombina - Una solución que contenga 3,0 UI de Factor X_a por ml en *Solución reguladora de pH 8,4* (ver *Heparina Sódica*) se incubaba a 20 °C en ausencia de iones calcio: no se produce exceso de coagulación del fibrinógeno puro dentro de un periodo de 24 horas.

Fenacetina - Emplear uno de grado apropiado.

1,10-Fenantrolina - (*Ortofenantrolina*) - (PM: 198,2) - C₁₂H₈N₂ · H₂O - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fenantrolina, clorhidrato de - C₁₂H₉ClN₂ · H₂O - (PM: 234,7) - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol.

Punto de fusión- Aprox. 215 °C, con descomposición.

Fenazona - (*Antipirina; 2,3-dimetil-1-fenil-3-pirazolin-5-ona*) - C₁₁H₁₂N₂O - (PM: 188,2) - Polvo cristalino incoloro.

Punto de fusión- Aprox. 112 °C.

dl-Fenilalanina - C₉H₁₁NO₂ - (PM: 165,2) - Emplear uno de grado apropiado.

3-Fenilfenol - (*m-Fenilfenol*) - C₆H₅C₆H₄OH - (PM: 170,2) - Polvo cristalino blanco o casi blanco.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m × 0,25 mm recubierta por una fase estacionaria constituida por aceite de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y 310 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un ascenso de 15 °C por minuto hasta 250 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de 3-fenilfenol no es menor de 98 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 76 y 79 °C.

Fenil isocianato - C₆H₅NCO - (PM: 119,1) - Líquido transparente, incoloro o amarillo pálido de volatilidad media.

Precaución - El Fenil isocianato es un violento lacrimatorio y el vapor es altamente tóxico. Manipular con cuidado.

Valoración - Transferir 250 mg, exactamente pesados, a un erlenmeyer de 250 ml con tapón de vidrio. Tomar precauciones para evitar pérdidas por volatilización y evitar la respiración del vapor. Agregar 20 ml de solución de butilamina (25 g de butilamina, previamente secados sobre pellets de hidróxido de potasio, diluidos a 1 litro con dioxano), insertar el tapón en el erlenmeyer y dejar reposar durante 15 minutos. Agregar unas pocas gotas de rojo de metilo (SR) y 25 ml de agua y titular el exceso de amina con ácido sulfúrico 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco empleando 20 ml de la solución de butilamina (ver *Titulaciones residuales* en 780. *Volumetría*). Restar el volumen de ácido sulfúrico 0,1 N consumido en la titulación de la muestra de aquél consumido en la titulación del blanco. Cada mililitro de ácido sulfúrico 0,1 N, representando por esta diferencia, equivale a 11,91 mg de C₆H₅NCO. Contiene no menos de 97,0 % de C₆H₅NCO.

Fenilhidracina - C₆H₅NHNH₂ - (PM: 108,1) - Líquido incoloro o ligeramente amarillento, altamente refractivo. [NOTA: proteger de la luz y destilar bajo presión reducida antes de emplear.]

Temperatura de solidificación <180> - No menor de 16 °C.

Materia insoluble - Agitar 1 ml con 20 ml de ácido acético diluido: la solución resultante es transparente o casi transparente.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 ml con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo pesa no más de 1 mg (0,1 %).

Fenol - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fenolsulfotaleína - Emplear Rojo de fenol (ver *Indicadores en Indicadores, papeles y papeles indicadores*).

2-Fenoxietanol - $C_6H_5OCH_2CH_2OH$ - (PM: 138,2) - Líquido incoloro, algo viscoso. Soluble en agua. Miscible con alcohol, acetona y glicerina. Densidad: aproximadamente 1,107.

Valoración - A 2 g, exactamente pesados, agregar 10 ml de una solución recientemente preparada mediante disolución de 25 g de anhídrido acético en 100 g de piridina anhidra. Agitar por rotación para mezclar los líquidos, calentar en un baño de vapor durante 45 minutos, agregar 10 ml de agua, calentar durante 2 minutos adicionales y enfriar. Agregar 10 ml de alcohol *n*-butílico, agitar vigorosamente, agregar fenoltaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 1 N equivale a 138,2 mg de $C_8H_{10}O_2$. Contiene no menos de 99 %.

Fenol - Agregar 0,2 ml a 20 ml de agua, mezclar y, a 5 ml de la mezcla, agregar 0,2 ml de reactivo de Millon. Calentar la solución a 60 °C durante 90 segundos y dejar reposar: ningún color rosado o rojo se produce dentro de 1 minuto.

Ferricianuro de potasio - $K_3Fe(CN)_6$ - (PM: 329,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ferrocianuro de potasio - $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ - (PM: 422,4) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ferrocianuro de sodio - $Na_4Fe(CN)_6 \cdot 10H_2O$ - (PM: 484,1) - Cristales o gránulos amarillos. Fácilmente soluble en agua.

Valoración - Disolver 2 g, exactamente pesados, en 400 ml de agua, agregar 10 ml de ácido sulfúrico y titular con permanganato de potasio 0,1 N (SV). Cada mililitro de permanganato de potasio 0,1 N equivale a 48,41 mg de $Na_4Fe(CN)_6 \cdot 10H_2O$. Contiene no menos de 98 %.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 10 g (0,01 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - Disolver 1 g en 75 ml de agua, agregar una solución preparada disolviendo 1,2 g de sulfato cúprico en 25 ml de agua, mezclar y dejar reposar durante 15 minutos. A 20 ml del líquido decantado transparente agregar 2 ml de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata (SR): si aparece turbidez no excede la de un control que contenga 0,02 mg de Cl, 2 ml de ácido nítrico, 1 ml de nitrato de plata (SR) y sulfato cúprico suficiente para armonizar el color de la solución muestra.

Sulfato - Disolver 5 g en 100 ml de agua sin calentar, filtrar y agregar al filtrado 0,25 ml de ácido acético glacial y 5 ml de cloruro de bario (SR): no se produce turbidez en 10 minutos (aproximadamente 0,01 % como SO_4).

Ferroína - Transferir 0,7 g de sulfato férrico y 1,76 g de clorhidrato de fenantrolina a un matraz aforado de 100 ml, disolver en 70 ml de agua y completar a volumen con el mismo solvente.

Ensayo de sensibilidad - A 50 ml de ácido sulfúrico diluido, agregar 0,15 ml de una solución de 2,5 mg de tetróxido de osmio por ml de ácido sulfúrico 0,05 M y agregar 0,1 ml de ferroína. Después del agregado de 0,1 ml de nitrato cérico amónico 0,1 M, el color vira del rojo al verde pálido.

Floroglucinol - $C_6H_3(OH)_3 \cdot 2H_2O$ - (PM: 162,1) - Cristales blancos o blanco amarillentos o polvo cristalino. Algo soluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Solubilidad en alcohol - Disolver 1 g en 20 ml de alcohol: resulta una solución transparente y completa.

Intervalo de fusión <260> - *Método I*. Entre 215 y 219 °C.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,1 %).

Diresorcinol - Calentar a ebullición una solución de 100 mg en 10 ml de anhídrido acético, enfriar la solución y superponerla sobre 10 ml de ácido sulfúrico: ningún color violeta aparece en la zona de contacto de los líquidos.

Fluoreno - $C_{13}H_{10}$ - (PM: 166,2) - Cristales o polvo blanco o casi blanco. Soluble en disulfuro de carbono, éter y alcohol caliente; fácilmente soluble en ácido acético glacial.

Ensayo de solubilidad - 1 g se disuelve en 10 ml de acetona para proporcionar una solución transparente y completa.

Intervalo de fusión <260> - Entre 113 y 117 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 2 °C.

Fluorescamina - $C_{17}H_{10}O_4$ - (PM: 278,3) - Polvo blanco o casi blanco. Poco soluble en agua y cloroformo; fácilmente soluble en cloruro de metileno; soluble en alcohol.

Valoración - Disolver aproximadamente 600 mg en 75 ml de dimetilformamida y titular con metóxido de litio 0,1 N hasta punto final azul, empleando azul de timol al 1 % en dimetilformamida como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de metóxido de litio 0,1 N equivale a 27,83 mg de $C_{17}H_{10}O_4$. Contiene no menos de 99 %.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 4 horas: no pierde más de 0,5 % de su peso.

Fluoresceína sódica - $C_{20}H_{10}Na_2O_5$ - (PM: 376,3) - Polvo higroscópico rojo-anaranjado. Fácilmente soluble en agua; poco soluble en alcohol. Su solución en agua es de color rojo amarillento y presenta una fuerte fluorescencia verde amarillenta que desaparece cuando se acidifica la solución y reaparece cuando se neutraliza o se alcaliniza.

Pérdida por secado <680> - Secar a 120 °C hasta peso constante: no pierde más de 7,0 % de su peso.

4'-Fluoroacetofenona - $FC_6H_4COCH_3$ - (PM: 138,1) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m × 25 mm recubierta con una capa de 1 μm de goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 200 y 250 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 100 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 250 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de $FC_6H_4COCH_3$ no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Aproximadamente 1,510, a 20 °C.

Fluoruro de amonio - NH_4F - (PM: 37,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fluoruro de sodio - NaF - (PM: 42,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Formaldehído - CH_2O - (PM: 30,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Formamida - $HCONH_2$ - (PM: 45,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Preparación para la valoración de digitoxina - Para garantizar la ausencia de amoníaco, proceder del siguiente modo. Agitar una cantidad apropiada de formamida con aproximadamente 10 % de su peso de carbonato de potasio anhidro durante 15 minutos y filtrar. Destilar el filtrado en un aparato totalmente de vidrio bajo vacío a una presión de aproximadamente 25 mm Hg o menor. Descartar la primera porción del destilado que contiene agua y recolectar la fracción que destila aproximadamente a 115 °C a una presión de 25 mm Hg o a 101 °C a una presión de 12 mm Hg. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto.

Formiato de amonio - (*Sal de amonio del ácido fórmico*) - CH_5NO_2 - (PM: 63,1) - Emplear uno de grado apropiado.

Fosfatasa alcalina - Emplear uno de grado apropiado.

Fosfato amónico de sodio - $NaNH_4HPO_4 \cdot 4H_2O$ - (PM: 209,1) - Cristales incoloros o gránulos blancos. Fácilmente soluble en agua; insoluble en alcohol. Es eflorescente al aire y pierde amoníaco.

Materia insoluble y precipitado de hidróxido de amonio - Disolver 10 g en 100 ml de agua, agregar 10 ml de amoníaco (SR) y calentar en un baño de vapor durante 1 hora. Si se forma precipitado, filtrar, lavar bien con agua y someter a ignición: el precipitado sometido a ignición no pesa más de 1 mg (0,01 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,02 mg de Cl (0,002 %).

Metales pesados - Disolver 3 g en 25 ml de agua, agregar 15 ml de ácido sulfúrico 1 N luego agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): ningún color pardo que se desarrolle en 1 minuto debe ser más oscuro que el de un control que contenga 3 ml de *Solución estándar de plomo* (ver 600. *Límite de plomo*) y 0,5 ml de ácido sulfúrico 1 N (0,001 %).

Nitrato - Disolver 1 g en 10 ml de agua, agregar 0,1 ml de índigo carmín (SR) luego agregar, con agitación, 10 ml de ácido sulfúrico: el color azul persiste durante 10 minutos (aproximadamente 0,005 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método II*. Disolver 10 g en 100 ml de agua, agregar 5 ml de ácido clorhídrico y filtrar si fuera necesario: el filtrado no produce más de 5 mg de residuo (0,02 %).

Fosfato de amonio - Ver Fosfato dibásico de amonio.

Fosfato de dodeciltrietilamonio 0,5 M - $[C_{12}H_{25}N \cdot (C_2H_5)_3]_3PO_4$ - (PM: 906,0) - Emplear uno de grado apropiado.

5-Fosfato de piridoxal - (PM: 265,2) - $4-CHOC_5HN-2-CH_3,3-OH, 5-CH_2PO_4H_2 \cdot H_2O$ - Polvo amarillo brillante.

Valoración - Transferir aproximadamente 500 mg, exactamente pesados, a un erlenmeyer apropiado. Agregar 20,0 ml de hidróxido de sodio 0,5 N (SV) y 130 ml de agua y calentar a reflujo durante 1 hora. Enfriar, transferir la solución a un vaso de precipitados de 250 ml, lavar el erlenmeyer con aproximadamente 30 ml de agua y agregar el lavado al vaso de precipitados. Titular la solución con ácido clorhídrico 0,5 N (SV), determinando el primer punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N consumido equivale a 8,839 mg de $C_8H_{10}NO_6P \cdot H_2O$. Contiene no menos de 95 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 140 y 143 °C, con descomposición.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. Entre 8,5 y 9,5 %.

Fosfato de tetrabutilamonio - $(C_4H_9)_4NH_2PO_4$ - (PM: 339,5) - Polvo blanco a casi blanco. Soluble en agua.

Valoración - Disolver aproximadamente 1,5 g, exactamente pesados, en 100 ml de agua. Titular sin demora con hidróxido de sodio 0,5 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,5 N equivale a 169,7 mg de $(C_4H_9)_4NH_2PO_4$. Contiene no menos de 97,0 %.

Fosfato de tributilo - (*Tri-n-butyl fosfato*) - $(C_4H_9)_3PO_4$ - (PM: 266,3) - Líquido transparente, casi incoloro. Poco soluble en agua. Miscible con solventes orgánicos comunes. Densidad relativa: aproximadamente 0,976.

Índice de refracción - Entre 1,4205 y 1,4225.

Fosfato dibásico de amonio - (*Fosfato de amonio*) - $(NH_4)_2HPO_4$ - (PM: 132,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fosfato dibásico de potasio - (*Fosfato ácido dipotásico; Fosfato dipotásico*) - K_2HPO_4 - (PM: 174,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fosfato dibásico de sodio - (*Fosfato disódico; Fosfato ácido disódico; Fosfato sódico, dibásico, heptahidrato*) - $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ - (PM: 268,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fosfato dibásico de sodio anhidro - (*Fosfato de hidrógeno disódico anhidro*) (para soluciones reguladoras) - Na_2HPO_4 - (PM: 142,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fosfato disódico - Ver Fosfato dibásico de sodio.

Fosfato monobásico de amonio - (*Fosfato diácido de amonio*) - $NH_4H_2PO_4$ - (PM: 115,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fosfato monobásico de potasio - (*Bifosfato de potasio; Fosfato diácido de potasio*) - KH_2PO_4 - (PM: 136,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fosfato monobásico de sodio - $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ - (PM: 138,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fosfato tribásico de sodio - $Na_3PO_4 \cdot 12H_2O$ - (PM: 380,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fosfito de tris(2,4-di-ter-butilfenilo) - $C_{42}H_{63}O_3P$ - (PM: 647) - Polvo blanco. Intervalo de fusión: entre 182 y 186 °C.

Fosfito sódico - (*Fosfito disódico; fosfonato sódico*) - $Na_2HPO_3 \cdot 5H_2O$ - (PM: 216,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fosfonoformiato de trietilo - (*(Dietoxifosforil)formiato de etilo*) - $C_7H_{15}O_3P$ - (PM: 210,2) - Líquido incoloro.

Punto de ebullición (Ensayo para reactivos) - Aprox. 135 °C.

Fósforo rojo - P - (PA: 30,97) - Polvo rojo oscuro. Insoluble en agua y en ácidos diluidos; soluble en alcohol absoluto.

Fósforo amarillo - Agitar 20 g con 75 ml de disulfuro de carbono en un recipiente con tapón de vidrio y dejar reposar en la oscuridad de la noche a la mañana. Filtrar y lavar el residuo con disulfuro de carbono hasta que el filtrado, recolectado en una probeta, sea de 100 ml. Evaporar el solvente a 10 ml sumergiendo la probeta en agua caliente. Sumergir una tira de papel de sulfato cúprico en el solvente restante: no se produce color más fuerte que en una tira similar sumergida en 10 ml de una solución en disulfuro de carbono que contiene 3 mg de fósforo amarillo (0,015 % como P).

Sustancias solubles - Digerir 2 g con 30 ml de ácido acético en un baño de vapor durante 15 minutos. Enfriar, diluir con agua a 40 ml y filtrar. Evaporar 20 ml del filtrado en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 2 horas: el residuo no pesa más de 6 mg (0,6 %).

Ftalato ácido de potasio - $C_8H_5KO_4$ (PM: 204,2) — Cristales blancos o casi blancos, soluble en agua y ligeramente soluble en alcohol. Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ftalato de bis(2-etilhexilo) - (PM: 390,6) - $C_6H_4-1,2-[COOCH_2(C_2H_5)CH(CH_2)]_2$ - Líquido incoloro o amarillo claro.

Índice de refracción - Entre 1,4855 y 1,4875, a 20 °C.

Ftalato de dibutilo - $C_{16}H_{22}O_4$ - (PM: 278,3) - Líquido transparente, incoloro.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 2 g y transferirlos a un erlenmeyer apropiado. Agregar 25,0 ml de hidróxido de sodio 1 N y 30 ml de alcohol isopropílico y mezclar. Digerir la mezcla a una temperatura cercana al punto de ebullición durante 30 minutos y luego enfriar en un baño de agua a temperatura ambiente. Agregar fenoltaleína (SR) y titular con ácido sulfúrico 1 N (SV) hasta la desaparición del color rosado. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias.

Cada mililitro de ácido sulfúrico 1 N consumido equivale a 139,2 mg de $C_{16}H_{22}O_4$. Contiene no menos de 98 %.

Índice de refracción <230> - Entre 1,491 y 1,493, a 20 °C.

Contenido ácido - Pesar exactamente alrededor de 10 g y disolver en 100 ml de una mezcla de alcohol y éter (1:1). Agregar fenolftaleína (SR) y titular de inmediato con hidróxido de potasio alcohólico 0,05 N (SV). Cada mililitro de hidróxido de potasio alcohólico 0,05 N equivale a 4,15 mg de ácido ftálico. Contiene no más de 0,02 %.

Ftalato de dipropilo - $C_{14}H_{18}O_4$ - (PM: 250,3) - Líquido viscoso, incoloro.

Valoración -

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 230 nm y una columna de 15 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice porosa de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal es de aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo y agua (52:48).

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 20 μ l (ver 100. *Cromatografía*). El área del pico $C_{14}H_{18}O_4$ no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,495 y 1,499, a 20 °C.

Ftalazina - $C_8H_6N_2$ - (PM: 130,2) - Cristales de color amarillo o pardo.

Intervalo de fusión <260> - Entre 89 y 92 °C.

o-Ftaldehído - (*Benceno-1,2-dicarboxaldehído*) - $C_8H_6O_2$ - (PM: 134,1) - Polvo cristalino amarillo. [NOTA: conservar en envases herméticos inactivos].

Punto de fusión - Aprox. 55 °C

Ftalimida - $C_8H_5NO_2$ - (PM: 147,1) - Polvo blanco.

Valoración -

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 230 nm y una columna de 15 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por partículas porosas de sílice de 5 a 10 μ m de diámetro. El caudal es de aproximadamente 2 ml por minuto.

Fase móvil - Isooctano y metil *ter*-butil éter (88:12).

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 20 μ l (ver 100. *Cromatografía*). El área del pico de $C_8H_5NO_2$ no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 233 y 235 °C, con descomposición.

Fucsina básica - Constituye una mezcla de clorhidratos de rosanilina y de pararrosanilina. Cristales o fragmentos cristalinos con un lustre brillante de color bronce verdoso. Soluble en agua, alcohol y alcohol amílico.

A 10 ml de una solución (1 en 500) agregar 10 ml de amoníaco (SR) y 500 mg de polvo de cinc y agitar la mezcla: la solución se torna incolora. Colocar unas pocas gotas de la solución decolorada sobre un papel de filtro y cerca, en el mismo papel, colocar unas pocas gotas de ácido clorhídrico diluido: se desarrolla un color rojo en la zona de contacto.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 5,0 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 3 mg (0,3 %).

Furfural - C_4H_3OCHO - (PM: 96,1) - Líquido transparente e incoloro cuando está recientemente destilado, pero en seguida adquiere un color pardo rojizo. Soluble en agua. Miscible con alcohol. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto. Debe destilarse en el momento de ser empleado.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 159 y 162 °C.

G

Galactitol - (*Dulcitol*) - $C_6H_{14}O_6$ - (PM: 182,2)
- Cristales blancos o polvo cristalino. Estable al aire. 1 g se disuelve en 30 ml de agua para proporcionar una solución transparente, incolora. Almacenar en un sitio fresco o a temperatura ambiente en un sitio seco.

Intervalo de fusión <260> - Entre 188 y 189 °C.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*.
No más de 0,5 %.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,1 %.

Gel de sílice - SiO_2 - Amorfo, en parte hidratado en forma de gránulos cristalinos de tamaño variable. Cuando se emplea como desecante, con frecuencia se recubre con una sustancia que cambia de color cuando se agota su capacidad de absorber agua. Tales productos coloreados se pueden regenerar (es decir, se puede recuperar su capacidad de absorber agua) calentando a 110 °C hasta que el gel recupere el color original.

[NOTA: los siguientes procedimientos y límites están diseñados sólo para probar el grado desecante de gel de sílice.]

Pérdida por ignición - Someter a ignición 2 g, exactamente pesados, a 950 ± 50 °C hasta peso constante: no pierde más de 6,0 % de su peso.

Absorción de agua - Transferir aproximadamente 10 g a un recipiente de pesaje, previamente pesado, y pesar. Luego colocar el recipiente, sin tapón, durante 24 horas en un envase cerrado cuya atmósfera se mantendrá a una humedad relativa de 80 % equilibrándola con ácido sulfúrico cuya densidad relativa sea 1,19. Pesar nuevamente: el aumento de peso no es menor de 31,0 % del peso de la muestra.

Gel de sílice con indicador de fluorescencia para cromatografía - Mezcla de gel de sílice con una sustancia fluorescente apropiada.

Gel de sílice con grupos amino químicamente unidos con indicador de fluorescencia para cromatografía - Emplear uno de grado apropiado.

Gel de sílice dimetilsilanizado con indicador de fluorescencia para cromatografía - Emplear uno de grado apropiado.

Gel de sílice libre de aglutinante - Gel de sílice para uso cromatográfico formulado sin aglutinante, ya que las formas activadas del gel de sílice se emplean como único agente aglutinante.

Gel de sílice octadecilsilanizado para cromatografía - Emplear uno de grado apropiado.

Gel de sílice octadecilsilanizado con indicador de fluorescencia para cromatografía - Emplear uno de grado apropiado.

Gel de sílice para cromatografía - Emplear uno de grado apropiado.

Gel de sílice poroso - Emplear uno de grado apropiado para cromatografía de líquidos de alta eficacia.

Gingenósido Rb_1 -
((20-S)-3 β -di-D-glucopiranosil-20-di-D-glucopiranosilprotopanaxadiol) - $C_{54}H_{92}O_{23} \cdot 3H_2O$ -
(PM: 1.163) - Sólido incoloro. Soluble en agua, alcohol y metanol.

Punto de fusión <260> - Aprox. 199 °C.

Rotación específica <170> - +11,3 °, determinada a 20 °C en una solución que contenga 10 mg por ml en metanol.

Agua <120> - No más de 6,8%.

Valoración - Proceder según se indica en *Valoración en Raíz de Ginseng Oriental*. Emplear una solución de 0,3 mg de gingenósido Rb_1 por ml de metanol como solución muestra. Debe contener no menos de 95,0 % calculado por el procedimiento de normalización.

Gingenósido Rg_1 -
((20-S)-6 β -D-glucopiranosil-D-glucopiranosilprotopanaxatriol) - $C_{42}H_{72}O_{14} \cdot 2H_2O$ - (PM: 837) -
Sólido incoloro. Soluble en agua, alcohol y metanol.

Intervalo de fusión <260> - Entre 188 y 191 °C.

Rotación específica <170> - +31,2 °, determinada a 20 °C en una solución que contenga 10 mg por ml en metanol.

Agua <120> - No más de 4,8%.

Valoración - Proceder según se indica en *Valoración en Raíz de Ginseng Oriental*. Emplear una solución de 0,3 mg de gingenósido Rg_1 por ml de metanol como solución muestra. Debe contener no menos de 95,0 % calculado por el procedimiento de normalización.

Gitoxina - $C_{41}H_{64}O_{14}$ - (PM: 780,9) - Polvo blanco, cristalino. Prácticamente insoluble en agua, cloroformo y éter; poco soluble en piridina y alcohol diluido. Funde aproximadamente a 250 °C, con descomposición.

Rotación específica <170> - Entre +3,8° y +4,8°, determinado en una solución de piridina que contenga 10 mg por ml, con el empleo de una luz de mercurio a 546,1 nm; entre +21° y +25°, determinado en una solución de cloroformo y

metanol (50:50) que contiene 5 mg por ml, empleando luz de sodio.

Aptitud - Disolver 10 mg de *Digitoxina SR-FA*, previamente secada, 10 mg de *Digoxina SR-FA* previamente secada y 10 mg de gitoxina, en porciones separadas de 5 ml de una mezcla de cloroformo y metanol (2:1) y diluir cada uno con mezcla solvente adicional a 10 ml. Luego proceder según se indica en el *Ensayo de identificación* para *Digoxina*. El cromatograma de gitoxina presenta una mancha fluorescente, ubicada entre las manchas de digoxina y digitoxina.

Glacial, ácido acético - Ver Ácido acético glacial.

Glicerina - (*Glicerol*) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Glicocolato de sodio - $C_{26}H_{42}NNaO_6$ - (PM: 487,6) - Polvo de color blanco o canela, inodoro o prácticamente inodoro. Es higroscópico. Fácilmente soluble en agua y alcohol.

Rotación específica <170> - Entre +28° y +31°, calculada sobre la sustancia seca (se torna anhidro al secar a 100 °C durante 2 horas), determinada a 20 °C en una solución que contenga 10 mg por ml.

Determinación de nitrógeno <200> - *Método I*. Entre 2,6 y 3,2 % de N, calculado sobre la sustancia seca.

Guayacol - (*o-Metoxifenol*) - $C_7H_8O_2$ - (PM: 124,1) - Líquido refractivo entre incoloro y amarillento, con un olor característico. Moderadamente soluble en agua; soluble en solución de hidróxido de sodio; miscible con alcohol, cloroformo, éter y ácido acético glacial.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver *100. Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,8 m × 3 mm con fase líquida constituida por un compuesto de polietilenglicol (p.m.p aproximadamente 15.000 [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido.]), sobre un soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C, de malla 60 a 80 [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad, pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector, la columna y el detector a aproximadamente 180, 200 y 280 °C, respectivamente. Se emplea helio como gas transportador. El tiempo de retención es aproximadamente 8 minutos. Presenta una pureza no menor a 98 %.

Índice de refracción - Entre 1,5430 y 1,5450, a 20 °C.

H

Hemateína - $C_{16}H_{12}O_6$ - (PM: 300,3) - Preparada a partir de extracto de leño o de hematoxilina por tratamiento con amoníaco y exposición al aire. Cristales pardos rojizos con un lustre metálico verde amarillento. Poco soluble en agua (aproximadamente 1 en 1700), alcohol y éter; insoluble en cloroformo; fácilmente soluble en solución diluida de amoníaco para formar una solución de color rojo púrpura oscuro y en solución acuosa de hidróxido de sodio (1 en 50) para formar una solución de color rojo brillante, observada en cada caso a través de una capa de 1 cm de profundidad. Funde a una temperatura por encima de 200 °C y tiende a descomponerse a 250 °C.

Hematoxilina - (*Hidroxibrasilina*) - $C_{16}H_{14}O_6 \cdot 3H_2O$ - (PM: 356,3) - Sustancia cristalina obtenida a partir del corazón del leño de *Haematoxylon campechianum* Linneo (Fam. Leguminosae). Prismas incoloros a amarillos. Muy poco soluble en agua fría y éter; rápidamente soluble en agua caliente y alcohol caliente. Cuando se expone a la luz, adquiere un color rojo y proporciona una solución amarilla. Se disuelve en amoníaco (SR) y en soluciones de hidróxidos alcalinos y carbonatos. Cuando se disuelve en solución de alumbre desarrolla un color rojo; en solución de cloruro estañoso un color rosa y en soluciones de sales cúpricas un color gris verdoso. Se torna gradualmente negro en solución de dicromato de potasio. Almacenar la hematoxilina y sus soluciones en envases inactivos y protegidas del aire.

Heparina - Emplear *Heparina Sódica*.

HEPES - (*Ácido N-(2-hidroxietil)piperazina-N'-2-etanosulfónico*) - $C_6H_{18}N_2O_4S$ - PM: 238,3 - Polvo blanco.

Punto de fusión - Aprox. 236 °C, con descomposición.

Heptadecanoato de metilo - $C_{18}H_{36}O_2$ - (PM: 284,5) - Escamas blancas, cristalinas.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μ m de fase estacionaria constituida por 90 % de 3-cianopropil silicona y 10 % de fenilmetilsilicona. Mantener el inyector y el detector a 220 °C. La temperatura de la columna se mantiene a 180 °C y se programa un ascenso de 4 °C por minuto hasta alcanzar 220 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico $C_{18}H_{36}O_2$ no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 31 y 32 °C.

n-Heptano - Ver *n-Heptano* para cromatografía.

n-Heptano para cromatografía - Líquido transparente, incoloro, volátil e inflamable; constituido esencialmente por C_7H_{16} . Presenta olor característico. Prácticamente insoluble en agua; soluble en alcohol absoluto. Miscible con éter, cloroformo y con la mayoría de los aceites fijos y volátiles.

[NOTA: el *n-Heptano* puede requerir purificación mediante el pasaje a través de una columna de gel de sílice, empleando una relación de aproximadamente 25 g de gel por cada 100 ml de *n-heptano* y destilación fraccionada posterior.]

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 94,5 y 99,0 °C.

Pureza espectral - Determinar la absorbancia en una celda de 1 cm, a 250 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando agua como blanco: no es mayor de 0,10.

Residuo en evaporación - Cumple con los requisitos del ensayo para *Residuo en evaporación en Éter de petróleo*.

1-Heptanosulfonato de sodio - $C_7H_{15}NaO_3S$ - (PM: 202,3) - Emplear uno de grado apropiado.

2,2',2'',6,6',6''-hexa-ter-butil-4,4',4''-[(2,4,6-tri-metil-1,3,5-bencenotriil)trismetileno] trifenol - $C_{54}H_{78}O_3$ - (PM: 775) - Polvo cristalino, prácticamente insoluble en agua; soluble en acetona; poco soluble en alcohol. Punto de fusión: aproximadamente a 244°C.

Hexadecil hexadecanoato - (*Hexadecil palmitato; Palmitato de cetilo*) - $C_{32}H_{64}O_2$ - (PM: 480,9) - Emplear uno de grado apropiado.

Hexametildisilazano - $C_6H_{19}NSi_2$ - (PM: 161,4) - Líquido transparente, incoloro, de olor característico.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 1,8 m \times 2 mm con una fase estacionaria constituida por 50 % de fenil silicona y 50 % de metilpolisiloxano, sobre soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector

y el detector a 100 y 310 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 35 °C durante 5 minutos y se programa un ascenso de 8 °C por minuto hasta alcanzar 200 °C. Se emplea helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 40 ml por minuto. Presenta una pureza de no menos de 95 %.

Residuo después de la evaporación - Transferir 200 g a un cristizador y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Secar el residuo a 105 °C durante 1 hora, enfriar y pesar: no se encuentra más de 0,0025 % de residuo.

Hexametilenimina - (*Homopiperidina*) - $C_6H_{12}NH$ - (PM: 99,2) - Líquido incoloro a casi incoloro.

Índice de refracción - Entre 1,4640 y 1,4660, a 20 °C.

Hexametilentetramina - (*Hexamina; Metenamina; Urotropina*) - $C_6H_{12}N_4$ - (PM: 140,2) - Polvo cristalino incoloro, muy soluble en agua.

Hexanitrodifenilamina - (*Dipicrilamina*) - $C_{12}H_5N_7O_{12}$ - (PM: 439,2) - Polvo o prismas de color amarillo oro. *Precaución* - *Es explosivo*. Por lo general, contiene aproximadamente 15 % de agua como medida de seguridad. Insoluble en agua, alcohol, acetona y éter; soluble en ácido acético glacial y álcalis.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 16 %.

n-Hexano - C_6H_{14} - (PM: 86,2) - Para espectrofotometría generalmente es una mezcla de varios isómeros de hexano (C_6H_{14}), predominantemente *n*-hexano y metilciclopentano (C_6H_{12}). Emplear un reactivo analítico apropiado.

Hexanofenona - $C_{12}H_{16}O$ - (PM: 176,3) - Líquido amarillo.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m × 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de una fase estacionaria constituida por 50 % de fenil silicona y 50 % de metilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a 280 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 180 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico $C_{12}H_{16}O$ no es menor de 98 % del área total.

Índice de refracción <230> - $1,511 \pm 0,002$, a 20 °C.

Hexano solvente - Ver Éter de petróleo.

1-Hexanosulfonato de sodio - $C_6H_{13}NaO_3S$ - (PM: 188,2) - Emplear uno de grado apropiado.

Hexilamina - (*Hexanamina*) - $C_6H_{15}N$ - (PM: 101,2) - Líquido incoloro. Soluble en alcohol y éter; poco soluble en agua.

Índice de refracción <230> - Aprox. 1,418.

Intervalo de ebullición - Entre 127 y 131 °C.

Densidad relativa - Aprox. 0,766 a 20 °C.

Hidrato de cloral - Emplear *Hidrato de cloral*.

Hidrato de hidracina al 85 % en agua - $(NH_2)_2 \cdot H_2O$ - (PM: 50,1) - Líquido incoloro.

Valoración - Transferir 600 mg, exactamente pesados, a un matraz aforado de 100 ml. Completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 10 ml a un vaso de precipitados, agregar 1,0 g de bicarbonato de sodio y 50,0 ml de iodo 0,1 N (SV). Titular el exceso de iodo con tiosulfato de sodio 1 N (SV) empleando almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de iodo 0,1 N equivale a 12,52 mg de $(NH_2)_2 \cdot H_2O$. Contiene no menos de 83 %.

Hidrazida del ácido isonicotínico - Emplear *Isoniazida*.

Hidrógeno ftalato de potasio - (*Benceno-1,2-dicarboxilato ácido de potasio*) - $C_8H_5KO_4$ - (PM: 204,2) - Cristales blancos. Solubles en agua; poco solubles en alcohol.

Hidroperóxido de terbutilo - $C_4H_{10}O_2$ - (PM: 90,1) - Soluble en solventes orgánicos. Densidad relativa: aproximadamente 0,898. Índice de refracción: aproximadamente 1,401.

Hidroquinona - $C_6H_4(OH)_2$ - (PM: 110,1) - Cristales en forma de agujas finas, incoloras o blancas. Se oscurece por exposición al aire y a la luz. Soluble en agua, alcohol y éter.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 250 mg y disolver en una mezcla de 100 ml de agua y 10 ml de ácido sulfúrico 0,1 N en un erlenmeyer de 250 ml. Agregar 3 gotas de una solución (1 en 100) de difenilamina en ácido sulfúrico y titular con sulfato cérico 0,1 N (SV) hasta que la solución se torne color rojo violáceo. Cada mililitro de sulfato cérico 0,1 N equivale a 5,506 mg de $C_6H_4(OH)_2$. Contiene no menos de 99 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 172 y 174 °C.

Hidrosulfito de sodio - (*Ditionito de sodio*) - $Na_2S_2O_4$ - (PM: 174,1) - Polvo cristalino blanco o blanco grisáceo. Soluble en agua; poco soluble en alcohol. Se oxida gradualmente a bisulfito al aire, más fácilmente cuando está en solución, dando una reacción ácida. Es afectado por la luz.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 1 g, disolver en una mezcla de 10 ml de formaldehído (SR) y 10 ml de agua contenida en un erlenmeyer apropiado con tapón de vidrio y dejar reposar durante 30 minutos con agitación frecuente. Transferir la solución a un matraz aforado de 250 ml, agregar 150 ml de agua y 3 gotas de naranja de metilo (SR) y luego agregar ácido sulfúrico 1 N, gota a gota, hasta reacción levemente ácida. Diluir con agua a 250 ml y mezclar. A 50,0 ml de la solución, agregar 2 gotas de fenolftaleína (SR) y cantidad suficiente de hidróxido de sodio 0,1 N para producir un color rosado suave. Titular con iodo 0,1 N agregando 3 ml de almidón (SR) como indicador. Luego eliminar el color azul de la solución con 1 gota de tiosulfato de sodio 0,1 N y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) hasta color rosado. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 3,482 mg de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$. Contiene no menos de 88 %.

Sulfuro - Agregar solución de hidróxido de sodio (1 en 10) a acetato de plomo (SR) hasta disolver el precipitado. Agregar 5 gotas de esta solución a una solución de 1 g de hidrosulfito de sodio en 10 ml de agua: no se observa oscurecimiento inmediato.

Metales pesados - Disolver 1 g en 10 ml de agua, agregar 10 ml de ácido clorhídrico y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Disolver el residuo en 20 ml de agua y 0,5 ml de ácido clorhídrico diluido, filtrar y agregar al filtrado 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): no se produce oscurecimiento. Alcalinizar la solución con amoníaco (SR): puede producirse un ligero color verdoso pero nunca un precipitado blanco u oscuro.

Aptitud para la valoración de riboflavina - Agregar a cada uno de dos o más tubos 10 ml de agua y 1,0 ml de una solución de riboflavina que contenga 20 μg de riboflavina por ml y mezclar. A cada tubo agregar 1,0 ml de ácido acético glacial, mezclar, agregar 0,5 ml de solución de permanganato de potasio (1 en 25) continuando con el mezclado y dejar reposar durante 2 minutos. A continuación agregar a cada tubo, 0,5 ml de peróxido de hidrógeno (SR) y mezclar: el color de permanganato desaparece dentro de los 10 segundos. Agitar los tubos vigorosamente hasta expulsar el exceso de oxígeno. Si quedan burbujas en las paredes de los tubos una vez finalizada la reacción, eliminarlas volcando los tubos para que la solución fluya lentamente desde un extremo al otro del tubo. En un fluorómetro apropiado, medir la fluorescencia de la solución. Luego agregar, mezclando, 8,0 mg de hidrosulfito de sodio: la riboflavina se reduce completamente en no más de 5 segundos.

3'-Hidroxiacetofenona - $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_2$ - (PM: 136,2) - Polvo, trozos pequeños o gruesos de color marrón claro. Funde aproximadamente a 96 °C. Moderadamente soluble en cloroformo, proporcionando una solución transparente amarillo clara.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con aceite de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a 300 °C. La temperatura de la columna se mantiene a 180 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 280 °C, manteniendo esa temperatura aproximadamente 10 minutos. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico principal no es menor de 97 % del área total.

4'-Hidroxiacetofenona - $\text{HOC}_6\text{H}_4\text{COCH}_3$ - (PM: 136,2) - Polvo gris, funde aproximadamente a 109°C.

1-Hidroxibenzotriazol hidrato - (PM: 135,1, anhidro) - $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}_3\text{O} \cdot x\text{H}_2\text{O}$ - Polvo cristalino blanco. Moderadamente soluble en alcohol produciendo una solución transparente de color amarillo claro.

Hidróxido de amonio - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Hidróxido de bario - $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 315,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Hidróxido de calcio - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Hidróxido de cuprietilendiamina, solución 1 M - Emplear una solución 1 M en la cual la relación molar entre etilendiamina y cobre sea de $2,00 \pm 0,04$.

Hidróxido de estroncio - (*Hidróxido de estroncio octahidratado*) - $\text{Sr}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 265,8) - Polvo blanco, cristalino. Moderadamente soluble en agua. Puede absorber dióxido de carbono del aire. Mantener perfectamente cerrado.

Valoración y carbonato - Pesar exactamente alrededor de 5 g, disolver en 200 ml de agua caliente en un erlenmeyer 500 ml con tapón de vidrio, agregar fenolftaleína (SR) y titular con ácido clorhídrico 1 N (SV) para determinar la alcalinidad del hidróxido. Luego agregar naranja de metilo (SR) y titular con ácido clorhídrico 1 N (SV). Cada mililitro de ácido clorhídrico 1 N requerido para llegar al punto final de fenolftaleína equivale a 132,9 mg de $\text{Sr}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ y cada mililitro adicional de ácido clorhídrico 1 N (SV) requerido para llegar al punto final con naranja de metilo equivale a 73,8 mg de

SrCO_3 . Contiene no menos de 95,0 % de $\text{Sr}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ y no más de 3,0 % de SrCO_3 .

Cloruro (Ensayo para reactivos) - Disolver 1,0 g en 100 ml de agua y filtrar si fuera necesario: 1,0 ml de la solución no presenta más de 0,01 mg de Cl (0,1%).

Calcio (Ensayo para reactivos) -

Solución madre de la muestra - Disolver 5,0 g en agua y diluir con agua a 100 ml.

Solución muestra - Diluir 10,0 ml de la *Solución madre de la muestra* con agua a 100 ml.

Solución control - Agregar 0,50 mg de ion calcio (Ca) a 10,0 ml de la *Solución madre de la muestra* y diluir con agua a 100 ml.

Procedimiento - Determinar la emisión de fondo a 416,7 nm. No más de 0,1 %.

Hierro - Disolver 1 g en agua caliente y diluir con agua a 100 ml. A 20 ml de esta solución agregar 2 ml de ácido clorhídrico y 0,1 ml de permanganato de potasio 0,1 N, dejar reposar durante 5 minutos y agregar 3 ml de solución de tiocianato de amonio (3 en 10). Cualquier color rojo producido no es más oscuro que el de un control que contenga 0,03 mg de Fe (0,015%).

Metales pesados - Preparar la *Solución muestra* del siguiente modo: disolver 2,0 g en 14 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 6) y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad; absorber el residuo en 25 ml de agua, filtrar y diluir con agua a 100 ml. Agregar a 5,0 ml de la *Solución muestra* 0,02 mg de plomo (Pb) y diluir con agua a 30 ml, para obtener el control. Para la muestra, emplear 30 ml de la *Solución muestra*. Ajustar cada solución con ácido acético o amoníaco (SR) hasta pH entre 3,0 y 4,0 (empleando papel de pH de intervalo estrecho), diluir con agua a 40 ml y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno recientemente preparado (SR): cualquier color pardo desarrollado en la *Solución muestra* no es más oscuro que el de la solución preparada a partir del control (0,004%).

Hidróxido de litio - $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ - (PM: 42,0) - Cristales blancos. Soluble en agua; insoluble en alcohol.

Valoración - Disolver aproximadamente 160 mg, exactamente pesados, en 50 ml de agua, agregar fenolftaleína (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,1 N (SV) hasta punto final incoloro. Cada mililitro de ácido clorhídrico 0,1 N equivale a 4,196 mg de $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$. Contiene no menos de 98 %.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1,0 mg, determinado sobre 10 g (0,01 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 200 mg no presentan más de 0,02 mg de Cl (0,01 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. Disolver 400 mg en 10 ml de agua y neutralizar con ácido clorhídrico 3 N. Agregar 0,1 ml de bromo (SR), calentar a ebullición para remover el bromo en exceso, agregar 2 ml de ácido clorhídrico 3 N, filtrar y diluir con agua a 40 ml: 20 ml de esta solución no presentan más de 0,10 mg de SO_4 (0,05 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 0,002 %.

Hierro <580> - No más de 0,02 mg de Fe (0,002%), determinado sobre 1 g.

Hidróxido de potasio - KOH - (PM: 56,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Hidróxido de sodio - NaOH - (PM: 40,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Hidróxido de tetrabutilamonio al 40 % en agua - $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NOH}$ - (PM: 259,5) - Emplear uno de grado apropiado.

Hidróxido de tetrabutilamonio 1,0 M en metanol - Emplear uno de grado apropiado.

Hidróxido de tetrametilamonio - $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$ - (PM: 91,2) - Disponible como una solución acuosa de aproximadamente 10 ó 25 % o como pentahidrato cristalino. Es transparente e incolora y tiene un fuerte olor a amoníaco. El hidróxido de tetrametilamonio es una base más fuerte que el amoníaco y absorbe rápidamente dióxido de carbono del aire. Almacenar en envases de cierre perfecto.

Valoración - Pesar exactamente un erlenmeyer con tapón de vidrio que contenga aproximadamente 15 ml de agua. Agregar una cantidad de una solución de hidróxido de tetrametilamonio, equivalente a 200 mg de $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$ y pesar nuevamente. Agregar rojo de metilo (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,1 N (SV). Cada mililitro de ácido clorhídrico 0,1 N equivale a 9,115 mg de $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$.

Residuo de evaporación - Evaporar 5 ml de solución en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: el peso del residuo equivale a no más de 0,02 % del peso de la muestra.

Amoníaco y otras aminas - Pesar exactamente una cantidad de solución, equivalente a aproximadamente 300 mg de $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$, en un recipiente de pesaje bajo, previamente pesado, con 5 ml de agua. Agregar un leve exceso de ácido clorhídrico 1 N (aproximadamente de 4 ml), evaporar en un baño de vapor hasta sequedad y secar a 105 °C durante 2 horas: el peso del cloruro de tetrametilamonio obtenido, multiplicado por 0,8317, representa la cantidad, en mg, de $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$ en la porción de muestra tomada y corresponde a aproximadamente 0,2 %

por encima o por debajo del valor encontrado en la *Valoración*.

Hidróxido de tetrametilamonio pentahidrato - $(\text{CH}_3)_4\text{NOH} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 181,2) - Cristales blancos a casi blancos. Es higroscópico. Base fuerte. Almacenar en envases bien cerrados. Soluble en agua y metanol.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 800mg, disolver en 100 ml de agua y titular con ácido clorhídrico 0,1 N (SV) determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido clorhídrico 0,1 N equivale a 18,22 mg de $(\text{CH}_3)_4\text{NOH} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Contiene no menos de 98 %.

Hidróxido de tributiletilamonio - $\text{C}_{14}\text{H}_{33}\text{NO}$ - (PM: 231,4) - Emplear uno de grado apropiado.

Hidróxido de (*m*-trifluorometilfenil) trimetilamonio en metanol - Emplear uno de grado apropiado.

***D-d-4*-Hidroxifenilglicina** - $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_3$ - (PM: 167,2) - Escamas brillosas. Moderadamente soluble en agua, alcohol, acetona, éter, cloroformo, acetato de etilo y ácido acético glacial; soluble en álcalis y ácidos minerales; fácilmente soluble en ácido clorhídrico caliente al 20 % v/v.

Intervalo de fusión <260> - Entre 220 y 247 °C, con descomposición.

10 β -Hidroxinorandrostenodiona - (*10 β -Hidroxi-19-norandrost-4-en-3,17-diona*) - $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_3$ - (PM: 288,4) - Emplear uno de grado apropiado.

8-Hidroxiquinolina - (*Oxina*) - $\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}$ - (PM: 145,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Hiperósido - (*2-(3,4-Dihidroxifenil)-3- β -D-galactopiranosiloxi-5,7-dihidroxicromen-4-ona*) - $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$ - (PM: 464,4) - Agujas amarillo pálido, solubles en metanol.

Punto de fusión <260> - Aprox. 240 °C, con descomposición.

Rotación específica <170> - - 8,3 °, determinada a 20 °C en una solución que contenga 2 mg por ml en piridina.

Absorción ultravioleta <470> - Debe presentar dos máximos de absorción a 259 y 364 nm en una solución apropiada en metanol.

Hipoxantina - (*1H-Purin-6-ona*) - $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}$ - (PM: 136,1) - Polvo cristalino blanco, muy poco soluble en agua; bastante soluble en agua a ebullición; soluble en soluciones diluidas de ácidos y en soluciones diluidas de hidróxidos alcalinos. Se descompone sin fundir a aproximadamente 150 °C.

Cromatografía - Analizar según se indica en *Mercaptopurina*, el cromatograma sólo presenta una mancha principal.

I

Imidazol - $C_3H_4N_2$ - (PM: 68,1) - Cristales color blanco a amarillo claro. Fácilmente soluble en agua.

Valoración - Transferir aproximadamente 700 mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados de 250 ml. Disolver en 100 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 6,808 mg de $C_3H_4N_2$. Contiene no menos de 98 %.

Iminoestilbeno - $C_{14}H_{11}N$ - (PM: 193,2) - Polvo amarillo anaranjado. Moderadamente soluble en acetato de etilo.

Intervalo de fusión <260> - Entre 197 y 201 °C.

Iminodibencilo - $C_{14}H_{13}N$ - (PM: 195,3) - 10,11-Dihidrodibenz[*b,f*]azepina - Polvo cristalino, amarillo pálido. Fácilmente soluble en acetona; prácticamente insoluble en agua.

Punto de fusión - Aproximadamente 106 °C.

Indeno - C_9H_8 - (PM: 116,2) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 10 m × 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de metilsilicona. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 200 y 300°C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 100 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 250 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de indeno no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,5749 y 1,5769, a 20 °C.

Índigo carmín - (*Indigotindisulfonato sódico*) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Inositol - (*Hexahidroxiciclohexano*) - $C_6H_6(OH)_6$ - (PM: 180,2) - Cristales blancos o polvo blanco, cristalino, inodoro y estable al aire. Sus soluciones son neutras al papel de tornasol. Ópticamente inactivo. Fácilmente soluble en agua; poco soluble en alcohol; insoluble en éter y clorofórmico. Almacenar en envases bien cerrados.

Intervalo de fusión <260> - Entre 223 y 226 °C.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 4 horas: no pierde más de 0,5 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,1 %.

Iodato de potasio - KIO_3 - (PM: 214,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Iodo - I - (PA: 126,90) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

5-Iodouracilo - $C_4H_3IN_2O_2$ - (PM: 238,0).

Punto de fusión <260> - Aprox. 276 °C, con descomposición.

Cromatografía - Analizar según se indica en *Sustancias relacionadas* para *Idoxiuridina* empleando 5 μl de una solución de 5-iodouracilo de 0,25 mg por ml. El cromatograma sólo presenta una mancha principal.

Ioduro de 1-etilquinaldino - $C_{12}H_{14}IN$ - (PM: 299,2) - Sólido verde amarillo. Moderadamente soluble en agua.

Valoración - Disolver aproximadamente 290 mg, exactamente pesados, en 100 ml de agua y agregar 10 ml de ácido acético glacial. Titular con nitrato de plata 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente, empleando un electrodo selectivo para iones plata y un electrodo de referencia de calomel que contiene nitrato de potasio 1 M. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 29,92 mg de $C_{12}H_{14}IN$. Contiene no menos de 97,0 %.

Ioduro de mercurio II - (*Diioduro de mercurio*) - HgI_2 - (PM: 454,4) - Polvo cristalino, denso, rojo escarlata. Poco soluble en agua; soluble en acetona, alcohol, éter y solución de ioduro de potasio en exceso. Almacenar en envase inactivo.

Ioduro de metilo - CH_3I - (PM: 141,9) - Líquido incoloro, pesado, transparente. Poco soluble en agua. Miscible con alcohol, éter y éter de petróleo. Se torna pardo por exposición a la luz como resultado de la liberación de iodo.

Valoración - Agregar 1 ml a un matraz aforado de 100 ml previamente pesado con 10 ml de alcohol. Pesar nuevamente, completar a volumen con alcohol y mezclar. Transferir 20 ml a un erlenmeyer con tapón de vidrio y agregar 50,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV) y 2 ml de ácido nítrico. Tapar inmediatamente, agitar con frecuencia durante 2 horas y dejar reposar en la oscuridad de la noche a la mañana. Agitar nuevamente durante 2 horas luego agregar 50 ml de agua y 3 ml de sulfato férrico amónico y titular el nitrato de plata en exceso con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 14,19 mg de CH_3I . Contiene no menos de 98,5 %.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Destilar 50 ml en un recipiente enfriado, parcialmente tapado: no destila menos de 48 ml entre 41,5 y 43 °C.

Densidad - Entre 2,270 y 2,285.

Residuo de evaporación - Evaporar 4 ml (10 g) en un baño de vapor y secar el residuo a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 1 mg (0,01 %).

Acidez - Agitar 3 ml con 5 ml de agua durante 30 segundos y de inmediato extraer la fase inferior: la fase acuosa es neutra frente al tornasol y cuando se agrega 1 ml de nitrato de plata (SR), no presenta más que una leve opalescencia.

Ioduro de potasio - KI - (PM: 166,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ioduro de tetrabutilamonio - $(C_4H_9)_4NI$ - (PM: 369,4) - Escamas blancas, brillosas, cristalinas. Soluble en alcohol y éter; poco soluble en agua.

Valoración - Disolver 200 mg, exactamente pesados, en 40 ml de agua hirviendo, con agitación vigorosa y enfriar a temperatura ambiente. Agitar la solución mecánicamente, agregar 5 ml de ácido nítrico 2 N. Titular con nitrato de plata 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente, empleando un electrodo de plata y vidrio y agregando la solución titulante en porciones de 0,1 ml cerca del punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 36,94 mg de $(C_4H_9)_4NI$. Contiene no menos de 99,0 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 146 y 147 °C.

Ioduro isopropílico - (*2-Iodopropano*) - C_3H_7I - (PM: 170,0) - Líquido incoloro, se descolora con exposición al aire y a la luz. Moderadamente soluble en agua; miscible con alcohol, cloroformo y éter.

Densidad - Entre 1,696 y 1,704.

Índice de refracción - Entre 1,4987 y 1,4997 a 20°C.

4-Isobutilacetofenona - $C_{12}H_{16}O$ - (PM: 176,0) - Líquido amarillo pálido. Soluble en cloroformo, glicerol, alcoholes, éter y aceites grasos; insoluble en agua. Emplear uno de grado apropiado.

N-Isobutilpiperidona - $C_9H_{17}NO$ - (PM: 155,2) - Emplear uno de grado apropiado.

Isooctano - Ver 2,2,4-Trimetilpentano.

Isopropilamina - (*2-Aminopropano*) - $C_3H_7NH_2$ - (PM: 59,1) - Líquido transparente, incoloro, inflamable con un olor fuerte a amoníaco. Miscible con agua, alcohol y éter.

Valoración - Transferir aproximadamente 200 mg, exactamente pesados, a un envase apropiado, agregar 50 ml de agua y mezclar. Titular con ácido clorhídrico 0,1 N (SV), empleando una mezcla de verde de bromocresol (SR) y rojo de metilo (SR) (5:1) como indicador. Cada mililitro de ácido clorhídrico 0,1 N equivale a 59,11 mg de C_3H_9N . Contiene no menos de 98 %.

Intervalo de ebullición (Ensayo para Reactivos) - No menos de 95 % destila entre 31 y 33 °C.

Índice de refracción - Entre 1,3743 y 1,3753, a 20 °C.

L

Lactato de calcio - (PM: 308,3) - $(\text{CH}_3\text{CHOHCOO})_2\text{Ca} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - Gránulos o polvo blanco, casi inodoro. Es algo eflorescente y a 120 °C se convierte en anhidro. Soluble en agua; prácticamente insoluble en alcohol. Almacenarlo en envases de cierre perfecto.

Valoración - Pesar exactamente 500 mg, previamente secados a 120 °C durante 4 horas, transferir a un envase apropiado y disolver con 150 ml de agua que contiene 2 ml de ácido clorhídrico diluido. Agregar 15 ml de hidróxido de sodio (SR) y 300 mg de azul de hidroxinaftol y titular con edetato disódico 0,05 M (SV) hasta que la solución tenga color azul profundo. Cada mililitro de edetato disódico 0,05 M equivale a 10,91 mg de $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{CaO}_6$. Contiene no menos de 98 %.

Pérdida por secado <680> - Secar a 120 °C durante 4 horas: pierde entre 25,0 y 30,0 % de su peso.

Acidez - Agregar fenolftaleína (SR) a 20 ml de una solución (1 en 20) y titular con hidróxido de sodio 0,10 N: no se requiere más de 0,50 ml para producir un color rosado.

Metales Pesados (Ensayo para reactivos) - Disolver 1 g en 2,5 ml de ácido clorhídrico diluido, diluir con agua a 40 ml y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): cualquier color pardo producido no es más oscuro que el de un control que contiene 0,02 mg de Pb (0,002 %).

Magnesio y sales alcalinas - Mezclar 1 g con 40 ml de agua, agregar cuidadosamente 5 ml de ácido clorhídrico calentar a ebullición la solución durante 1 minuto y agregar rápidamente 40 ml de ácido oxálico (SR). Agregar de inmediato a la mezcla caliente 2 gotas de rojo de metilo (SR) luego agregar amoníaco (SR) gota a gota, desde una bureta, hasta que la mezcla sea alcalina. Enfriar a temperatura ambiente, transferir a una probeta de 100 ml, diluir con agua a 100 ml, mezclar y dejar reposar durante 4 horas o durante toda la noche. Filtrar y transferir a un crisol de platino 50 ml del filtrado transparente, al cual se ha agregado 0,5 ml de ácido sulfúrico. Evaporar la mezcla en un baño de vapor a un volumen pequeño. Cuidadosamente calentar sobre una llama directa hasta sequedad y continuar calentando hasta descomposición completa y volatilización de las sales de amonio. Finalmente incinerar el residuo a 800 ± 25 °C durante 15 minutos: el residuo no pesa más de 5 mg (1 %).

Ácidos grasos volátiles - Agitar aproximadamente 500 mg con 1 ml de ácido sulfúrico y calentar: la mezcla no emite olor de ácidos grasos volátiles.

Lactosa - $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ - (PM: 342,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

α -Lactosa monohidrato - $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} \cdot \text{H}_2\text{O}$ - (PM: 360,3) - Polvo blanco. El contenido de β -lactosa no debe ser mayor a 3 %.

Valoración - Inyectar una alícuota derivatizada y apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 250 y 280 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se debe mantener a 230 °C y se debe programar un ascenso de 4 °C por minuto hasta 280 °C. Se debe emplear helio como gas transportador. La respuesta del pico $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} \cdot \text{H}_2\text{O}$ no debe ser menor de 97 % de la respuesta total.

β -Lactosa - $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ - (PM: 342,3) - Polvo blanco a amarillo tenue. El contenido de α -lactosa no debe ser mayor a 35 %.

Valoración - Inyectar una alícuota derivatizada y apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de fase estacionaria constituida por 94 % de dimetilpolisiloxano y 6 % de cianopropilfenil polisiloxano (los porcentajes se refieren a la sustitución molar). Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 250 °C. La temperatura de la columna se debe mantener a 20 °C y se debe programar un ascenso de 8 °C por minuto hasta 280 °C. Se debe emplear helio como gas transportador. La respuesta del pico $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ no debe ser menor de 99 % de la respuesta total.

Lana de vidrio - Finos hilos de vidrio.

Sustancias solubles en ácidos - Calentar a ebullición 1 g durante 30 minutos con 30 ml de ácido clorhídrico diluido y filtrar. Evaporar el filtrado y secar el residuo a 105 °C hasta peso constante: el residuo no pesa más de 5 mg (0,5 %).

Metales pesados - Calentar a ebullición 2 g con una mezcla de 25 ml de ácido nítrico diluido y 25 ml de agua durante 5 minutos y filtrar. Evaporar la mitad del filtrado hasta sequedad, disolver el residuo en 10 ml de agua a la cual se le han agregado 3 gotas de ácido clorhídrico, filtrar si fuera necesario y agregar un volumen igual de sulfuro de

hidrógeno (SR) al filtrado: no se produce oscurecimiento.

Lauril sulfato de sodio - Ver Dodecil sulfato de sodio.

Limoneno - (*D-Limoneno*;
(R)-4-Isopropenil-1-metilciclohex-1-eno;
(+)-p-menta-1,8-dieno) - $C_{10}H_{16}$ - (PM: 136,2) - Líquido incoloro; soluble en alcohol, prácticamente insoluble en agua.

Densidad relativa <160> - Aprox. 0,84.

Índice de refracción <230> - Entre 1,471 y 1,474.

Rotación específica <170> - Entre +96° y +106°.

Punto de ebullición <240> - Entre 175 y 177 °C.

Para uso en cromatografía de gases, debe cumplir con el siguiente ensayo.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 60 m × 0,25 mm recubierta con una capa de fase estacionaria constituida por

goma de polietilenglicol 20.000. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 220 °C. La temperatura de la columna se debe mantener a 60 °C durante 10 minutos, se programa un ascenso de 2 °C por minuto hasta 180 °C, y mantener a esta temperatura durante 5 minutos. Se emplea helio como gas transportador, el caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto. La respuesta del pico principal no debe ser menor de 99,0 % de la suma de las respuestas de todos los picos.

L-Lisina - (*Ácido 2,6-diaminohexanoico*) - (PM: 146,2) - $C_6H_{14}N_2O_2$ - Agujas cristalinas o placas hexagonales. Soluble en agua; poco soluble en alcohol; insoluble en éter.

Rotación específica <170> - Entre +25,5° y +26,0°, determinado en ácido clorhídrico diluido (1 en 2).

Determinación de nitrógeno <200> - *Método I*. Contiene entre 18,88 y 19,44 % de N que corresponde a no menos de 98,5 % de $C_6H_{14}N_2O_2$, habiendo secado la muestra previamente a 105 °C durante 2 horas.

M

Magnesio - Mg - (PA: 24,31) - Metal plateado en forma de cinta. Reacciona lentamente con agua a temperatura ambiente. Se disuelve fácilmente en ácidos diluidos con liberación de hidrógeno.

Valoración - Transferir 1 g, exactamente pesado, a un matraz aforado de 250 ml y disolver en una mezcla de 15 ml de ácido clorhídrico y 85 ml de agua. Cuando se completa la disolución, diluir a volumen con agua y mezclar. Transferir 25 ml de la dilución a un vaso de precipitados de 400 ml, diluir con agua a 250 ml, agregar 20 ml de solución reguladora de amoníaco-cloruro de amonio (SR) y unos mg de negro de eriocromo T triturado y titular con edetato disódico 0,1 M (SV) hasta punto final azul. Cada mililitro de edetato disódico 0,1 M (SV) equivale a 2,430 mg de Mg. Contiene no menos de 99 %.

Magnesio, óxido de - MgO - (PM: 40,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Maleato de bis(2-etilhexilo) - $C_{20}H_{36}O_4$ - (PM: 340,5) - Líquido transparente incoloro a amarillo pálido. Miscible con acetona y alcohol. Densidad relativa: aproximadamente 0,945.

Valoración - Transferir aproximadamente 2,5 g, exactamente pesados, a un erlenmeyer de 250 ml, agregar 50,0 ml de hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N (SV) y calentar a reflujo durante 45 minutos. Enfriar, agregar 0,5 ml de fenoltaleína (SR) y titular el álcali en exceso con ácido clorhídrico 0,5 N (SV). Realizar una determinación con un blanco al mismo tiempo, empleando la misma cantidad de hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N (ver *Titulaciones residuales* en 780. *Volumetría*). La diferencia, en ml, entre los volúmenes de ácido clorhídrico 0,5 N consumidos en la titulación de la muestra y la titulación del blanco, multiplicada por 85,1, representa la cantidad, en mg, de maleato de bis(2-etilhexilo) en la porción tomada. Contiene no menos de 97 %.

Manganeso - Mn - (PA: 54,94) - Emplear uno de grado apropiado.

Manitol - Emplear *Manitol*.

Melamina - (1,3,5-Triazina-2,4,6-triamina) - $C_6H_6N_6$ - (PM: 126,1) - Polvo blanco amorfo. Muy soluble en agua y alcohol.

Menadiona - Emplear *Menadiona*.

Mentol -
((1 α ,2 β ,5 α)-5-Metil-2-(1-metiletil)-ciclohexanol) - $C_{10}H_{20}O$ - (PM: 156,3) - Cristales o gránulos.

Muy soluble en alcohol, cloroformo, éter y éter de petróleo; fácilmente soluble en ácido acético glacial y parafina líquida; moderadamente soluble en agua.

Intervalo de fusión <260> - Entre 41 y 43 °C.

Rotación óptica <170> - Aprox. - 50°, determinado sobre una solución de 100 mg por ml en alcohol.

Mercaptopurina - $C_5H_4N_4S \cdot H_2O$ - (PM: 170,2) - 7H-purina-6-tiol - Emplear un reactivo analítico apropiado de una pureza no menor de 98 %.

Mercurio - Hg - (PA: 200,59) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Metabisulfito de sodio - $Na_2S_2O_5$ - (PM: 190,1) - Emplear *Metabisulfito de sodio*.

Metaborato de litio - $LiBO_2$ - (PM: 49,8) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Metacresol - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Metacrilato de metilo - Emplear uno de grado apropiado.

Metanol - (*Alcohol metílico*) - CH_3OH - (PM: 32,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Metanol anhidro - Ver Metanol.

Metanol para cromatografía de líquidos - Debe contener no menos de 99,8 por ciento de CH_4O (PM: 32,0).

Absorbancia - La absorbancia a 225 nm empleando agua como blanco, no debe ser mayor a 0,17.

Metanol para espectrofotometría - Emplear Metanol apropiado para uso en espectrofotometría ultravioleta.

Metaperiodato de sodio - $NaIO_4$ - (PM: 213,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Metilamina al 40 % en agua - CH_5N - (PM: 31,1) - Líquido incoloro.

Valoración - Empleando una jeringa, transferir aproximadamente 0,5 ml de una muestra bien agitada a 100 ml de agua en un punto debajo de la superficie del agua. Determinar el peso de la muestra pesando la jeringa antes y después de la transferencia. Mezclar y titular con ácido clorhídrico 0,5 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente, empleando un electrodo de plata-cloruro de plata y un electrodo de referencia de calomel.

Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido clorhídrico 0,5 N equivale a 15,53 mg de CH₃N. Contiene entre 39,0 y 41,0 %.

Índice de refracción - Entre 1,3680 y 1,3710, a 20 °C.

Metilbenzotiazolona-hidrazona, clorhidrato de - (*Clorhidrato de 3-metilbenzotiazol-2(3H)-ona hidrazona, monohidrato*) - C₈H₁₀ClN₃S · H₂O - (PM: 233,7) - Polvo blanco cristalino o amarillento.

Punto de fusión - Aprox. 207 °C.

Ensayo de validez para la determinación de aldehídos - A 2 ml de metanol libre de aldehído agregar 60 µl de una solución de 1 mg de propionaldehído por ml de metanol libre de aldehído y 5 ml de una solución de 4 mg de clorhidrato de metilbenzotiazolona-hidrazona por ml. Mezclar y dejar en reposo durante 30 minutos. Preparar una solución blanco sin propionaldehído. Agregar 25 ml de una solución de 2 mg de cloruro férrico por ml a la solución muestra y a la solución blanco y diluir a 100 ml con acetona. La absorbancia a 660 nm empleando la solución blanco no debe ser menor a 0,62.

Metilcloroformo - (*1,1,1-Tricloroetano*) - (PM: 133,4) - CH₃CCl₃ - Líquido incoloro, pesado. Insoluble en agua pero algo higroscópico. Miscible con alcohol, éter y cloroformo.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Destilar 100 ml: la diferencia entre las temperaturas observadas cuando se destilan 1 y 95 ml no excede 16 °C. Su temperatura de ebullición a una presión de 760 mm Hg es aproximadamente 74 °C.

Densidad relativa <160> - Entre 1,312 y 1,321.

Acidez - Agregar 25 ml a 25 ml de alcohol neutralizado, frente al azul de bromotimol (SR), con hidróxido de sodio 0,02 N. Mezclar suavemente y titular con hidróxido de sodio 0,020 N (SV): no se requiere más de 0,50 ml para restaurar el color azul (0,001 % como HCl).

Residuo de evaporación - Evaporar 76 ml en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 1 mg (aproximadamente 0,001 %).

Metilbisacrilamida - (*N,N-metilendipropenamida*) - C₇H₁₀N₂O₂ - (PM: 154,2) - Polvo fino y casi blanco. Poco soluble en agua; soluble en alcohol.

Punto de fusión - Funde con descomposición por encima de los 300 °C.

3-O-Metilestrona - C₁₉H₂₄O₂ - (PM: 284,4) - Emplear uno de grado apropiado.

Metil etil cetona - (*2-Butanona*) - CH₃COC₂H₅ - (PM: 72,1) - Líquido incoloro, de olor similar a la acetona. Soluble en agua. Miscible con alcohol y éter.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 79,0 y 81,0 °C.

Densidad relativa <160> - Entre 0,801 y 0,803.

Residuo de evaporación - Evaporar 50 ml en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 1,0 mg (0,0025 %).

Acidez - Agregar 25 ml a 10 ml de alcohol al 80 %, previamente neutralizado a la fenoltaleína (SR) con hidróxido de sodio 0,02 N. Titular con hidróxido de sodio 0,020 N (SV) hasta la aparición de un color rosado que persiste no menos de 15 segundos: no se requieren más de 0,50 ml (0,003 % como CH₃COOH).

Solubilidad en agua - Agregar 5 ml a 40 ml de agua y dejar reposar durante 20 minutos: la solución permanece transparente.

Metil isobutil cetona - Ver 4-Metil-2-pentanona.

N-Metil-N-nitroso-p-toluensulfonamida - (*p-Tolilsulfonilmetilnitrosamina*) - C₈H₁₀N₂O₃S - (PM: 214,2) - Polvo o cristales amarillo claro. Insoluble en agua; soluble en tetracloruro de carbono y cloroformo.

Intervalo de fusión <260> - Entre 59 y 63 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 2 °C.

2-Metil-5-nitroimidazol - C₄H₅N₃O₂ - (PM: 127,1) - Polvo blanco a amarillo pálido.

Intervalo de fusión - Entre 252 y 254 °C.

Metilparabeno - (*Ester del ácido metil p-hidroxibenzoico*) - C₈H₈O₃ - (PM: 152,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

3-Metil-2-pentanona - C₆H₁₂O - (PM: 100,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

4-Metil-2-pentanona - (*Isobutil Metil Cetona*) - (CH₃)₂CHCH₂COCH₃ - (PM: 100,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

2-Metil-2-propanol - Ver Alcohol terbutílico.

2-Metil-2-propil-1,3-propanodiol - C₇H₁₆O₂ - (PM: 132,2) - Cristales blancos, que funden aproximadamente a 58 °C.

Metilsulfóxido - (*Dimetilsulfóxido*) - (CH₃)₂SO - (PM: 78,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

p-Metoxibenzaldehído - Ver Anisalaldehído.

Metóxido de sodio - CH₃ONa - (PM: 54,0) - Polvo blanco fino. Reacciona violentamente con

agua con desprendimiento de calor. Soluble en alcohol y metanol.

Valoración - Transferir aproximadamente 220 mg a un erlenmeyer previamente pesado, con tapón de vidrio y pesar exactamente. Disolver la muestra en aproximadamente 10 ml de metanol, luego agregar 100 ml de agua lentamente, con agitación. Agregar fenoltaleína (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,1 N (SV) hasta punto final incoloro. Cada mililitro de ácido clorhídrico 0,1 N (SV) equivale a 5,402 mg de CH₃ONa. Contiene no menos de 98,0 %.

Metoxietanol - (*Etilenglicol monometil éter; 2-Metoxietanol*) - CH₃OCH₂CH₂OH - (PM: 76,1) - Líquido transparente, incoloro a ligeramente amarillo. Miscible con agua, acetona, alcohol, éter, dimetilformamida y glicerina. Índice de refracción: aproximadamente 1,420. *Precaución* - *Es venenoso; emplear con ventilación apropiada.*

Densidad relativa <160> - Entre 0,960 y 0,964.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Destilar 100 ml: 95 % destila entre 123 y 126 °C.

Acidez - A 62 ml (60 g) agregar fenoltaleína (SR) y titular con hidróxido de potasio alcohólico 0,1 N: no se requiere más de 1 ml para producir un punto final rosado que persiste no menos de 15 segundos (0,01 % como CH₃COOH).

Ensayo de dilución - Medir 10 ml en una probeta de 100 ml con tapón de vidrio. Diluir con agua a 100 ml, insertar el tapón y mezclar: no se observa opalescencia o turbidez después de que la mezcla se ha dejado reposar a temperatura ambiente durante 2 horas.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa.* No más de 0,05 %.

3-Metoxi-L-tirosina - C₁₀H₁₃NO₄H₂O - (PM: 229,2) - Polvo amarillo o blanco.

Miristato de isopropilo - C₁₇H₃₄O₂ - (PM: 270,5) - Emplear *Miristato de isopropilo*. Para emplear como solvente en los procedimientos de ensayo para esterilidad, el miristato de isopropilo se ajusta a la siguiente especificación adicional:

pH del extracto acuoso - Transferir 100 ml a un tubo de centrifuga de 250 ml, agregar 10 ml de agua, cerrar el tubo con un cierre apropiado y agitar vigorosamente durante 60 minutos. Centrifugar la mezcla a 1.800 rpm durante 20 minutos, aspirar la fase superior (miristato de isopropilo) y determinar el pH de la fase acuosa: el pH no es menor de 6,5.

Si el miristato de isopropilo no se ajusta al ensayo de *pH del extracto acuoso* se puede adecuar para emplearse en procedimientos de ensayo de esterilidad del siguiente modo:

Empleando una columna de vidrio de 20 cm × 20 mm, agregar alúmina activada y apiso-

narla hasta una altura de 15 cm. Pasar 500 ml del miristato de isopropilo a través de la columna, emplear una leve presión positiva para mantener un caudal constante y emplear el eluato recolectado directamente en el procedimiento de ensayo de esterilidad.

Miristicina - (*5-Alil-1-metoxi-2,3-metilendioxi-benceno*) - C₁₁H₁₂O₃ - (PM: 192,2) - Líquido oleoso, incoloro, prácticamente insoluble en agua; poco soluble en etanol; soluble en éter; miscible en tolueno y xileno.

Densidad relativa <160> - Aproximadamente 1,144, a 20 °C.

Índice de refracción <230> - Aproximadamente 1,540, a 20 °C.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 276 y 277 °C.

Molibdato de sodio - Na₂MoO₄ · 2H₂O - (PM: 242,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Molibdato de amonio - (NH₄)₆Mo₇O₂₄ · 4H₂O - (PM: 1.235,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Monocloruro de iodo - ICl - (PM: 162,4) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Monoetanolamina - C₂H₇NO - (PM: 61,1) - Líquido transparente, incoloro a débilmente amarillo, viscoso, con olor amoniacal. Miscible con agua, metanol y acetona. Funde aproximadamente a 9 °C.

Valoración - Pesar exactamente un pesafiltro con tapón de vidrio que contiene 25 ml de agua. Agregar aproximadamente 2 g de muestra, tapar, y nuevamente pesar con exactitud. Agregar 3 gotas de una mezcla indicadora preparada agregando 5 volúmenes de verde de bromocresol (SR) a 6 volúmenes de rojo de metilo (SR) (preparada a partir de clorhidrato de rojo de metilo) y titular con ácido clorhídrico 1 N (SV). Cada mililitro de ácido clorhídrico 1 N (SV) equivale a 61,08 mg de C₂H₇NO. Contiene no menos de 99 %.

Índice de refracción <230> - Entre 1,453 y 1,455, a 20 °C.

Residuo de ignición <270> - Evaporar 20 g en un baño de vapor hasta sequedad y calcinar el residuo a 800 ± 25 °C durante 15 minutos: el residuo no pesa más de 1 mg (0,005 %).

Monóxido de plomo - (*Litargirio*) - PbO - (PM: 223,2) - Polvo amarillo pesado, amarillento o rojizo. Insoluble en agua y alcohol; soluble en ácido acético, ácido nítrico diluido y en soluciones calientes de hidróxidos alcalinos fijos.

Valoración - Pesar exactamente 300 mg, someter a ignición rápidamente en una mufla a

600 ± 50 °C y disolver mediante calentamiento con 10 ml de agua y 1 ml de ácido acético glacial. Diluir con 75 ml de agua, calentar a ebullición, agregar 50,0 ml de dicromato de potasio 0,1 N (SV) y calentar a ebullición durante 2 a 3 minutos. Enfriar, transferir a un matraz aforado de 200 ml con la ayuda de agua, completar a volumen con agua, mezclar y dejar sedimentar. Retirar 100,0 ml del líquido transparente, y transferir a un erlenmeyer con tapón de vidrio. Agregar 10 ml de ácido sulfúrico diluido y 1 g de ioduro de potasio, insertar el tapón, mezclar suavemente y dejar reposar durante 10 minutos. Titular el iodo liberado, que representa el exceso de dicromato, con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Cada mililitro de dicromato de potasio 0,1 N equivale a 7,440 mg de PbO. Contiene no menos de 98 %.

Insolubilidad en ácido acético - Disolver 2 g en 30 ml de ácido acético glacial diluido (1 en 2), calentar a ebullición suavemente durante 5 minutos, filtrar, lavar el residuo con ácido acético diluido y secar a 105 °C durante 2 horas: el residuo no pesa más de 10 mg (0,5 %).

Sustancias no precipitadas por sulfuro de hidrógeno - Precipitar completamente el plomo del

filtrado obtenido en el ensayo de *Insolubilidad en ácido acético* pasando sulfuro de hidrógeno a través del filtrado, filtrar y lavar el precipitado con 20 ml de agua. A la mitad del filtrado y lavados mezclados agregar 5 gotas de ácido sulfúrico, evaporar hasta sequedad y someter a ignición a 800 ± 25 °C durante 15 minutos: el residuo no pesa más de 5 mg (0,5 %).

Sustancias volátiles - Pesar exactamente 5 g y calentar fuertemente en un crisol de porcelana cubierto: no pierde más de 2,0 % de su peso.

Morfolina - (*Tetrahydro-1,4-oxazina*) - C₄H₉NO - (PM: 87,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Mucilago de almidón - Triturar 0,5 g de almidón o almidón soluble en 5 ml de agua y agregar con agitación continua a suficiente agua para producir aproximadamente 100 ml. Someter a ebullición durante algunos minutos, enfriar y filtrar. Preparar en el momento de su uso.

Produce coloración azul con iodo libre en presencia de ioduro soluble.

N

Naftaleno - $C_{10}H_8$ - (PM: 128,2) - Placas prismáticas monoclinicas o escamas blancas o polvo. Una solución en éter de petróleo presenta una fluorescencia púrpura bajo la luz de una lámpara de arco de mercurio. Insoluble en agua; muy soluble en éter y en aceites fijos y volátiles; fácilmente soluble en benceno, disulfuro de carbono, tetracloruro de carbono, cloroformo, aceite de oliva y tolueno; soluble en alcohol y metanol. Sublima a temperaturas por encima de la temperatura de fusión.

Intervalo de fusión <260> - Entre 80 y 81 °C.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 217 y 219 °C.

1,3-Naftalenodiol - (*Naftoresorcinol*) - (PM: 160,2) - $C_{10}H_6(OH)_2$ - Cristales o polvo blanco grisáceo a tostado. Fácilmente soluble en metanol; moderadamente soluble en agua, alcohol y éter.

Intervalo de fusión <260> - Entre 122 y 127 °C.

Solubilidad en metanol - Disolver 500 mg en 50 ml de metanol: la solución es transparente y completa.

2,7-Naftalenodiol - (*2,7-Dihidroxinaftaleno*) - $C_{10}H_8O_2$ - (PM: 160,2) - Sólido cristalino o polvo casi blanco a amarillo. Se disuelve en acetona.

Intervalo de fusión <260> - Entre 187 y 191 °C.

Naftilamina - (*1-Naftilamina*) - $C_{10}H_9N$ - (PM: 143,2) - Polvo cristalino blanco que toma color rosa por exposición a la luz y al aire. Poco soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol y éter. Conservar en envase inactivo.

Punto de fusión - Aproximadamente a 51 °C.

Naftiletildiamina, clorhidrato de - (*Dihidrocloruro de N-(1-naftil)etilendiamina*) - $C_{12}H_{16}Cl_2N_2$ - (PM: 259,2) - Polvo blanco o blanco amarillento; soluble en agua, poco soluble en alcohol.

1-Naftol - (*Alfanaftol*) - $C_{10}H_7OH$ - (PM: 144,2) - Cristales o polvo cristalino algo rosado o incoloro, de olor característico. Insoluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Intervalo de fusión <260> - Entre 95 y 97 °C.

Solubilidad - 1 g se disuelve en alcohol dando una solución transparente e incolora o casi incolora.

Acidez - Agitar ocasionalmente 1 g con 50 ml de agua durante 15 minutos y filtrar: el filtrado es neutro al tornasol.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,05 %.

2-Naftol - (*Betanaftol*) - $C_{10}H_7OH$ - (PM: 144,2) - Laminillas blancas o polvo cristalino con un olor débil característico. Se decolora por exposición a la luz. Poco soluble en agua; soluble en alcohol, éter, cloroformo y en soluciones de hidróxidos alcalinos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 121 y 123 °C.

Solubilidad en alcohol - Una solución de 1 g en 10 ml de alcohol es completa e incolora o prácticamente incolora.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,05 %.

Acidez - Agitar ocasionalmente 1 g con 50 ml de agua durante 15 minutos y filtrar: el filtrado es neutro al tornasol.

1-Naftol - Calentar a ebullición 100 mg con 10 ml de agua hasta disolución, enfriar y filtrar. Agregar al filtrado 0,3 ml de hidróxido de sodio 1 N y 0,3 ml de yodo 0,1 N: no se produce color violeta.

Sustancias insolubles en amoníaco (naftaleno, etc.) - Agitar 500 mg con 30 ml de amoníaco (SR): el 2-naftol se disuelve completamente y la solución presenta un color no más oscuro que un amarillo pálido.

1-Naftolbencéina - (*α-Naftolbencéina; Fenil bis(4-hidroxinaftil)metanol*) - $C_{27}H_{20}O_3$ - (PM: 392,5) - Polvo rojo pardo o cristales pardo negro, soluble en ácido acético glacial y alcohol, prácticamente insoluble en agua.

p-Naftolbencéina - $C_{27}H_{18}O_2$ - (PM: 374,4) - Polvo marrón rojizo. Emplear un reactivo de grado apropiado.

Naftol disulfonato de potasio - (*2-Naftol-6,8-dipotasio disulfonato*) - $C_{10}H_6K_2O_7S_2$ - (PM: 380,4) - Emplear uno de grado apropiado.

β-Naftoquinona-4-sulfonato sódico - $C_{10}H_5NaO_5S$ - (PM: 260,2) - Cristales o polvo cristalino amarillo a amarillo anaranjado. Soluble en agua; insoluble en alcohol.

Pérdida por secado <680> - Secar al vacío aproximadamente a 50 °C: no pierde más de 2,0 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g de muestra seca con 3 ml de ácido sulfúrico: el residuo pesa entre 265 y 280 mg (entre 26,5 y 28,0 %).

Naftoresorcinol - (*1, 3-Dihidroxoresorcinol*) - $C_{10}H_8O_2$ - (PM: 160,2) - Emplear uno de grado apropiado.

Naranja G - (*sal sódica del ácido betanaftol azobenceno disulfónico*) - (PM: 452,4) -

$C_6H_5N:NC_{10}H_4(OH)(SO_3Na)_2-2,6,8$ - Polvo de color anaranjado a rojo ladrillo o cristales de color rojo oscuro. Fácilmente soluble en agua, proporcionando una solución amarillo anaranjada; poco soluble en alcohol; insoluble en éter y cloroformo. El agregado de ácido tánico (SR) a una solución 1 en 500 no produce precipitación (*color ácido*). El agregado de ácido clorhídrico a una mezcla de 500 mg de polvo de cinc y 10 ml de una solución 1 en 500 produce decoloración. Cuando se filtra, el filtrado incoloro, por exposición al aire, no recupera su color original (*presencia de grupo azo*). Cuando se calienta, el Naranja G no produce deflagración (*distinción con colorantes nitro*). El agregado de cloruro de calcio o bario (SR) a una solución concentrada de Naranja G produce un precipitado cristalino coloreado. El agregado de ácido clorhídrico a una solución 1 en 500 no produce cambio; el agregado de hidróxido de sodio (SR) a una solución similar produce un color entre rojo amarillento y rojo profundo pero ningún precipitado. El Naranja G se disuelve en ácido sulfúrico con un color anaranjado a rojo amarillento. No se produce ningún cambio en el color al diluir esta solución con agua.

Nicotinamida adenina dinucleótido - Emplear uno de grado apropiado.

Aptitud - Cuando se emplea para el ensayo de acetaldehído, determinar si la pendiente que se obtiene del gráfico de absorbancia en función de la concentración es apropiada empleando acetaldehído reactivo, la absorbancia del blanco del reactivo no debe ser mayor de 0,01.

Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato-adenosina-5'-trifosfato, mezcla de - Emplear uno de grado apropiado.

Aptitud - Cuando se emplea en la valoración de lactulosa, determinar si la pendiente que se obtiene del gráfico de absorbancia en función de la concentración es apropiada, empleando *Lactulosa SR-FA*, la absorbancia del blanco del reactivo no debe ser mayor de 0,020. El reactivo generalmente disponible contiene 64 mg de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato y 160 mg de adenosina-5'-trifosfato por vial. La mezcla está estabilizada y posee reguladores de pH. Para uso en la valoración de lactulosa se diluye con agua a 100 ml.

Ninhidrina - (*Tricetohidrindeno monohidrato*) - $C_9H_4O_3 \cdot H_2O$ - (PM: 178,2) - Cristales blancos a blanco pardusco o polvo cristalino. Soluble en agua y alcohol; poco soluble en éter y cloroformo. Cuando se calienta por encima de 100 °C, se torna rojo. Almacenar en envase inactivo.

Intervalo de fusión <260> - Entre 240 y 245 °C, con descomposición, en un baño precalentado a 220°C.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 100 mg.

Sensibilidad - Preparar una solución de 10 mg de ácido aminoacético en 25 ml de agua. A 1 ml de esta solución agregar una solución de 50 mg de acetato de sodio en 2 ml de agua luego agregar 0,2 ml de una solución de 5 mg de ninhidrina en 1 ml de agua y calentar a ebullición la mezcla durante 1 a 2 minutos: se produce un color violeta que se vuelve intenso luego de unos pocos minutos en reposo.

Níquel - Ni - (PA: 58,69) - Emplear uno de grado apropiado.

Nitrato cérico amónico - $Ce(NO_3)_4 \cdot 2NH_4NO_3$ - (PM: 548,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de amonio - NH_4NO_3 - (PM: 80,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de bario - $Ba(NO_3)_2$ - (PM: 261,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de cadmio - $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ - (PM: 308,5) - Cristales incoloros, higroscópicos. Muy soluble en agua; soluble en alcohol.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 20 g (0,005 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,01 mg de Cl (0,001 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método II*. Disolver 12 g en 25 ml de ácido clorhídrico y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Agregar 15 ml de ácido clorhídrico y nuevamente evaporar hasta sequedad. Disolver el residuo en 100 ml de agua, filtrar y agregar 1 ml de ácido clorhídrico: el residuo pesa no más de 1,0 mg más que el residuo obtenido con un blanco (0,003 %).

Cobre - Disolver 500 mg en 10 ml de agua, agregar 10 ml de *Solución de citrato de amonio* (ver 600. *Límite de plomo*) y ajustar la reacción a pH aproximadamente 9 mediante el agregado de hidróxido de amonio 1 N (aproximadamente 30 ml). Agregar 1 ml de solución de dietilditiocarbamato de sodio (1 en 1000) y mezclar. Agregar 5 ml de alcohol amílico, agitar durante aproximadamente 1 minuto y dejar que las fases se separen: cualquier color amarillo en la fase de alcohol amílico no es más oscuro que el de un blanco al cual se ha agregado 0,01 mg de Cu (0,002%).

Hierro - Disolver 1 g en 15 ml de agua, agregar 2 ml de ácido clorhídrico y calentar a ebullición durante 2 minutos. Enfriar, agregar aproximadamente 30 mg de persulfato de amonio y 15 ml de

una solución de tiocianato de potasio en alcohol butílico (preparada disolviendo 10 g de tiocianato de potasio en 10 ml de agua, calentando la solución a aproximadamente 30 °C, diluyendo con alcohol butílico a 100 ml y agitando hasta clarificar). Agitar vigorosamente durante 30 segundos y dejar que las fases se separen: cualquier color rojo en la fase alcohólica clara no es más oscuro que el de un blanco al cual se ha agregado 0,01 mg de Fe (0,001 %).

Plomo - Disolver 1,0 g en 10 ml de agua, agregar 0,2 ml de ácido acético glacial y filtrar si fuera necesario. A 7 ml de agua, agregar 0,2 ml de ácido acético glacial y 3 ml de *Solución de plomo estándar* (ver 600. *Límite de plomo*) y mezclar para obtener un blanco. Luego agregar a cada solución 1,0 ml de solución de cromato de potasio (1 en 10) y mezclar: luego de 5 minutos, la solución muestra no es más turbia que el blanco (0,003 %).

Sustancias no precipitadas por sulfuro de hidrógeno - Disolver 2 g en 145 ml de agua, agregar 5 ml de ácido sulfúrico (1 en 10), calentar a ebullición y pasar una corriente rápida de sulfuro de hidrógeno a través de la solución a medida que ésta se enfría. Filtrar y, a 75 ml del filtrado transparente agregar 0,25 ml de ácido sulfúrico. Evaporar hasta sequedad y someter a ignición suavemente: el residuo no pesa más de 1 mg (0,1 %).

Nitrato de calcio - $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 236,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de circonilo - Ver Circonilo, nitrato de.

Nitrato de cobalto - $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 291,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de litio - LiNO_3 - (PM: 69,0) - Cristales incoloros. Emplear uno de grado apropiado cuyo rótulo declare que no contiene menos de 97,0 %.

Nitrato de magnesio - $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 256,4) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de plata - AgNO_3 - (PM: 169,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de plomo - $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ - (PM: 331,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de potasio - KNO_3 - (PM: 101,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de sodio - NaNO_3 - (PM: 85,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de tetrametilamonio - $(\text{CH}_3)_4\text{NNO}_3$ - (PM: 136,2) - Cristales blancos. Fácilmente soluble en agua.

Nitrato de torio - $\text{Th}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 552,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato férrico - $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 404,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato mercúrico - $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ - (PM: 342,6) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato mercurioso - HgNO_3 - (PM: 280,6) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de torio - $\text{Th}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 552,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrito de potasio - KNO_2 - (PM: 85,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrito de sodio - NaNO_2 - (PM: 69,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

4'-Nitroacetofenona - (*p'*-Nitroacetofenona) - $\text{C}_8\text{H}_7\text{NO}_3$ - (PM: 165,2) - Cristales amarillos.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada de la muestra en éter (aproximadamente 0,5 µl) en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de conductividad térmica y una columna de acero inoxidable 1,8 m × 4 mm con fase estacionaria constituida por aceite de dime-tilpolisiloxano al 10 % sobre un soporte constituido por tierra sílicea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra sílicea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra sílicea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 200 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 170 °C y se programa un ascenso de 3 °C por minuto hasta alcanzar 220 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de 4'-nitroacetofenona no es menor de 97 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 78 y 80 °C.

o-Nitroanilina - $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2$ - (PM: 138,1) - Cristales amarillo anaranjados. Poco soluble en agua fría; soluble en agua caliente; fácilmente soluble en alcohol y cloroformo. Forma sales solubles en agua con ácidos minerales.

Intervalo de fusión <260> - Entre 71 y 72 °C.

p-Nitroanilina - $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2$ - (PM: 138,1) - Polvo amarillo brillante, cristalino. Insoluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Intervalo de fusión <260> - Entre 146 y 148 °C.

Solubilidad - Porciones separadas de 1 g se disuelven en 30 ml de alcohol y en 40 ml de éter, respectivamente, dando soluciones transparentes o prácticamente transparentes.

Residuo de ignición (ensayo para reactivos) - No más de 0,2 %.

Nitrobenceno - $C_6H_5NO_2$ - (PM: 123,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

4-(p-Nitrobencil) piridina - $C_{12}H_{10}N_2O_2$ - (PM: 214,2) - Cristales amarillos. Soluble en acetona.

Materia insoluble - Disolver 1 g en 10 ml de acetona: la solución es transparente y completa.

Intervalo de fusión <260> - Entre 71 y 74 °C.

Nitrobanzaldehído - (2-Nitrobenzaldehído) - $C_7H_5NO_3$ - (PM: 151,1) - Agujas amarillas; fácilmente soluble en alcohol, soluble en éter, poco soluble en agua.

Punto de fusión <260> - Aprox. 42 °C.

5-Nitro-1,10-fenantrolina - $C_{12}H_7N_3O_2$ - (PM: 225,2) - Polvo blanco, inodoro. Soluble en agua.

Intervalo de fusión <260> - Entre 198 y 200 °C.

Aptitud como indicador redox - Disolver 25 mg en un volumen mínimo de ácido sulfúrico diluido, agregar 10 mg de sulfato ferroso y diluir con agua a 100 ml: la solución es color rojo profundo y presenta un máximo de absorción a 510 nm. A 1,0 ml de la solución agregar 1,0 ml de sulfato cérico 0,01 M: desaparece el color rojo.

Nitroferriicianuro de sodio - (Nitroprusiato de sodio) - $Na_2Fe(NO)(CN)_5 \cdot 2H_2O$ - (PM: 298,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrometano - CH_3NO_2 - (PM: 61,0) - Líquido aceitoso. Soluble en agua, en alcohol, en éter y en dimetilformamida. Densidad relativa: aproximadamente 1,132. Las soluciones en agua son ácidas al tornasol.

Índice de refracción <230> - Aproximadamente 1,380, a 22 °C.

Intervalo de ebullición - Entre 101 y 103 °C.

Residuo en evaporación - Inapreciable, determinado sobre 50 ml.

Nitroprusiato de sodio - (Pentosianno-nitrosilferrato (III) de disodio dihidratado) - $Na[Fe(CN)_5NO] \cdot H_2O$ - (PM: 298,0) - Polvo o cristales paros rojizos. Fácilmente soluble en agua; poco soluble en alcohol.

1-Nitroso-2-naftol - $C_{10}H_7NO_2$ - (PM: 173,2) - Polvo marrón a marrón amarillento. Insoluble en

agua; soluble en alcohol, éter, tetracloruro de carbono y ácido acético.

Valoración - Transferir aproximadamente 250 mg, previamente secados sobre gel de sílice hasta peso constante y exactamente pesados, a un erlenmeyer con tapón de vidrio y disolver en 10 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 10). Enfriar la solución en un baño de hielo, agregar ácido sulfúrico diluido (1 en 6) hasta que se forme un precipitado leve, permanente y la solución sea algo ácida. Agregar 3 g de ioduro de potasio, agitar hasta disolver, agregar 20 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 6), de inmediato insertar el tapón en el erlenmeyer y dejar reposar en la oscuridad durante 2 horas. Titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 8,66 mg de $C_{10}H_7NO_2$. Contiene no menos de 95,0 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 109 y 111 °C.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,2 %.

Nonadecano - $C_{19}H_{40}$ - (PM: 268,5) - Sólido blanco.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. Cromatografía) equipado con un detector de conductividad térmica y una columna de acero inoxidable de 1,8 m × 3 mm con una fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano al 5 % sobre un soporte constituido por tierra silíceas para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido y alcali. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 330 y 300 °C, respectivamente. La temperatura del horno se mantiene inicialmente en 190 °C y se programa un aumento gradual hasta alcanzar 250 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de nonadecano no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 31,5 y 33,5 °C.

DL-Norleucina - (Ácido DL-2-aminohexanoico) - $C_6H_{13}NO_2$ - (PM: 131,2) - Cristales brillantes. Soluble en soluciones ácidas; moderadamente soluble en agua y alcohol.

O

Octadecilsilano - Este reactivo se forma *in situ* mediante reacción del soporte de columnas con un agente silanizante apropiado, como por ej., el octadecil triclorosilano.

Octanofenona - $C_{14}H_{20}O$ - (PM: 204,3) - Líquido incoloro.

Valoración -

Fase móvil - Acetonitrilo y agua (7:3), filtrado y desgacificado.

Procedimiento - Inyectar aproximadamente 20 μ l en un cromatógrafo de líquidos apropiado (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector ultravioleta a 254 nm y una columna de 15,0 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecil silano, químicamente unido a partículas de sílice porosa o micropartículas cerámicas, de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal es de aproximadamente 2 ml por minuto. El área del pico $C_{14}H_{20}O$ no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <260> - 1,5043, a 20 °C.

1-Octanosulfonato de sodio - $C_8H_{17}NaO_3S$ - (PM: 216,3) - Emplear uno de grado apropiado.

(p-ter-Octilfenoxi)nonaetoxietanol - (*Polietilenglicol fenil nonil éter*) - $C_{34}H_{62}O_{11}$ - (PM: 646,9) - Emplear uno de grado apropiado.

(p-ter-Octilfenoxi)polietoxietanol - Emplear uno de grado apropiado.

Octil sulfato, sal sódica - $C_8H_{17}O_4SNa$ - (PM: 232,3) - Polvo blanco.

Solubilidad - 2 g se disuelven en 100 ml de agua.

Intervalo de fusión <260> - Entre 195 y 197 °C, con descomposición.

Octoxinol 9 - Ver Agente humectante no iónico.

Octoxinol 10 - (α -[4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenil]-*w*-hidroxipropil(oxietileno)) - $C_{34}H_{62}O_{11}$ - (PM: 647,0) - Líquido transparente, amarillo pálido, viscoso, miscible con acetona, agua y alcohol. Soluble en tolueno. Conservar en envase hermético.

Oleamida - (*(z)*-Octadec-9-enamida) - $C_{18}H_{35}NO$ (PM: 281,5) - Polvo o granulado blanco o amarillento. Prácticamente insoluble en agua; muy soluble en cloruro de metileno; soluble en etanol.

Punto de fusión - Aproximadamente a 80 °C.

Oleato de metilo - $C_{19}H_{36}O_2$ - (PM: 296,5) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar recubierta con una capa 1 μ m de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 230 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de $C_{19}H_{36}O_2$ no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - 1,452, a 20 °C.

Orcinol - (*5-Metilresorcinol*) - $C_7H_8O_2 \cdot H_2O$ - (PM: 142,2) - Cristales de color blanco a canela brillante.

Valoración - Transferir aproximadamente 60 mg, exactamente pesados, a un matraz aforado de 100 ml, disolver en metanol, completar a volumen con metanol y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con metanol y mezclar. Determinar la absorbancia de la solución en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 273 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando metanol como blanco. A partir de la absorbancia observada, calcular la absortividad (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*): la absortividad no es menor de 13,2, correspondiente a no menos de 98 % de $C_7H_8O_2 \cdot H_2O$.

Intervalo de fusión <260> - Entre 58 y 61 °C.

Ortofenantrolina - Ver 1,10-Fenantrolina.

Oxalato de amonio - $(NH_4)_2C_2O_4 \cdot H_2O$ - (PM: 142,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Oxalato de sodio - $Na_2C_2O_4$ - (PM: 134,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

3,3'-Oxidipropionitrilo - $O(CH_2CH_2CN)_2$ - (PM: 124,1) - Líquido transparente, incoloro a algo amarillo. Índice de refracción: aproximadamente 1,446, a 20 °C.

Intervalo de ebullición - Entre 174 y 176 °C, a 10 mm Hg.

Óxido de aluminio lavado con ácido - (*Alúmina especialmente preparada para emplear en análisis cromatográfico*) - Polvo blanco o gránulos finos prácticamente blancos. Muy higroscópico. Almacenar en envases de cierre perfecto.

pH - El pH de una pasta espesa bien mezclada de 5 g en 150 ml de agua libre de amoníaco, luego

de 10 minutos en reposo, se encuentra entre 3,5 y 4,5.

Pérdida por ignición - Pesar exactamente 1 g y calcinar, preferentemente en una mufla, entre 800 y 825 °C, hasta peso constante: no pierde más de 5,0 % de su peso.

Silice - Fundir 500 mg con 10 g de bisulfato de potasio durante 1 hora en un crisol de platino, enfriar y disolver en agua caliente: no se obtiene más que una cantidad pequeña de materia insoluble.

Aptitud para adsorción cromatográfica - Disolver 50 mg de *o*-nitroanilina en benceno para obtener 50,0 ml. Diluir 10 ml de la solución resultante con benceno a 100,0 ml y mezclar (*Solución A*).

De inmediato, pesar rápido aproximadamente 2 g ($\pm 0,005$) de muestra en un pesafiltro y transferirlo a un tubo de ensayo seco, con tapón de vidrio. Agregar 20,0 ml de *Solución A*, tapar, agitar vigorosamente durante 3 minutos y dejar sedimentar. Transferir 10 ml de la solución sobrenadante transparente a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con benceno y mezclar (*Solución B*). Determinar las absorbancias de las *Soluciones A* y *B*, a 395 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando benceno como blanco. Calcular la cantidad absorbida, en mg por g de muestra, por la fórmula siguiente:

$$[2(1 - A_B/A_A)]/P$$

en la cual, A_A y A_B son las absorbancias de las *Soluciones A* y *B*, respectivamente y P es el peso, en g, de óxido de aluminio. Cada gramo de óxido de aluminio absorbe no menos de 0,3 mg de *o*-nitroanilina.

Óxido de cinc - ZnO - (PM: 81,4) - Polvo amorfo, ligero y blanco o débilmente blanco-amarillento, sin aglomerados. Prácticamente insoluble en agua y alcohol. Se disuelve en ácidos minerales diluidos.

Óxido de deuterio - (*Agua deuterada*) - D₂O - (PM: 20,03) - Emplear uno de grado apropiado que tiene una pureza isotópica mínima de 99,8 % para el átomo de deuterio.

Óxido de holmio - Ho₂O₃ - (PM: 377,9) - Polvo amarillento. Prácticamente insoluble en agua.

Óxido de magnesio - MgO - (PM: 40,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Óxido de magnesio para cromatografía - Emplear uno de grado apropiado.

Óxido de mesitilo - C₆H₁₀O - (PM: 98,1) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*)

equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μ m de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 150 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene en 50 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 200 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico C₆H₁₀O no es menor de 98 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,443 y 1,447, a 20 °C.

Óxido de plata - Ag₂O - (PM: 231,7) - Polvo pesado negro pardusco, inodoro. Se descompone lentamente por exposición a la luz. Absorbe dióxido de carbono cuando se humedece. Prácticamente insoluble en agua; fácilmente soluble en ácido nítrico diluido y amoníaco; insoluble en alcohol. Almacenar en envases bien cerrados; no exponer a vapores de amoníaco ni a sustancias fácilmente oxidables.

Valoración - Disolver aproximadamente 500 mg, previamente secados a 120 °C durante 3 horas y exactamente pesados, en una mezcla de 20 ml de agua y 5 ml de ácido nítrico. Diluir con agua a 100 ml, agregar 2 ml de sulfato férrico amónico (SR) y titular con tiocianato de amonio 0,1 N (SV) hasta un color pardo rojizo permanente. Cada mililitro de tiocianato de amonio 0,1 N equivale a 11,59 mg de Ag₂O. No contiene menos de 99,7 % de Ag₂O.

Pérdida por secado - Secar a 120 °C durante 3 horas: no pierde más de 0,25 % de su peso.

Nitrato - A 500 mg, agregar 30 mg de carbonato de sodio y 2 ml de ácido fenoldisulfónico (SR), mezclar y calentar en un baño de vapor durante 15 minutos. Enfriar, agregar con precaución 20 ml de agua, alcalinizar con amoníaco (SR) y diluir con agua a 30 ml: ningún color que produzca la solución muestra es más intenso que el producido por un control que contenga 0,01 mg de NO₃ (0,002 %).

Sustancias insolubles en ácido nítrico - Disolver 5 g en una mezcla de 5 ml de ácido nítrico y 10 ml de agua, diluir con agua a aproximadamente 65 ml y filtrar el residuo no disuelto en un crisol filtrante previamente pesado (retener el filtrado para el ensayo de *Sustancias no precipitadas por ácido clorhídrico*). Lavar el crisol con agua hasta que el último lavado no presente opalescencia con 1 gota de ácido clorhídrico y secar a 105 °C hasta peso constante: el residuo no pesa más de 1 mg (0,02 %).

Sustancias no precipitadas por ácido clorhídrico - Diluir el filtrado obtenido en el ensayo de *Sustancias insolubles en ácido nítrico* con agua a 250 ml, calentar a ebullición y agregar, ácido

clorhídrico gota a gota, suficiente para precipitar toda la plata (aproximadamente 5 ml), evitando cualquier exceso. Enfriar, diluir con agua a 300 ml y dejar reposar durante toda la noche. Filtrar, evaporar 200 ml del filtrado en una cápsula de porcelana, previamente pesada, hasta sequedad y someter a ignición: el residuo no pesa más de 1,7 mg (0,05 %).

Alcalinidad - Calentar 2 g con 40 ml de agua en un baño de vapor durante 15 minutos, enfriar y diluir con agua a 50 ml. Filtrar, descartando los primeros 10 ml del filtrado. Agregar a 25 ml del

filtrado posterior, 2 gotas de fenolftaleína (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,02 N (SV) hasta la desaparición de cualquier color rosado: no se consume más de 0,20 ml (0,016 % como NaOH).

Óxido de trioctilfosfina - $C_{24}H_{51}PO$ - (PM: 386,6) Polvo blanco, cristalino. Insoluble en agua; soluble en solventes orgánicos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 54 y 56 °C.

Óxido mercúrico amarillo - HgO - (PM: 216,6) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

P

Paladio catalizador - Emplear uno de grado apropiado.

Palmitato de retinilo - $C_{36}H_{60}O_2$ - (PM: 524,9) - Líquido amarillo.

Valoración -

Fase móvil - Acetonitrilo y tetrahidrofurano (55:15).

Procedimiento - Inyectar aproximadamente 10 μ l en un cromatógrafo de líquidos apropiado (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector ultravioleta a 320 nm y una columna de 15 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice porosa o micropartículas cerámicas, de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal es de aproximadamente 1 ml por minuto. El área del pico de $C_{36}H_{60}O_2$ no es menor de 93 % del área total.

Pantotenato de calcio, dextrógiro - Emplear *Pantotenato de calcio*.

Papel de filtro cuantitativo - Para el Papel de bromuro mercúrico empleado para el ensayo de arsénico, emplear papel de filtro lavado con ácido, de bajo contenido de cenizas y calidad apropiada.

Papel inodoro absorbente - Ver Papel de filtro cuantitativo.

Paraformaldehído - $(CH_2O)_n$ - Polvo blanco, fino, de olor característico a formaldehído.

Valoración - Transferir aproximadamente 1 g, exactamente pesado, a un erlenmeyer de 250 ml que contiene 50,0 ml de hidróxido de sodio 1 N (SV) y mezclar agitando por rotación. De inmediato y lentamente, agregar 50 ml de peróxido de hidrógeno (SR), previamente neutralizado con azul de bromotimol, a través de un embudo. Luego de que la reacción se modera, lavar el embudo y la pared interna del erlenmeyer con agua, dejar la solución en reposo durante 30 minutos, agregar azul de bromotimol (SR) y titular el exceso de álcali con ácido sulfúrico 1 N (SV). Cada mililitro de hidróxido de sodio 1 N equivale a 30,03 mg de HCHO. Contiene no menos de 95 %.

Residuo de ignición - No más de 0,1 %.

Solubilidad en amoníaco - Disolver 5 g en 50 ml de amoníaco (SR): la solución es prácticamente transparente e incolora.

Reacción - Agitar 1 g con 20 ml de agua durante aproximadamente 1 minuto y filtrar: el filtrado es neutro al tornasol.

Penicilinasas - Ver Beta-lactamasas.

Pentacianoamino ferrato trisódico - (PM: 271,9) - $Na_3[Fe(CN)_5NH_3]$ - Polvo amarillo a marrón. Soluble en agua.

Solubilidad - Disolver 500 mg en 50 ml de agua y dejar reposar durante 1 hora: la solución es transparente y libre de materia extraña.

Sensibilidad -

Solución estándar de 1,1-dimetilhidracina - Transferir 500 ml de agua a un matraz aforado de 1 litro y agregar desde una bureta 1,27 ml de 1,1-dimetilhidracina anhidra. Completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 10 ml de esta solución en un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua. Cada mililitro de esta solución equivale a 100 μ g de 1,1-dimetilhidracina.

Solución reguladora - Transferir 4,8 g de ácido cítrico monohidratado a un matraz aforado de 1 litro, disolver en agua, agregar 14,6 g de fosfato de sodio, agitar por rotación hasta disolver y completar a volumen con agua.

Preparación muestra - Disolver 100 mg de Pentacianoamino ferrato trisódico en 100 ml de agua.

Procedimiento - A cada uno de cinco matraces aforados de 25 ml transferir 0; 0,25; 0,50; 1,0 y 1,5 ml, respectivamente, de *Solución estándar de 1,1-dimetilhidracina*. Agregar a cada matraz 15 ml de *Solución reguladora* y agitar por rotación para mezclar. Transferir a cada matraz, 2 ml de *Preparación muestra*, mezclar, completar a volumen con *Solución reguladora* y dejar en reposo durante 1 hora. Determinar las absorbancias de las soluciones resultantes, en celdas de 1 cm, a 500 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando la solución que no contenga *Solución estándar de 1,1-dimetilhidracina* como blanco. Graficar absorbancia en función de la concentración del estándar y trazar la curva que mejor ajuste. El gráfico es lineal y la absorbancia de la solución de 150 μ g no debe ser menor de 0,65.

Pentacloruro de antimonio - $SbCl_5$ - (PM: 299,0) Líquido transparente, amarillo rojizo, aceitoso, higroscópico, cáustico. Emite gases al aire húmedo y solidifica mediante absorción de una molécula de agua. Se descompone con agua. Soluble en ácido clorhídrico diluido y cloroformo. Hierve aproximadamente a 92 °C, a una presión de 30 mm Hg y tiene una densidad relativa de aproximadamente 2,34, a 25°C.

Precaución - El Pentacloruro de antimonio causa quemaduras severas y el vapor es peligroso.

Valoración - Pesar exactamente un erlenmeyer con tapón de vidrio de 125 ml, transferir de inme-

diato aproximadamente 0,3 ml de muestra y pesar nuevamente. Disolver con 20 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 5) y agregar 10 ml de solución de ioduro de potasio (1 en 10) y 1 ml de disulfuro de carbono. Titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV). El color pardo gradualmente desaparecerá de la solución y las últimas trazas de iodo libre se recogerán en el disulfuro de carbono, dando un color rosado. Cuando desaparece este color rosado se ha llegado el punto final. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 14,95 mg de SbCl_5 . Contiene no menos de 99,0 % de SbCl_5 .

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método II*. Disolver 4,3 ml (10 g) en un volumen mínimo de ácido clorhídrico, diluir con agua a 150 ml, neutralizar con hidróxido de amonio y filtrar. Agregar al filtrado 2 ml de ácido clorhídrico: la solución con 10 ml de cloruro de bario (SR) produce no más de 1,3 mg de residuo, corregido por un ensayo en blanco (0,005%).

Arsénico - Agregar 10 ml de una solución recientemente preparada de 20 g de cloruro estañoso en 30 ml de ácido clorhídrico, a 100 mg de muestra disuelta en 5 ml de ácido clorhídrico. Mezclar, transferir a un tubo de Nessler y dejar reposar durante 30 minutos. Cualquier color en la solución de la muestra no debe ser más oscuro que el de un control que contiene 0,02 mg de arsénico (As), tratado de la misma manera que la muestra, cuando se observa desde arriba sobre una superficie blanca (0,02 % de As).

Hierro <580> - Al residuo del ensayo de *Sustancias no precipitadas por sulfuro de hidrógeno* agregar 2 ml de ácido clorhídrico y 5 gotas de ácido nítrico y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Tomar el residuo en 2 ml de ácido clorhídrico y diluir con agua a 47 ml: la solución no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,001 %).

Otros metales pesados (como Pb) - Disolver el precipitado en el papel de filtro, del ensayo *Sustancias no precipitadas por sulfuro de hidrógeno*, con 75 ml de una solución que contiene 6 g de sulfuro de sodio y 4 g de hidróxido de sodio disueltos en agua y diluidos con agua a 100 ml. Recolectar el filtrado en el erlenmeyer original que contiene el resto del precipitado de sulfuro. Calentar la solución para disolver los sulfuros solubles y dejar que sedimenten los sulfuros insolubles. Filtrar, lavar con sulfuro de hidrógeno (SR) y disolver el precipitado que permanece en el papel de filtro con 10 ml de ácido clorhídrico diluido caliente. Diluir el filtrado con agua a 50 ml. Neutralizar una porción de 25 ml de esta solución con hidróxido de sodio 1 N y agregar 1 ml de ácido acético 1 N y 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR). Cualquier color pardo no debe

exceder el producido por 0,05 mg de plomo iónico en un volumen igual de solución que contiene 1 ml de ácido acético 1 N y 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR) (0,005 %).

Sustancias no precipitadas por sulfuro de hidrógeno (como SO_4) - Disolver 0,90 ml (2 g) en 5 ml de ácido clorhídrico y diluir con 95 ml de agua. Precipitar el antimonio completamente con sulfuro de hidrógeno, dejar que el precipitado sedimente y filtrar, con cuidado de no transferir gran parte del precipitado al papel de filtro. [NOTA: retener el precipitado]. A 50 ml del filtrado, agregar 0,5 ml de ácido sulfúrico, evaporar en un crisol de porcelana, previamente pesado, hasta sequedad e incinerar a 800 ± 25 °C durante 15 minutos. [NOTA: retener el residuo.] El peso del residuo de ignición no debe ser más de 0,0010 g mayor que el peso obtenido con un blanco (0,10 %).

Pentadecano - $\text{C}_{15}\text{H}_{32}$ - (PM: 212,4) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 280 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 180 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico $\text{C}_{15}\text{H}_{32}$ no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,430 y 1,434, a 20 °C.

Pentano - (*n*-Pentano) - C_5H_{12} - (PM: 72,2) - Líquido transparente, incoloro, inflamable. Poco soluble en agua. Miscible con alcohol, éter y con varios solventes orgánicos. Densidad relativa: aproximadamente 0,62.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 34 y 36 °C.

1-Pentanosulfonato de sodio - (PM: 192,2) - $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NaO}_3\text{S} \cdot \text{H}_2\text{O}$ - Sólido blanco, cristalino. Soluble en agua.

Solubilidad - 1 g disuelto en 25 ml de agua, produce una solución transparente y completa.

Agua <120> - **Titulación volumétrica directa**. No más de 2,0 %.

Pentóxido de fósforo - (*Anhidrido fosfórico*) - P_2O_5 - (PM: 141,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Pentóxido de vanadio - V_2O_5 - (PM: 181,9) - Polvo fino amarillo a amarillo anaranjado. Poco

soluble en agua; soluble en ácidos concentrados y en álcalis; insoluble en alcohol.

Valoración - Transferir aproximadamente 400 mg, exactamente pesados, a un erlenmeyer de 500 ml y agregar 150 ml de agua y 30 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 2). Calentar a ebullición la solución sobre una placa calefactora durante 5 minutos, agregar 50 ml de agua y continuar calentando a ebullición hasta obtener una solución amarilla. Transferir la placa calefactora y el erlenmeyer a una campana extractora bien ventilada y burbujear dióxido de azufre a través de la solución durante 10 minutos o hasta que la solución sea de color azul claro brillante. Lavar el tubo de salida del gas con unos ml de agua luego burbujear dióxido de carbono a través de la solución durante 30 minutos mientras se continúa calentando a ebullición la solución suavemente. Enfriar la solución a aproximadamente 80 °C y titular con permanganato de potasio 0,1 N (SV) hasta punto final anaranjado amarillo. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de permanganato de potasio 0,1 N equivale a 9,095 mg de V₂O₅. Contiene no menos de 99,5 %.

P-EPQ - Mezcla de siete compuestos, correspondientes al producto de reacción del fosfito de di-ter-butilo con tricloruro de difósforo, en su reacción con bifenilo y 2,4-bis(1,1-dimetil)fenol.

Pepsina - Emplear *Pepsina (Preparaciones de enzima)*, con una actividad de 1,0 a 1,17 unidades de Pepsina por mg. La pepsina de actividad mayor puede reducirse a esta actividad mezclándola con pepsina de actividad inferior o con lactosa.

Peptona seca - (*Peptona de carne*) - Polvo pardo a amarillo rojizo, de olor característico pero no pútrido. Soluble en agua, con formación de una solución pardo amarillenta que tiene una reacción levemente ácida; insoluble en alcohol y éter.

Compuestos nitrogenados (Ensayo para reactivos) - Determinar por el método de Kjeldahl, empleando una muestra previamente secada a 105 °C hasta peso constante: contiene entre 14,2 y 15,5 % de N, que corresponde a no menos de 89 % de proteína.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 500 mg con 1 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 25 mg (5,0 %).

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 7,0 % de su peso.

Proteína coagulable - Calentar una solución filtrada (1 en 20) a ebullición: no se forma precipitado.

Proteasas - Mezclar 5 ml de una solución filtrada (1 en 10) con 20 ml de una solución filtrada de

sulfato de cinc (preparada disolviendo 50 g de la sal en 35 ml de agua): sólo se forma un precipitado leve en forma de flóculos.

Perclorato de litio - LiClO₄ - (PM: 106,4) - Cristales pequeños, blancos. Fácilmente soluble en agua; moderadamente soluble en alcohol, acetona, éter y acetato de etilo.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 20 g disueltos en 200 ml de agua (0,005 %).

pH - Entre 6,0 y 7,5, en una solución de 10 g en 200 ml de amoníaco y agua.

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,03 mg de Cl (0,003 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método II*. Disolver 40 g en 300 ml de agua, agregar 2 ml de ácido clorhídrico y calentar la solución a ebullición. Agregar 5 ml de cloruro de bario (SR), digerir en un baño de vapor durante 2 horas y dejar reposar durante toda la noche. Si se forma precipitado, filtrar, lavar e incinerar: el residuo no pesa más de 1 mg (0,001 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 5 ppm.

Hierro - Disolver 1 g en agua y diluir con agua a 20 ml. Agregar 1 ml de solución de clorhidrato de hidroxilamina (1 en 10), 4 ml de una solución acidificada de ortofenantrolina y 1 ml de solución de acetato de sodio (1 en 10) y dejar reposar durante 1 hora: cualquier color rojo producido no es más oscuro que el de un control que contiene 0,005 mg de Fe (5ppm).

Perclorato de magnesio anhidro - Mg(ClO₄)₂ - (PM: 223,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Perclorato de plomo - Pb(ClO₄)₂ · 3H₂O - (PM: 460,2) - Cristales blancos.

Valoración - Transferir aproximadamente 1,8 g, exactamente pesados, a un envase apropiado y disolver en 50 ml de agua. Pasar la solución a través de una columna apropiada corta de intercambio catiónico, recolectando el eluato en un envase apropiado. Lavar la columna con agua hasta que el eluato sea neutro frente al papel de tornasol azul y combinar los lavados con el primer eluato. Agregar 5 gotas de fenoltaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 23,07 mg de Pb(ClO₄)₂ · 3H₂O.

Perclorato de potasio - KClO₄ - (PM: 138,6) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Perclorato de sodio - NaClO₄ · H₂O - (PM:140,5) Cristales incoloros, delicuescentes. Se

descompone aproximadamente a 150 °C. Soluble en alcohol al 95%.

Valoración - Secar aproximadamente 1,5 g en un desecador al vacío a 80 °C hasta peso constante. Pesar exactamente alrededor de 750 mg de muestra, previamente secada y pulverizada, y mezclarlos con 5 g de nitrito de sodio pulverizado en un crisol de níquel, cubrir el crisol y calentar sobre llama libre hasta que la mezcla se funde totalmente. Mantener en este estado, sin elevar la temperatura, durante 30 minutos. Dejar enfriar, agregar 20 ml de agua caliente y digerir hasta que el material fundido se disuelva. Filtrar a un matraz aforado de 200 ml, lavar minuciosamente cualquier material no disuelto con agua caliente, enfriar, completar a volumen con agua y mezclar.

Transferir 50,0 ml de la solución a un erlenmeyer con tapón de vidrio de 250 ml, agregar 25,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV), agregar lentamente 6 ml de ácido nítrico diluido (1 en 6) y calentar en un baño de vapor para expulsar los óxidos de nitrógeno. Enfriar, agregar 3 ml de nitrobenzono, agitar vigorosamente durante 1 a 2 minutos, agregar 4 ml de sulfato férrico amónico (SR) y titular el exceso de nitrato de plata con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 12,24 mg de NaClO_4 . Contiene no menos de 98,0 % de NaClO_4 .

Materia insoluble - Disolver 10 g en 50 ml de agua, calentar a ebullición y filtrar a través de un crisol previamente pesado de vidrio sinterizado. Lavar perfectamente con agua, lavando el vaso de precipitados minuciosamente. Secar a 105 °C durante 2 horas y pesar. El peso del residuo insoluble no es mayor de 1 mg (0,01 %).

Clorato y cloruro (como Cl) - Disolver 1 g en 10 ml de agua, agregar 1 ml de sulfato ferroso 0,1 N y calentar en un baño de vapor durante 15 minutos. Enfriar, diluir con agua a 50 ml y agregar 1 ml de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata (SR). Cualquier turbidez no excede la producida por 0,1 mg de cloruro (Cl) contenido en un blanco tratado en forma similar (0,01 % de Cl).

Sulfato - Disolver 1 g en 10 ml de agua y agregar 0,05 ml de ácido clorhídrico diluido y 1 ml de cloruro de bario (SR). Cualquier turbidez producida en 10 minutos no excede la producida por un blanco que contenga 0,05 mg de SO_4 (0,005 %).

Calcio - Disolver 500 mg en 10 ml de agua caliente, agregar 0,25 ml de amoníaco (SR) y 3 ml de oxalato de amonio (SR) y mantener la solución en caliente. No se produce turbidez en 5 minutos (aproximadamente 0,02 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - Disolver 1 g en 25 ml de agua. No más de 0,002 %.

Perclorato de tetraetilamonio - $(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{NClO}_4$ - (PM: 229,7) - Cristales blancos. Soluble en agua. Emplear uno de grado apropiado.

Periodato de potasio - (*Metaperiodato de potasio*) - KIO_4 - (PM: 230,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Periodato de sodio - (*Metaperiodato de sodio*) - NaIO_4 - (PM: 213,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Permanganato de potasio - KMnO_4 - (PM: 158,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Peróxido de hidrógeno al 30 % - H_2O_2 - (PM: 34,0) - Emplear *Agua oxigenada concentrada*.

Peróxido de sodio - Na_2O_2 - (PM: 78,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Persulfato de amonio - $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ - (PM: 228,2) Emplear un reactivo analítico apropiado.

Persulfato de potasio - $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ - (PM: 270,3) - Emplear peroxodisulfato de potasio grado reactivo.

2-Picolina - $\text{C}_6\text{H}_7\text{N}$ - (PM: 93,1) - Líquido incoloro a amarillento.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 2 m × 2 mm con fase estacionaria líquida constituida por un compuesto de polietilenglicol al 20 % (p.m.p aproximadamente 15.000 [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido]), sobre un soporte preparado con ladrillo refractario molido y calcinado o quemado, con una arcilla como aglutinante, por arriba de los 900 °C con lavado ácido posterior, la cual puede ser silanizada, de malla 80 a 100. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 140 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 90 °C y se programa un ascenso de 3 °C por minuto hasta 140 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico $\text{C}_6\text{H}_7\text{N}$ no es menor de 98 % del área total.

Índice de refracción - $1,500 \pm 0,002$, a 20 °C.

Pícrico, ácido - Ver *Ácido Pícrico*.

Piedra pómez - Sustancia de origen volcánico que consta principalmente de silicatos complejos de aluminio y metales alcalinos. Existe como masas muy livianas, duras, ásperas, porosas, grises o como

un polvo color gris. Es insoluble en agua y no es atacado por ácidos diluidos.

Sustancias solubles en agua y en ácidos - En un balón equipado con un refrigerante, calentar a ebullición 2,0 g de piedra pómez pulverizada con 50 ml de ácido clorhídrico diluido durante 30 minutos. Enfriar y filtrar. A la mitad del filtrado, agregar 5 gotas de ácido sulfúrico, evaporar hasta sequedad, someter a ignición y pesar: el residuo no pesa más de 60 mg (6,0 %).

Piperidina - $C_5H_{11}N$ - (PM: 85,2) - Líquido incoloro. Miscible con agua y alcohol. Densidad relativa: aproximadamente 0,860.

Temperatura de solidificación <180> - Entre 12 y 15 °C.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 104 y 106 °C.

Índice de refracción <230> - Aproximadamente 1,454.

Pireno - $C_{16}H_{10}$ - (PM: 202,3) - Cristales de color entre blanco y amarillo claro.

Valoración - Transferir aproximadamente 9 mg, exactamente pesados, a un matraz aforado de 100 ml, disolver en metanol, completar a volumen con metanol y mezclar. Transferir 2,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con metanol y mezclar. Determinar la absorbancia de la solución en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente a 238 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando metanol como blanco. Calcular la absorbancia (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*): la absorbancia no es menor de 432,9, correspondiente a no menos de 98 % de $C_{16}H_{10}$.

Intervalo de fusión <260> - Entre 149 y 153 °C, con un intervalo de fusión de 2 °C.

1-(2-Piridilazo)-2-naftol - $C_{15}H_{11}N_3O$ - (PM: 249,3) - Cristales estables, rojo anaranjado. Poco soluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones calientes de álcalis diluidos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 140 y 142 °C.

Sensibilidad - Agregar 0,1 ml de una solución (1 en 1.000) en alcohol a una mezcla de 10 ml de agua y 1 ml de una solución reguladora preparada mezclando 80 ml de ácido acético 0,2 M y 20 ml de solución de acetato de sodio (8,2 en 100) y mezclar. A esta solución agregar 1 ml de una mezcla de 1 ml de sulfato cúprico (SR) y 2 ml de agua y mezclar: el color cambia de amarillo a rojo.

Piridina - C_5H_5N - (PM: 79,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Piridina seca - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Piroantimoniato de potasio - (*Hexahidroxian-timoniato de potasio*) - $KSbO_3 \cdot 3H_2O$ - (PM: 262,9) - Cristales blancos o polvo cristalino blanco. Ligeramente soluble en agua. Emplear uno de grado apropiado.

Pirofosfato de potasio - $K_4P_2O_7$ - (PM: 330,3) - Gránulos incoloros delicuescentes. Fácilmente soluble en agua; insoluble en alcohol.

Pirofosfato de sodio - $Na_4P_2O_7$ - (PM: 265,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Pirogalol - $C_6H_3(OH)_3$ - (PM: 126,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Pirosulfato de potasio - Generalmente disponible como una mezcla de piro sulfato de potasio ($K_2S_2O_7$) y bisulfato de potasio ($KHSO_4$) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Pirrol - C_4H_5N - (PM: 67,1) - Líquido transparente, incoloro cuando está recientemente destilado, tornándose amarillo en unos pocos días. Tiene un olor característico. Densidad relativa: aproximadamente 0,94. Insoluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 90 % destila entre 128 y 132 °C.

Pirrolidinatiocarbamato de amonio - (*1-pirrolidinilditioformiato de amonio*) - $C_5H_{12}N_2S_2$ - (PM: 164,3) - Polvo cristalino blanco o amarillo pálido. Moderadamente soluble en agua; muy poco soluble en alcohol. Conservar en un envase que contenga un trozo de carbonato de amonio envuelto en una gasa.

Piruvato de sodio - CH_3COCO_2Na - (PM: 110,0) - Polvo o sólido cristalino blanco o prácticamente blanco. Soluble en agua.

Valoración - Transferir aproximadamente 300 mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados para titulación de paredes altas, agregar 150 ml de ácido acético glacial y agitar hasta disolución. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente, empleando un electrodo de vidrio y un electrodo de calomel modificado para emplear cloruro de tetrametilamonio 0,1 N en metanol como electrolito. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 11,00 mg de CH_3COCO_2Na . Contiene no menos de 98,0 %.

Solubilidad - Disolver 1,5 g en 25 ml de agua: la solución es transparente y completa.

Ácido libre - Disolver 10 g en 150 ml de agua y titular con hidróxido de sodio 0,5 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente: no se

requieren más de 2,8 ml de hidróxido de sodio 0,5 N (aproximadamente 1 % como $C_3H_4O_3$).

Poli[(cianopropil)metil]fenilmetilsiloxano - Contiene 25 por ciento de grupos cianopropilo, 25 por ciento de grupos fenilo y 50 por ciento de grupos metilo (masa molecular relativa media 8.000). Líquido muy viscoso, aprox. 9.000 mPa-s.

Densidad relativa - Aprox. 1,10 a 20 °C.

Índice de refracción <230> - Aprox. 1,502.

Polietilenglicol 400 - (p.m.p.: 400) - Mezcla de polímeros representado por $H-(OCH_2-CH_2)_n-OH$ - Líquido, límpido, viscoso, higroscópico, incoloro o casi incoloro. Miscible en agua. Muy soluble en acetona, alcohol y cloruro de metileno, prácticamente insoluble en éter, aceites grasos y aceites minerales.

Polietilenglicol 600 - (p.m.p.: 600) - Polímero de condensación líquido transparente, prácticamente incoloro, viscoso representado por $H(OCH_2CH_2)_nOH$, donde n varía de 12 a 14.

Cumple con los requisitos de todos los ensayos para *Polietilenglicol 400*, excepto *Límite de etileno y dietilenglicol*.

Polietilenglicol 4.000 - Intervalo de peso molecular: 4.345-5.272 - Polímero de condensación del óxido de etileno en agua, que corresponde a la fórmula general, $H-(OCH_2-CH_2)_nOH$, siendo n variable entre 70 y 85. Masa sólida amorfa o con forma de escamas, de aspecto céreo de color blanquecino o cremoso pálido, con una textura semejante a la de la parafina; prácticamente inodora e insípida. Soluble en 4 partes de agua destilada, en 2,5 partes de alcohol y en 2 partes de cloroformo; insoluble en éter.

Polietilenglicol 20.000 - Intervalo de peso molecular: 15.000-20.000 - Sólido duro, blanco, céreo, generalmente provisto en forma escamas. Soluble en agua con posterior formación de un gel.

Viscosidad de la solución al 25 % <190> - Agregar 50,0 g de muestra a un frasco de boca ancha de 250 ml, con tapa a rosca que contiene 150,0 g de agua. Tapar el frasco firmemente y agitar en un agitador mecánico durante 2 a 4 horas hasta que la muestra se disuelva completamente. Dejar la solución en reposo hasta que hayan desaparecido todas las burbujas de aire. Se pueden requerir entre otras 2 a 4 horas. Ajustar la temperatura de la solución a $37,8 \pm 0,1$ °C y determinar la viscosidad cinemática en un viscosímetro apropiado del tipo Ubbelohde (ver 190. *Determinación de la viscosidad*). La viscosidad no es menor de 100 centistokes.

pH <250> - Entre 6,5 y 8,0 en una solución (1 en 20). [NOTA: se puede emplear una dilución de cinco veces la solución muestra preparada para el ensayo de *Viscosidad de la solución al 25 %*.]

Residuo de ignición <270> - No más de 0,7 %, omitiendo el empleo de ácido sulfúrico.

Polioxietilen (23) lauril éter - Emplear uno de grado apropiado.

Polvo de cerebro de buey desecado con acetona - Ver cerebro de buey desecado con acetona, polvo de.

Preparación de enzima sulfatasa - Emplear uno de grado apropiado.

2-Propanol - (*Alcohol isopropílico, Isopropanol*) - C_3H_8O - (PM: 60,1) - Líquido transparente e incoloro, inflamable, miscible con agua y alcohol.

Densidad relativa - Aprox. 0,785.

Intervalo de punto de ebullición - Entre 81 y 83 °C.

Propilenglicol - Emplear *Propilenglicol*.

Protamina sulfato - Emplear *Protamina, Sulfato de*.

Purina - $C_5H_4N_4$ - (PM: 120,1) - Polvo blanco a casi blanco.

Cuando se analiza por cromatografía en capa delgada empleando placas recubiertas con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor y una fase móvil que consiste en alcohol butílico, agua y ácido cético glacial (60:25:15), presenta una sola mancha.

Intervalo de fusión <260> - Entre 214 y 217 °C.

Púrpura de m-cresol - $C_{21}H_{18}O_5S_2$ - (PM: 382,4) - Emplear un reactivo de grado apropiado.

Púrpura de ftaleína - $C_{32}H_{32}N_2O_{12} \cdot xH_2O$ - (PM: 637 sobre la sustancia anhidra) - Polvo blanco amarillento a parduzco; soluble en alcohol, prácticamente insoluble en agua.

Sensibilidad - Disolver 10 mg de púrpura de ftaleína en 1 ml de amoníaco concentrado y diluir a 100 ml con agua. A 5 ml de esta solución agregar 95 ml de agua, 4 ml de amoníaco concentrado, 50 ml de alcohol y 0,1 ml de cloruro de bario 0,1 M. La solución obtenida es azul violácea. Agregar 0,15 ml de edetato de sodio 0,1 M: la solución se decolora.

Q

Quercetina - (2-3,4-dihidroxifenil)-3,5,7-trihidroxil-4H-1-benzopirano-4-ona - $C_{15}H_{10}O_7 \cdot H_2O$ - (PM: 338,2) - Cristales amarillos o polvo amarillento. Soluble en acetona y alcohol e insoluble en agua.

Agua <120> - No más de 12,0 %, determinada en 0,100 g.

Valoración - Proceder según se indica en *Valoración en Hoja de Ginkgo*. El contenido de quercetina no debe ser menor de 90,0 %, calculado sobre la sustancia anhidra por el procedimiento de normalización.

Queroseno - Corresponde a una mezcla de hidrocarburos, principalmente de la serie del metano. Líquido transparente, incoloro, de olor característico, pero no desagradable. Destila entre 180 y 300 °C. Densidad relativa: aproximadamente 0,80.

Quinhidrona - $C_6H_4(OH)_2 \cdot C_6H_4O_2$ - (PM: 218,2) - Cristales verdes con un reflejo metálico. Poco soluble en agua fría; soluble en agua caliente, alcohol y éter.

Valoración - Transferir aproximadamente 450 mg, exactamente pesados, a un erlenmeyer con tapón de vidrio, agregar 50 ml de ácido sulfúrico 1 N y 3 g de yoduro de potasio, tapar y agitar hasta disolución. Titular el yodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 5,405 mg de quinona ($C_6H_4O_2$). Contiene entre 49,0 y 51,0 %.

Materia insoluble en alcohol - Disolver 10 g en 100 ml de alcohol caliente, filtrar a través de un crisol previamente pesado de porosidad fina y lavar con alcohol caliente hasta que el último lavado sea incoloro. Secar a 105 °C, enfriar en un desecador y pesar: el residuo no pesa más de 1,0 mg (0,010 %).

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,050 %, empleando una muestra de 2,0 g. [NOTA: retener el residuo].

Sulfato - Transferir 1 g a un crisol de platino, agregar 10 ml de agua caliente y 0,5 g de carbonato de sodio, evaporar hasta sequedad e incinerar, protegido del azufre en la llama, hasta que el residuo sea casi blanco. Enfriar, agregar 20 ml de agua y 1 ml de peróxido de hidrógeno al 30 %, calentar a ebullición suavemente durante unos pocos minutos, agregar 2 ml de ácido clorhídrico y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Enfriar, disolver el residuo en 20 ml de agua, filtrar y, al filtrado, agregar 1 ml de ácido clorhídrico 1 N y 3 ml de cloruro de bario (SR): cualquier turbidez producida dentro de los 10 minutos no es mayor a la de un control que contenga 0,2 mg de SO_4 , 0,5 mg de carbonato de sodio, 1 ml de peróxido de hidrógeno al 30 % y 2 ml de ácido clorhídrico previamente evaporado en un baño de vapor hasta sequedad (0,02 %).

Metales pesados - Al residuo retenido del ensayo para *Residuo de ignición*, agregar 2 ml de ácido clorhídrico y 0,5 ml de ácido nítrico y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Disolver el residuo en 30 ml de agua caliente con 1 ml de ácido clorhídrico 1 N, enfriar, diluir con agua a 40 ml y mezclar. Diluir 20 ml de esta solución (retener el resto de la solución) con agua a 25 ml, ajustar a pH entre 3,0 y 4,0 agregando hidróxido de amonio 6 N o ácido acético 1 N, según sea necesario, diluir con agua a 40 ml y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR) recientemente preparado: cualquier color pardo producido no es mayor al de un control que contenga a 0,02 mg de Pb (0,002 %).

Hierro <580> - A 10 ml de la solución retenida del ensayo para *Metales pesados*, agregar 2 ml de ácido clorhídrico y diluir con agua a 47 ml: la solución presenta no más de 0,01 mg de Fe (0,002 %).

Quinona - Ver *p*-Benzoquinona.

R

Reactivo de Girard T - Ver Cloruro de trimetilacetohidrazida amonio.

Reineckato de amonio - (*Sal de Reinecke*) - $\text{NH}_4[\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{SCN})_4] \cdot \text{H}_2\text{O}$ - (PM: 354,4) - Cristales rojo oscuro o polvo rojo cristalino. Moderadamente soluble en agua fría; más soluble en agua caliente. Se descompone gradualmente en solución.

Sensibilidad - Disolver 50 mg en 10 ml de agua. Agregar 0,2 ml de la solución a 1 ml de una solución preparada disolviendo 10 mg de cloruro de colina en 20 ml de agua y agitar suavemente: se forma un precipitado característico a los 5 ó 10 segundos.

Resazurina sódica - $\text{C}_{12}\text{H}_6\text{NNaO}_4$ - (PM: 251,2) - Polvo pardusco púrpura, cristalino. 1 g se disuelve en 100 ml de agua, formando una solución de color violeta profundo.

El Sulfuro de hidrógeno y otros compuestos que contienen el grupo tiol decoloran las soluciones de resazurina sódica, formando dihidroresorufina. Cuando la solución decolorada se agita en presencia de aire, se desarrolla un color rosa, resultado de la formación de resorufina.

Resina de intercambio aniónico de malla 50 a 100, estireno-divinilbenceno - Resina altamente básica, entrecruzada, que contiene grupos amonio cuaternario y aproximadamente 4 % de divinilbenceno. Consiste en cuentas de color canela que pueden tener características de libre fluidez. Está disponible en la forma de cloruro que puede convertirse a la forma de hidróxido por regeneración con una solución de hidróxido de sodio (5 en 100). Para una regeneración satisfactoria se requiere un tiempo de contacto de por lo menos 30 minutos, luego del cual debe ser lavada para eliminar el exceso de álcali libre. Insoluble en agua, metanol y acetonitrilo. Apropia para uso en cromatografía en columna.

Contenido de humedad de la resina hinchada y regenerada - Transferir 10 a 12 ml de la resina (tal como se la recibe) a un matraz y convertirla completamente a la forma de cloruro agitando con 150 ml de ácido clorhídrico (5 en 100) durante no menos de 30 minutos. Decantar el ácido y lavar la resina de la misma manera con agua destilada hasta que el agua de lavado sea neutra frente al papel de tornasol. Transferir 5 a 7 ml de la resina regenerada a un crisol de vidrio filtrante y remover sólo el agua superficial excesiva filtrando cuidadosamente por succión. Transferir la resina acondicionada y seca a un pesafiltro previamente pesado y pesar. Secar en estufa de vacío entre 100 y 105 °C y a una presión

de 50 mm Hg durante 16 horas. Transferir de la estufa de vacío a un desecador y enfriar a temperatura ambiente. Pesar nuevamente. La pérdida de peso está entre 50 y 65 %.

Capacidad total de nuevo volumen - Transferir 2,5 a 3 ml de la resina acondicionada, sin secar (ver *Contenido de humedad de la resina hinchada y regenerada*) a una probeta de 5 ml y completar a volumen con agua. Eliminar las burbujas de aire del lecho de la resina con un alambre de acero inoxidable y sedimentar la resina a su volumen mínimo golpeando suavemente la probeta contra una superficie dura. Registrar el volumen de la resina. Transferir la resina con 100 ml de agua a un matraz de 250 ml. Agregar 2 ml de ácido sulfúrico, calentar entre 70 y 80 °C y mantener esa temperatura durante 5 minutos agitando ocasionalmente (no calentar a ebullición). Enfriar a temperatura ambiente y agregar 2,5 ml de ácido nítrico (1 en 2), 2 ml de sulfato férrico amónico (SR) y 0,20 ml de tiocianato de amonio 0,1 N. Titular con nitrato de plata 0,1 N (SV) hasta que la solución se torne incolora y agregar un exceso medido (1 a 5 ml). Calentar a ebullición para coagular el precipitado de cloruro de plata. Enfriar a temperatura ambiente, agregar 10 ml de nitrobenzono, agitar vigorosamente y titular el nitrato de plata en exceso con tiocianato de amonio 0,1 N (SV).

$$\text{Vol.neto AgNO}_3 \times \text{N} / \text{ml de resina} = \text{mEq/ml}$$

La capacidad total de intercambio de la resina húmeda regenerada es mayor de 1,0 mEq por ml.

Análisis por tamizado húmedo - Se emplea para identificar apropiadamente el tamaño de la malla de la resina. Para obtener un resultado exacto se requieren aparatos y técnicas especiales. Agregar 150 ml de resina a 200 ml de agua destilada en un recipiente apropiado y dejar reposar durante no menos de 4 horas para que la resina se hinche completamente. Transferir con la ayuda de una probeta de 100 ml la resina sedimentada y completamente hinchada al tamiz más alto de una serie (N° 20, 50, 100) de bronce de 20,3 cm. Lavar a fondo la resina en cada tamiz con una corriente de agua destilada hasta que la resina se tamice completamente, recogiendo el agua del lavado en un envase apropiado. Transferir las cuentas que permanecen en los tamices respectivos a la probeta de 100 ml y registrar el volumen de resina sedimentada en cada tamiz: no menos de 80 % de la resina está entre los tamices N° 50 y 100.

Resina de intercambio aniónico fuerte, levemente entrecruzada, en la forma de cloruro - Emplear uno de grado apropiado.

Resina de intercambio aniónico, poliestireno-divinilbenceno clorometilada - Resina altamente básica, entrecruzada, que contiene grupos amonio cuaternario. Consta de pequeñas cuentas, húmedas, amarillas que tienen un olor a amina característico. Está disponible en la forma de cloruro que puede convertirse en hidróxido por regeneración con solución de hidróxido de sodio (1 en 4). Para una regeneración satisfactoria se requiere un tiempo de contacto de aproximadamente 25 minutos, luego del cual debe lavarse con agua hasta neutralidad. Es apropiada para emplearse en cromatografía en columna.

Resina de intercambio catiónico - Emplear uno de grado apropiado.

Resina de intercambio catiónico, ácido sulfónico - Emplear uno de grado apropiado.

Resina de intercambio catiónico, carboxilato (forma sódica) (N° 50 a 100) - Emplear uno de grado apropiado.

Resina de intercambio catiónico de poliestireno - Emplear uno de grado apropiado.

Resina de intercambio catiónico, estireno-divinilbenceno - Resina sulfonada altamente ácida, entrecruzada, que contiene aproximadamente 2 % de divinilbenceno. Consiste en cuentas de color blanco a tostado transparente que pueden tener, relativamente, libre fluidez. Está disponible en la forma de hidrógeno en los tamaños de malla de 25 a 50, 45 a 100 y 80 a 270. Puede regenerarse a la forma de hidrógeno mediante el tratamiento con una solución de ácido clorhídrico (5 en 100). Para una regeneración satisfactoria se requiere un tiempo de contacto de no menos de 30 minutos luego debe ser lavado el exceso libre de ácido. Es insoluble en agua, metanol y acetonitrilo. Apropiada para emplearse en cromatografía en columna.

Contenido de humedad de la resina totalmente regenerada e hinchada - Transferir 10 a 12 ml de la resina (como se recibe) a un matraz y convertirla completamente a la forma de hidrógeno agitando con 150 ml de solución de ácido clorhídrico (5 en 100) durante no menos de 30 minutos. Decantar el ácido y lavar la resina de la misma manera con agua hasta que el agua del lavado sea neutra frente al papel de tornasol (pH 3,5). Transferir 5 a 7 ml de la resina regenerada a un crisol filtrante de vidrio y remover solamente el exceso de agua superficial filtrando, cuidadosamente, por succión. Transferir la resina acondicionada a un pesafiltro, previamente

pesado, y pesar. Secar en una estufa de vacío a una presión de 50 mm Hg entre 100 y 105 °C durante 16 horas. Transferir a un desecador y enfriar a temperatura ambiente. Pesar nuevamente. La pérdida de peso es entre 75 y 83 %.

Capacidad total de volumen húmedo - Transferir 3 a 5 ml de la resina regenerada, sin secar (ver *Contenido de humedad de la resina totalmente regenerada e hinchada*) a una probeta de 5 ml y llenarla con agua. Retirar las burbujas de aire del lecho de la resina con un alambre de acero inoxidable y dejar sedimentar la resina a su volumen mínimo golpeando suavemente la probeta sobre una superficie. Registrar el volumen de la resina. Transferir la resina a un vaso de precipitados de 400 ml. Agregar aproximadamente 5 g de cloruro de sodio y titular, agitando, con hidróxido de sodio 0,1 N hasta punto final azul con azul de bromotimol (pH 7,0).

$$\text{Vol.neto NaOH} \times \text{N} / \text{ml de resina} = \text{mEq/ml}$$

La capacidad total de volumen húmedo de la resina es más de 0,6 mEq por ml.

Análisis por tamizado húmedo - Se emplea para identificar apropiadamente el tamaño de la malla de la resina. Para obtener un resultado exacto se requieren aparatos y técnicas especiales. Agregar 150 ml de resina a 200 ml de agua en un recipiente apropiado y dejar reposar por lo menos 4 horas para hinchar completamente la resina. Transferir por medio de una probeta, 100 ml del sedimento y resina completamente hinchada al tamiz superior de una serie de tamices estandarizados. Lavar a fondo la resina en cada tamiz con una corriente de agua hasta que la resina se clarifique completamente, recogiendo el agua del lavado en un envase apropiado. Transferir las cuentas que permanecen en los tamices respectivos a la probeta de 100 ml y registrar el volumen de resina que sedimentó en cada tamiz. Al menos 70 % de la resina está dentro del tamaño específico de la malla.

Resina de intercambio catiónico, estireno-divinilbenceno, fuertemente ácida - Emplear uno de grado apropiado.

Resina de intercambio iónico - Una mezcla íntima de 4 partes de un intercambiador catiónico altamente ácido en la forma de hidrógeno (producido por sulfonación de un copolímero de estireno-divinilbenceno, representando 8 a 10 % de divinilbenceno) y 6 partes de un intercambiador aniónico altamente básico en la forma hidroxilo (producido por aminación con trimetilamina de un copolímero clorometilado de estireno-divinilbenceno, representando 3 a 5 % de divinilbenceno).

Resorcinol - Emplear *Resorcinol*.

Rodamina B - (*Tetraetilrodamina*) - (PM: 479,0) - $C_{28}H_{31}ClN_2O_3$ - Cristales verdes o polvo violeta rojizo. Muy soluble en alcohol; muy soluble en agua produciendo una solución rojo azulada que es marcadamente fluorescente cuando se diluye; poco soluble en ácidos diluidos y en soluciones alcalinas; en solución de ácidos fuertes, forma un complejo rosado con antimonio que es soluble en éter isopropílico.

Transparencia de la solución - Su disolución (1 en 200) es completa y transparente.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 1 ml de ácido sulfúrico; el residuo pesa menos de 2 mg (0,2 %).

Rojo congo - $C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$ - (PM: 696,7) - Polvo pardo oscuro, rojo o rojizo. Es inodoro y se descompone por exposición a los gases ácidos. Las soluciones tienen un pH de aproximadamente 8 a 9,5. 1 g se disuelve en aproximadamente 30 ml de agua; poco soluble en alcohol.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 4 horas: no pierde más de 3,0 % de su peso.

Residuo de ignición - Pesar con exactitud aproximadamente 1 g, previamente secado a 105 °C durante 4 horas, y colocarlo en una cápsula de porcelana o crisol. Someter a ignición cuidadosamente hasta carbonizar. Enfriar, agregar 2 ml de ácido sulfúrico e incinerar cuidadosamente hasta que el residuo sea blanco o prácticamente blanco. Enfriar, agregar 0,5 ml de ácido sulfúrico y 1 ml de ácido nítrico, evaporar y nuevamente incinerar hasta peso constante: el peso del sulfato de sodio obtenido es entre 20,0 y 24,0 % de la muestra seca tomada.

Sensibilidad - A 50 ml de agua agregar 0,1 ml de solución de rojo congo (1 en 1.000). El color rojo de la solución cambia a violeta por el agregado de 0,05 ml de ácido clorhídrico 0,10 N y se restaura al agregar 0,05 ml de hidróxido de sodio 0,10 N.

Rojo de rutenio - (*Oxicloruro de rutenio amoniacal*) - $Ru_2(OH)_2Cl_4 \cdot 7NH_3 \cdot 3H_2O$ - (PM: 551,2) - Polvo rojo pardusco a púrpura oscuro. Soluble en agua.

Rosa de bengala, sal sódica - (*Sal disódica de 4,5,6,7-Tetracloro-2',4',5',7'-tetraiodofluoresceína*) - $C_{20}H_2Cl_4I_4Na_2O_5$ - (PM: 1.017,6) - Cristales finos

de color rosa o polvo cristalino. Es prácticamente inodoro. Soluble en agua.

[NOTA: purificar el material comercial mediante el siguiente tratamiento: disolver 8 g en 200 ml de agua y ajustar hasta pH entre 10 y 11, empleando papel indicador de intervalo estrecho. Agregar 200 ml de acetona, agitando ligeramente, luego agregar ácido clorhídrico diluido (1 en 10) mientras se continúa agitando, hasta alcanzar pH 4,0. Agregar 400 ml más de agua, con agitación, y continuar agitando aproximadamente 5 minutos. Filtrar los cristales en un embudo filtrante y colocarlos nuevamente en el vaso de precipitados empleado para la cristalización. Recristalizar tres veces más del mismo modo y secar los cristales a 110 °C durante 12 horas. Almacenar en un recipiente ámbar en refrigerador a una temperatura entre 2 y 8 °C. Preparar este reactivo mensualmente].

Pureza cromatográfica - Disolver 100 mg de Rosa de bengala sódico, preparado según se describe anteriormente, en 100 ml de agua y aplicar 10 µl de la solución sobre papel cromatográfico apropiado. Desarrollar el cromatograma por cromatografía ascendente, empleando una mezcla de 1 parte de alcohol diluido (1 en 4) y 1 parte de amoníaco concentrado diluido (1 en 12). Examinar el cromatograma con luz natural y bajo luz ultravioleta a 360 nm: no se observa ninguna mancha coloreada ni fluorescente con excepción de la mancha del Rosa de bengala sódico.

Rutina - (*3-(O-6-desoxi- α -L-manopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopiranosil)-2-(3,4-dihidroxifenil)-5,7-dihidroxi-4H-cromen-4-ona*) - $C_{27}H_{30}O_{16} \cdot 3H_2O$ - (PM: 665,0) - Rutósido. Polvo cristalino amarillo, que se torna pardo a la luz, soluble en 400 partes de agua a ebullición y en disoluciones de hidróxidos alcalinos y amoníaco, poco soluble en alcohol, muy poco soluble en agua y prácticamente insoluble en éter.

Punto de fusión <260> - Aprox. 210 °C, con descomposición.

Absorción ultravioleta <470> - Una solución de rutina en alcohol debe presentar dos máximos de absorción a 259 y 362 nm.

S

Sacarosa - Emplear *Sacarosa*.

Safranina O - Consiste en una mezcla de cloruro de 3,7-diamino-2,8-dimetil-5-fenilfenazinio ($C_{20}H_{19}ClN_4$ - PM: 350,9) y cloruro de 3,7-diamino-2,8-dimetil-5-o-tolilfenazinio ($C_{21}H_{21}ClN_4$ - PM: 364,9) - Polvo rojo oscuro. Moderadamente soluble en alcohol al 70 %, proporcionando una solución roja transparente con fluorescencia rojo amarillenta.

Identificación -

A - Agregar a 10 ml de una solución al 0,5 % p/v, 5 ml de ácido clorhídrico: se produce una solución violeta azulada.

B - Agregar a 10 ml de una solución al 0,5 % p/v, 5 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 5): se produce un precipitado rojo pardusco.

C - Agregar a 100 mg, 5 ml de ácido sulfúrico: se produce una solución verde. Por dilución cambia a azul y finalmente a rojo.

Características de absorción - Disolver 50 mg en 250 ml de alcohol al 50 %. Diluir 3 ml de esta solución con alcohol al 50 % hasta obtener 200 ml. Determinar la absorbancia, en una celda de 1 cm, con un espectrofotómetro apropiado. El máximo de absorción está en el intervalo entre 530 y 533 nm, el cociente $(A - 15)/(A + 15)$ está entre 1,10 y 1,32, en la cual *A* es la longitud de onda de máxima absorción.

Sal de fast blue B - $C_{14}H_{12}N_4O_2 \cdot ZnCl_4$ - (PM: 475,5) - Polvo verde.

Pérdida por secado <680> - Secar al vacío a 110°C durante 1 hora: no pierde más de 5,0 % de su peso.

Absorbancia - Disolver 50 mg en 100 ml de agua. En un segundo envase disolver 100 mg de 2-naftol en 100 ml de 2-metoxietanol. Transferir 5 ml de la solución y 10 ml de la solución de 2-naftol a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con acetona. Para el blanco, transferir 5 ml de agua y 10 ml de solución de 2-naftol a un segundo matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con acetona. Determinar la absorbancia de la solución muestra, en una celda de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente a 545 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando el blanco para llevar a cero la lectura del aparato: la absorbancia no es menor de 0,80.

Sal de fast blue BB - $(C_{17}H_{18}ClN_3O_3)_2 \cdot ZnCl_2$ - (PM: 831,9) - Polvo amarillo que funde aproximadamente a 162 °C, con descomposición. Moderadamente soluble en agua.

Cloruro - Transferir aproximadamente 80 mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados. Agregar 25 ml de acetona, 25 ml de agua y 500 mg de nitrato de sodio. Agitar hasta disolución completa. Titular con nitrato de plata 0,01 N (SR), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Contiene no menos de 15,0 % de cloruro.

Sal disódica del ácido 3-(2-Piridil)5,6-di(2-furil)-1,2,4-triazina-5',5''-disulfónico - (PM: 494,4) $C_{16}H_8N_4Na_2O_8S_2$ - Polvo amarillo oscuro.

Sales biliares - Es un concentrado de bilis bovina, siendo su componente principal el desoxicolato sódico, determinado como ácido cólico. Soluble en agua y alcohol; las soluciones forman espuma cuando se agitan.

Stancias insolubles - Disolver 5 g en 100 ml de alcohol diluido (84 en 100), calentando si fuera necesario para favorecer la disolución. Filtrar dentro de los 15 minutos a través de un filtro previamente pesado y lavar con porciones pequeñas de alcohol diluido hasta que el último lavado sea incoloro o prácticamente incoloro luego secar el residuo a 105 °C durante 1 hora y pesar: el peso del residuo no es mayor de 0,1 %.

Valoración -

Solución estándar de ácido cólico - Disolver 50,0 mg de ácido cólico, exactamente pesados, en ácido acético diluido (6 en 10) para obtener 100 ml y mezclar. Almacenar en un refrigerador.

Procedimiento - Disolver 1,0 g, exactamente pesado, en 50 ml de ácido acético diluido (6 en 10). Filtrar la solución, si fuera necesario, a un matraz aforado de 100 ml, lavar el envase original y el filtro con porciones de ácido acético diluido (6 en 10), completar a volumen con ácido acético diluido (6 en 10) y mezclar. Diluir 10 ml de esta solución, exactamente medidos, con ácido acético diluido (6 en 10) hasta obtener 100 ml y mezclar. Transferir 1 ml de *Solución estándar de ácido cólico* y de la solución de Sales biliares a dos tubos de ensayo iguales. A cada tubo agregar 1ml, exactamente medido, de solución de furfural recientemente preparada (1 en 100); de inmediato colocar los tubos en un baño de hielo durante 5 minutos, agregar a cada tubo 13 ml, exactamente medidos, de ácido sulfúrico diluido, obtenido mezclando, cuidadosamente, 50 ml de ácido sulfúrico con 65 ml de agua. Mezclar el contenido de los tubos y colocarlos en un baño de agua mantenido a 70 °C durante 10 minutos. De inmediato transferir los tubos a un baño de hielo durante 2 minutos y determinar la absorbancia de cada solución a la longitud de onda de

máxima absorción, aproximadamente 670 nm, con un espectrofotómetro apropiado. Calcular la cantidad, en mg, de ácido cólico ($C_{24}H_{40}O_5$) en la cantidad tomada de las Sales biliares por la fórmula siguiente:

$$500(A_D/A_E)$$

en la cual A_D y A_E son las absorbancias de la solución de Sales biliares y de la *Solución estándar de ácido cólico*, respectivamente. Contiene no menos de 45 % de ácido cólico.

Salicilaldazina - $C_{14}H_{12}N_2O_2$ - (PM: 240,3) - Emplear uno de grado apropiado o preparar del siguiente modo. Disolver 300 mg de sulfato de hidracina en 5 ml de agua, agregar 1 ml de ácido acético glacial y 2 ml de una solución (1 en 5) de salicilaldehído en alcohol isopropílico preparada recientemente, mezclar y dejar reposar hasta que se forme un precipitado amarillo. Extraer la mezcla con dos porciones de 15 ml de cloruro de metileno. Combinar los extractos de cloruro de metileno y secar sobre sulfato de sodio anhidro. Decantar la solución de cloruro de metileno y evaporar hasta sequedad. Recristalizar el residuo de salicilaldazina a partir de una mezcla de tolueno caliente y metanol (60:40) con enfriamiento. Filtrar y secar los cristales al vacío.

Intervalo de fusión <260> - Entre 213 y 219 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 1 °C.

Cromatografía - Proceder según se indica en *Límite de Hidracina en Povidona*: el cromatograma presenta sólo una mancha.

Salicilaldehído - 2-HOC₆H₄CHO - (PM: 122,1) - Líquido transparente, de incoloro a verde amarillento. Densidad relativa: aproximadamente 1,17. Poco soluble en agua; soluble en alcohol y éter. Puede contener un estabilizante.

Temperatura de solidificación <180> - Entre 1,0 y 3,0 °C.

Índice de refracción <230> - Entre 1,573 y 1,574, a 20 °C.

Valoración - Cuando se analiza por cromatografía de gases, empleando aparatos y condiciones apropiadas, presenta una pureza de no menos de 98 %.

Salicilato de etilo - $C_9H_{10}O_3$ - (PM: 166,2) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver *100. Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 10 m × 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de metilsilicona. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 240 y 300°C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 250 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de salicilato de etilo no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,5216 y 1,5236, a 20 °C.

Salicilato de isopropilo - (PM: 180,2) - $C_6H_4OHCOOCH(CH_3)_2$ - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver *100. Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 1,8 m × 2 mm con una fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano al 7 % sobre un soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y 310 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 50 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 250 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico principal no es menor de 97 % del área total.

Salicilato de sodio - Cumple con las especificaciones de *Salicilato de sodio* y con los requisitos del siguiente ensayo.

Nitrato - Disolver 100 mg en 5 ml de agua y verter cuidadosamente y sin mezclar la solución sobre 5ml de ácido sulfúrico: no aparece color rojo pardusco en la interfase de los dos líquidos.

Sal nitroso R - (*1-Nitroso-2-naftol-3,6-disulfonato disódico*) - $NOC_{10}H_4OH(SO_3Na)_2$ - (PM: 377,3) - Cristales o polvo cristalino amarillo. Moderadamente soluble en agua; insoluble en alcohol.

Sensibilidad - Disolver 500 mg de acetato de sodio en una solución de 0,4 mg de cloruro cobaltoso (0,1 mg de cobalto) en 5 ml de agua. Agregar 1 ml de ácido acético diluido y luego 1 ml de una solución de sal nitroso R (1 en 500): un color rojo, que se produce inmediatamente, persiste cuando la solución se calienta a ebullición con 1 ml de ácido clorhídrico durante 1 minuto.

Sal sódica del ácido 1-pentanosulfónico - Ver *1-Pentanosulfonato de sodio*.

Sebacato de bis(2-etilhexilo) - (*Diocil sebacato*) $C_8H_{17}OOC(CH_2)_8COOC_8H_{17}$ - (PM: 426,7) - Líquido amarillo pálido. Insoluble en agua. Apropiado para uso en cromatografía de gases. Índice de refracción: aproximadamente 1,448.

Densidad relativa <160> - Entre 0,913 y 0,917.

Intervalo de ebullición - Entre 243 y 248 °C, a 5 mm Hg.

Selenio - Se - (PA: 78,96) - Polvo rojo oscuro amorfo o polvo cristalino negro azulado. Insoluble en agua; soluble en soluciones de hidróxido de sodio o potasio o sulfuros.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - 1 g no produce más de 2 mg (0,2 %).

Metales pesados - Agregar al *Residuo de ignición* 3 ml de ácido clorhídrico y 2 ml de ácido nítrico, evaporar en un baño de vapor hasta sequedad, absorber el residuo en una mezcla de 2 ml de ácido clorhídrico diluido y 50 ml de agua caliente, enfriar, filtrar y lavar el filtro con agua suficiente para obtener 100 ml de filtrado (*Solución muestra*). A una alícuota de 30 ml de la *Solución muestra* agregar 10 ml de agua y 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): el color producido no es más oscuro que el de una *Solución control* preparada a partir de 3 ml de *Solución de plomo estándar* (ver 590. *Límite de Metales Pesados*, 0,03 mg de Pb), 0,2 ml de ácido clorhídrico 1 N, 37 ml de agua y 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR) (0,01 %).

Hierro - A 20 ml de la *Solución muestra* preparada en el ensayo para *Metales pesados* agregar 2 ml de ácido clorhídrico y diluir con agua a 47 ml: la solución no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,005 %).

Nitrógeno -

Solución de nitrógeno estándar - Disolver 382 mg de cloruro de amonio en agua para obtener 1 litro. Cada mililitro de esta solución equivale a 0,1 mg de nitrógeno (N).

Procedimiento - Calentar 1,0 g con 10 ml de ácido sulfúrico en un matraz de Kjeldahl hasta que la muestra se disuelva y el volumen de ácido se reduzca hasta aproximadamente 5 ml. Enfriar, diluir con precaución con 100 ml de agua, alcalinizar con solución de hidróxido de sodio (3 en 10) y destilar aproximadamente 75 ml de la solución en 5 ml de agua que contenga 2 gotas de ácido clorhídrico 1 N. Diluir el destilado con agua a 250 ml. A una alícuota de 50 ml de la solución agregar 1 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 10) y 2 ml de iodo mercuriato de potasio (SR): el color producido no es más intenso que el producido por 0,1 ml de *Solución de nitrógeno estándar* (0,01 mg de N) tratado de la misma manera que la muestra (0,005 %).

Azufre - Transferir 1,0 g, exactamente pesado, a un vaso de precipitados y agregar sucesivamente 5 ml de ácido nítrico, 10 ml de ácido clorhídrico y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Agregar 10 ml de ácido clorhídrico y evaporar de nuevo lentamente hasta sequedad. Recolectar el residuo en 30 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 30), filtrar y lavar el filtro con agua para obtener aproximadamente 100 ml de filtrado. Calentar el filtrado a ebullición y agregar lentamente, agitando, 5 ml de cloruro de bario (SR). Digerir en un baño de vapor durante 4 horas. Filtrar a través de papel de filtro de porosi-

dad fina, lavar el precipitado hasta que esté libre de cloruro, someter a ignición y pesar. El peso del residuo de sulfato de bario, multiplicado por 0,1374, representa el azufre (S) presente. Contiene no más de 0,5 mg de S (0,05 %).

Selenometionina - $C_5H_{11}NO_2Se$ - (PM: 196,1) - *Precaución* - Manipular con cuidado, ya que este reactivo es altamente tóxico.

Valoración - Pesar exactamente 750 mg, disolver en 100 ml de metanol, agregar cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N hasta punto final verde azulado. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 19,61 mg de $C_5H_{11}NO_2Se$. Contiene entre 97,0 y 103,0 %, calculado sobre la sustancia.

Intervalo de fusión <260> - Aprox. 260 °C, con descomposición.

Determinación de nitrógeno <200> - Determinar por el método Kjeldahl. Contiene entre 6,8 y 7,4 %, calculado sobre la sustancia.

Silicato de magnesio activado - Emplear uno de grado apropiado.

Silicato de magnesio para cromatografía - Gel de sílice y magnesia sumamente blanco, duro, pulverizado (malla 60 a 100). Apropiado para uso como adsorbente para cromatografía en columna.

Sílice cromatográfica, silanizada, calcinada, lavada con ácido - Emplear uno de grado apropiado.

Sílice, microesferas - Emplear uno de grado apropiado.

Sílice octilsilanizado para cromatografía, descativado para separación de compuestos básicos (gel de) - Gel de sílice de granulometría muy fina (3 a 10 μm) tratado antes de la introducción de grupos octadecilsililo por lavado cuidadoso e hidrólisis de la mayor parte de los enlaces siloxano con el objeto de reducir al mínimo la interacción con los compuestos básicos. Polvo blanco, fino, homogéneo. Prácticamente insoluble en agua y en alcohol.

Silicona (75 % fenil, metil) - Emplear uno de grado apropiado.

Sodio - Na - (PA: 22,99) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sodio, citrato de - Ver Citrato de sodio.

Sodio, metaperiodato de - Ver Metaperiodato de sodio.

Solución de bromuro de dimidio-azul sulfán - Disolver separadamente 0,5 g de bromuro de dimidio y 0,5 g de azul sulfán en 30 ml de una mezcla caliente de etanol y agua (1:9). Transferir ambas soluciones a un matraz aforado de 250 ml, mezclar y completar a volumen con el mismo solvente. Transferir

20 ml de esta solución a un matraz aforado de 500 ml, agregar 20 ml de una solución de ácido sulfúrico 14 % v/v diluida a 250 ml con agua y completar a volumen con agua. [NOTA: almacenar en envase inactivo].

Solución de formaldehído - HCHO - (PM: 30,0) y agua - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Solución de hidróxido de tetrametilamonio en metanol - $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$ - (PM: 91,2) - Se consigue comercialmente en concentraciones de 10 y 25 %. Las siguientes especificaciones se aplican específicamente a la concentración de 25 %; para otras concentraciones, pueden ser necesario ajustes apropiados en los procedimientos.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 1 g de la solución y diluir con agua hasta aproximadamente 50 ml. Agregar fenolftaleína (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,1 N (SV) hasta la desaparición del color rosado. Cada mililitro de ácido clorhídrico 0,1 N (SV) equivale a 91,15 mg de $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$. Contiene entre 23 y 25 %.

Transparencia - Una porción de solución en un tubo de ensayo es transparente o sólo algo turbia, cuando se observa transversalmente.

Solución de hipoclorito de sodio - Es una solución de hipoclorito de sodio (NaOCl) en agua. Generalmente de color amarillo a verde amarillento. Tiene olor a cloro. Es afectada por la luz y se deteriora gradualmente. Almacenar en envases inactivos, preferentemente debajo de 25 °C.

Precaución - Esta solución es corrosiva y puede producir gases que son corrosivos y tóxicos. Es un oxidante potente que puede reaccionar violentamente con agentes reductores. Es irritante y corrosiva para la piel y mucosas.

Valoración - Transferir aproximadamente 3 ml a un matraz para iodo, previamente pesado, con tapón de vidrio y pesar exactamente. Agregar 50 ml de agua, 2 g de ioduro de potasio y 10 ml de ácido acético, insertar el tapón en el matraz y dejar reposar en la oscuridad durante 10 minutos. Retirar el tapón, lavar las paredes del matraz con agua y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 3,723 mg de NaOCl. Contiene no menos de 5,25 %. Si se desea calcular el porcentaje de cloro disponible, observar que cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N consumido equivale a 3,545 mg de cloro disponible.

Calcio - Transferir 10,0 g a un vaso de precipitados de 150 ml, disolver en 10 ml de agua y agregar 5 ml de ácido clorhídrico y 2 g de ioduro de potasio. Calentar la mezcla durante 5 minutos, enfriar y agregar 2 ml de peróxido de hidrógeno al 30 %. Evaporar

hasta sequedad, enfriar y agregar 2 ml de ácido clorhídrico y 2 ml de peróxido de hidrógeno al 30 %. Lavar las paredes internas del vaso de precipitados con agua y evaporar hasta sequedad. Recolectar el residuo en 20 ml de agua y filtrar si fuera necesario. Agregar al filtrado hidróxido de amonio hasta que la solución sea apenas alcalina luego agregar 4 gotas de hidróxido de amonio y 5 ml de oxalato de amonio (SR): la turbidez producida dentro de los 15 minutos no excede la de un blanco que contenga 0,1 mg de Ca llevando a cabo el procedimiento completo (0,001%).

Fosfato (Ensayo para reactivos) - Transferir 2 g a un vaso de precipitados y agregar 5 ml de ácido clorhídrico y 2 g de ioduro de potasio. Calentar la solución durante 5 minutos y enfriar. Agregar 2 ml de peróxido de hidrógeno al 30 % y evaporar la solución hasta sequedad. Lavar las paredes del vaso de precipitados con agua, agregar 2 ml de ácido clorhídrico y 2 ml de peróxido de hidrógeno al 30 %. Evaporar nuevamente hasta sequedad: el residuo no presenta más de 0,01 mg de PO_4 (5 ppm).

Solución de peróxido de hidrógeno - Emplear *Agua oxigenada*.

Solución estándar de perclorato de holmio - Emplear una solución con una concentración de 40 g por litro, preparada disolviendo óxido de holmio en una solución de ácido perclórico que contiene 141 g por litro.

Solución isotónica de cloruro de sodio - Emplear Solución fisiológica (SR).

Soluciones reguladoras - Ver *Soluciones reguladoras* en *Soluciones*.

Sorbitol - Emplear *Sorbitol*.

Sudán III - $\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}$ - (PM: 352,4) - Polvo de color rojo a rojo pardo. Emplear uno de grado apropiado.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Hexano y acetato de etilo (80:20).

Procedimiento - Examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm. Presenta una sola mancha, con trazas de impurezas.

Sudán IV - $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}$ - (PM: 380,4) - Polvo marrón a marrón rojizo.

Valoración - Transferir aproximadamente 25 mg, exactamente pesados, a un matraz aforado de 100 ml. Disolver en cloroformo, completar a volumen con cloroformo y mezclar. Diluir 2,0 ml de la solución clorofórmica resultante a 50,0 ml. Determinar la

absorbancia de esta solución en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 520 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando cloroformo como blanco. Calcular el porcentaje de *Sudán IV* en la muestra tomada por la fórmula siguiente siguiente:

$$(100A)/(85C)$$

en la cual *A* es la absorbancia a 520 nm y *C* es la concentración de muestra, en g por litro. Contiene no menos de 90 %.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 2 horas: no pierde más de 10 % de su peso.

Sulfamato de Amonio - $\text{NH}_4\text{OSO}_2\text{NH}_2$ - (PM: 114,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfanilamida - $\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ - (PM: 172,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato ácido de potasio - (*Sulfato monopotásico*) - KHSO_4 - (PM: 136,2) - Cristales incoloros, transparentes e higroscópicos. Facilmente soluble en agua proporcionando una solución fuertemente ácida.

Sulfato ácido de sodio - (*Bisulfato de sodio*) - NaHSO_4 - (PM: 120,1) - Muy soluble en agua hirviendo, fácilmente soluble en agua. Se descompone en alcohol dando sulfato de sodio y ácido sulfúrico libre.

Punto de fusión <260> - Aprox. 315 °C.

Sulfato ácido de tetrabutilamonio - $\text{C}_{16}\text{H}_{37}\text{NO}_4\text{S}$ (PM: 339,5) - Polvo cristalino blanco. Soluble en alcohol proporcionando una solución ligeramente turbia, incolora.

Valoración - Disolver aproximadamente 170 mg, exactamente pesados, en 40 ml de agua. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 33,95 mg de $\text{C}_{16}\text{H}_{37}\text{NO}_4\text{S}$. Contiene no menos de 97,0 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 169 y 173 °C.

Sulfato ácido de tetrahexilamonio - $\text{C}_{24}\text{H}_{53}\text{NO}_4\text{S}$ - (PM: 451,8) - Cristales blancos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 100 y 102 °C.

Sulfato cérico - $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ con una cantidad variable de agua - (PM: 332,2 - anhidro) - También puede contener sulfatos de otros elementos asociados de tierras raras. Cristales o polvo cristalino amarillo a amarillo anaranjado. Prácticamente insoluble en agua fría; lentamente soluble en ácidos minerales diluidos fríos, pero más fácilmente soluble cuando se calienta con estos solventes.

Valoración - Transferir 800 mg, exactamente pesados, a un erlenmeyer, agregar 25 ml de agua y 3 ml de ácido sulfúrico y calentar hasta disolver. Enfriar y agregar 60 ml de una mezcla de agua y ácido fosfórico (20:1). Agregar 25 ml de solución de ioduro de potasio (1 en 10), insertar el tapón en el erlenmeyer y dejar reposar durante 15 minutos. Reemplazar el aire sobre la solución por dióxido de carbono y, mientras continúa el flujo de dióxido de carbono, titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 33,22 mg de $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$. Contiene no menos de 80,0 %.

Cloruro (Ensayo para reactivos) - Disolver 1 g en una mezcla de 5 ml de ácido nítrico y 4 ml de agua. Filtrar, si fuera necesario, y diluir con agua a 20 ml. A 10 ml de la dilución, agregar 1 ml de nitrato de plata (SR), dejar reposar durante 10 minutos y filtrar hasta clarificar. A los restantes 10 ml de solución muestra, agregar 1 ml de nitrato de plata (SR): la turbidez producida no excede la de un control preparado mediante el agregado de 0,05 mg de Cl al filtrado obtenido a partir de los primeros 10 ml de solución muestra (0,01 %).

Metales pesados - Calentar 500 mg con una mezcla de 10 ml de agua y 0,5 ml de ácido sulfúrico hasta que se complete la disolución. Enfriar, diluir con agua a 50 ml y burbujear sulfuro de hidrógeno gaseoso a través de la solución hasta que ésta se sature: el precipitado que se forma es blanco o no más oscuro que amarillo pálido.

Hierro - Disolver 100 mg en una mezcla de 5 ml de agua y 2 ml de ácido clorhídrico, calentando, si fuera necesario, y enfriar. Transferir a una probeta con tapón de vidrio, diluir con agua a 25 ml y agregar 5 ml de tiocianato de amonio (SR) y 25 ml de éter. Agitar suave y completamente y dejar que las fases se separen: cualquier color rosado en la capa etérea no es más oscuro que el de un control, preparado en forma similar, conteniendo 0,02 mg de Fe (0,02 %).

Sulfato cérico amónico - (PM: 632,6) - $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 2(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - Cristales amarillos a anaranjado amarillento. Se disuelve lentamente en agua, pero más rápidamente en presencia de ácidos minerales.

Valoración - Pesar exactamente 1 g, disolver en 10 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 10) y agregar 40 ml de agua. Agregar ortofenantrolina (SR) y titular con sulfato ferroso amónico 0,1 N (SV) recientemente estandarizado.

Cada mililitro de sulfato ferroso amónico 0,1 N equivale a 63,26 mg de $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 2(\text{NH}_4)_2 \cdot \text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Contiene no menos de 94 %.

Hierro - Disolver 100 mg en 30 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 10) y agregar peróxido de hidrógeno (SR), gota a gota, hasta que la solución sea incolora. Agregar agua de amoníaco fuerte hasta que el pH esté entre 1 y 3, enfriar a temperatura ambiente, adicionalmente ajustar a pH 3,5 (empleando un electrodo de vidrio) y diluir a 50 ml. A 5 ml de esta solución, agregar 5 ml de agua, mezclar y agregar 6 ml de solución de clorhidrato de hidroxilamina (1 en 10) y 4 ml de una solución acidificada de ortofenantrolina (1 en 1.000): cualquier color rojo producido no es más oscuro que el de un control que contiene 0,1 mg de Fe y los volúmenes de ácido y peróxido de hidrógeno (SR) empleado con la muestra (0,1 %).

Fosfato - Disolver 200 mg en 30 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 10), agregar peróxido de hidrógeno al 30 % hasta que la solución sea incolora y calentar a ebullición para eliminar el exceso de peróxido. Enfriar y diluir a 100 ml. A 5 ml de la solución resultante, agregar 55 ml de agua y ajustar a pH entre 2 y 3 con hidróxido de amonio. [NOTA: ajustar el pH cuidadosamente, ya que la formación de un precipitado permanente dificultará las operaciones subsiguientes. Si se formara un precipitado permanente, descartar la solución y comenzar con una alícuota nueva de la solución muestra.] Agregar 500 mg de molibdato de amonio y ajustar a pH 1,8 (empleando un electrodo de vidrio) con ácido clorhídrico diluido (1 en 10). Calentar la solución a ebullición, enfriar, agregar 10 ml de ácido clorhídrico y diluir a 100 ml. Transferir a una ampolla de decantación, agregar 35 ml de éter, agitar vigorosamente, dejar separar y descartar la fase acuosa. Lavar la fase etérea dos veces agitando con porciones separadas de 10 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 10), descartando siempre la fase acuosa. Agregar 0,20 ml de una solución recientemente preparada de 2 g de cloruro estañoso en 100 ml de ácido clorhídrico, agitar bien y dejar que las fases se separen: el color azul en la fase etérea no es más oscuro que el de un control preparado al agregar el equivalente a 0,01 mg de PO_4 a 5 ml de ácido sulfúrico diluido (3 en 25) y tratados de la misma manera (0,1 %).

Sulfato cúprico - $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 249,7) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato cúprico anhidro - CuSO_4 - (PM: 159,6) - Polvo blanco o blanco grisáceo exento de un tinte azul. Con el agregado de una cantidad pequeña de agua, se torna azul. Soluble en agua. Almacenar en envases de cierre perfecto.

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,02 mg de Cl (0,002 %).

Sustancias no precipitadas por sulfuro de hidrógeno - Determinar según se indica para *Acetato cúprico*: el residuo no pesa más de 6 mg (0,15 %).

Sulfato de adenina - $(\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_5)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 404,4) - Cristales blancos o polvo cristalino. Luego de secar a 110 °C, funde aproximadamente a 200 °C, con descomposición. Poco soluble en agua; menos soluble en alcohol. Soluble en soluciones de hidróxido de sodio. No precipita con solución de iodo (SR) o iodomercuriato de potasio (SR) pero precipita con trinitrofenol (SR).

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 100 mg.

Agua - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 10,0 % de su peso.

Sulfato de amonio - $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - (PM: 132,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato de brucina - (PM: 1.013,1) - $(\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato de calcio - $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 172,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato de cinc - $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 287,5) - Polvo cristalino blanco o cristales transparentes, fluorescentes. Muy soluble en agua; prácticamente insoluble en alcohol.

Sulfato de dietilfenilendiamina - (*Sulfato de N,N'-dietil-p-fenilendiamina*) - $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ - (PM: 262,3) - Polvo blanco o ligeramente amarillento, soluble en agua. Funde a 185 °C aproximadamente, con descomposición. Almacenar en envases inactínicos.

Sulfato de dihidroquinidina - (PM: 785,0) - $(\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - Polvo cristalino blanco.

Valoración - Disolver aproximadamente 200 mg, exactamente pesados, en 20 ml de anhídrido acético, agregar 4 gotas de *p*-naftolbenceína (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) desde una microbureta de 10 ml hasta punto final verde. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 24,96 mg de $(\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$. Contiene no menos de 99 %.

Sulfato de dihidroquinina - (PM: 785,0) - $(\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - Polvo cristalino blanco.

Valoración - Disolver aproximadamente 200 mg, exactamente pesados, en 20 ml de anhídrido acético, agregar 4 gotas de *p*-naftolbenceína (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) desde una microbureta de 10 ml hasta punto final verde. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 24,96 mg de $(\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$. Contiene no menos de 99 %.

Sulfato de estricnina - (PM: 857,0) - $(C_{21}H_{22}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 5H_2O$ - Cristales incoloros o blancos, polvo cristalino blanco. Sus soluciones son levorrotatorias. Moderadamente soluble en agua y alcohol; poco soluble en cloroformo; insoluble en éter.

Solubilidad - Una solución de 500 mg en 25 ml de agua es transparente, incolora y se disuelve completamente.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,1 %.

Brucina - A 100 mg agregar 1 ml de ácido nítrico diluido (1 en 2): se puede observar un color amarillo pero no se observa un color pardo rojo o rojizo.

Sulfato de hidracina - $(NH_2)_2 \cdot H_2SO_4$ - (PM: 130,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato de iobenguano - (*Sal de hemisulfato de m-iodobencilguanidina*) - $C_8H_{10}IN_3 \cdot \frac{1}{2}H_2SO_4$ - (PM: 324,1) - Polvo blanco. Fácilmente soluble en metanol.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Alcohol butílico, agua y ácido acético (60:25:15).

Procedimiento - Examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm. No se observa más de una mancha de impurezas de no más de 0,5 %.

Sulfato de litio - $Li_2SO_4 \cdot H_2O$ - (PM: 128,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato de magnesio - $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - (PM: 246,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato de magnesio, anhidro - $MgSO_4$ - (PM: 120,4) - El sulfato de magnesio anhidro puede prepararse del siguiente modo: colocar una cantidad apropiada de sulfato de magnesio, preferentemente pulverizado, en un recipiente playo y exponer a una temperatura de aproximadamente 80 °C durante varias horas agitando ocasionalmente. Calentar de 275 a 300°C hasta que el peso sea prácticamente constante. Transferir el producto aún caliente a envases de cierre perfecto, ya que la sal anhidra es muy higroscópica.

Sulfato de manganeso - (*Sulfato de manganeso monohidrato*) - $MnSO_4 \cdot H_2O$ - (PM: 169,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato de p-metilaminofenol - (PM: 344,4) - $(p-CH_3NHC_6H_4OH)_2 \cdot H_2SO_4$ - Cristales pequeños o polvo cristalino blanco o blanco amarillento. Se decolora por exposición al aire. Soluble en agua fría;

fácilmente soluble en agua hirviendo; poco soluble en alcohol; insoluble en éter. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto.

Solubilidad en HCl - A 100 mg agregar 2 ml de ácido clorhídrico: se disuelve rápidamente y completamente.

o-Aminofenol - A la solución del ensayo anterior agregar 1 gota de cloruro férrico (SR): no se produce color pardo rojizo.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - El residuo no pesa más de 2 mg, determinado sobre 2 g (0,1 %).

Cloruro - A una solución de 1 g en 20 ml de agua agregar 1 ml de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata (SR): no se produce más que una ligera opalescencia.

Aptitud para el ensayo de fosfatos - Disolver 2 g en 100 ml de agua. A 10 ml de esta solución agregar 90 ml de agua y 20 g de bisulfito de sodio. Confirmar la aptitud de la solución del reactivo por el siguiente ensayo: agregar 1 ml de la solución del reactivo a cada una de cuatro soluciones que contengan 25 ml de ácido sulfúrico 0,5 N y 1 ml de una solución de 5 g de molibdato de amonio en 100 ml de ácido sulfúrico 1N. Agregar 0,005 mg de fosfato (PO_4) a una de las soluciones, 0,01 mg a la segunda y 0,02 mg a la tercera. Dejar reposar a temperatura ambiente durante 2 horas: las soluciones en los tres tubos presentan diferencias fácilmente perceptibles en color azul que corresponden a las cantidades relativas de fosfato agregado y el que contiene 0,005 mg de fosfato posee un color azul sensiblemente más profundo que el blanco.

Sulfato de níquel - $NiSO_4 \cdot 7H_2O$ - (PM: 280,9) - Polvo cristalino o cristales verdes, fácilmente en agua, poco soluble en alcohol.

Sulfato de potasio - K_2SO_4 - (PM: 174,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato de potasio y aluminio - (PM: 474,4) - $AlK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato de sodio - (*Sal de Glauber*) - (PM: 322,2) $Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$ - Cristales incoloros, inodoros o gránulos blancos. Es eflorescente. Funde a 32,5 °C. Fácilmente soluble en agua; soluble en glicerina; insoluble en alcohol. Almacenar en envases bien cerrados, protegidos del calor.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 10 g (0,01 %).

pH - El pH de una solución de 10 g en 200 ml de agua libre de amoníaco está entre 5,2 y 8,2.

Arsénico (Ensayo para reactivos) - La mancha producida por 3 g no excede la producida por 0,003 mg de As (1 ppm).

Calcio, magnesio y precipitado de R_2O_3 - Disolver 5 g en 75 ml de agua, filtrar y agregar 5 ml de oxalato de amonio (SR), 2 ml de fosfato de amonio (SR) y 10 ml de hidróxido de amonio. Agitar bien y dejar reposar durante toda la noche. Si se forma precipitado, filtrar, lavar con amoniaco (SR) (1 en 4) y someter a ignición: el residuo no pesa más de 1 mg (0,02 %).

Cloruro - Disolver 1 g en 50 ml de agua y filtrar si fuera necesario. A 25 ml de la solución agregar 1 ml de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata (SR): si se produce turbidez no debe exceder la de un control que contenga 0,01 mg de Cl (0,002 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 5 ppm.

Hierro <580> - 1 g disuelto en 47 ml de agua que contenga 2 ml de ácido clorhídrico, no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,001 %).

Compuestos nitrogenados (Ensayo para reactivos) 2 g no presentan más de 0,01 mg de N (5 ppm).

Sulfato de sodio anhidro - Na_2SO_4 - (PM: 142,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Para emplear en análisis de alcaloides por cromatografía de gases y líquidos, ajustar también al siguiente ensayo adicional.

Aptitud para la valoración de alcaloides - Transferir aproximadamente 10 mg de atropina, exactamente pesados, a un matraz aforado de 25 ml, disolver en alcohol y completar a volumen con alcohol. Transferir 3 ml de la solución a cada una de dos ampollas de decantación de 60 ml y agregar a cada una 10 ml de agua, 1 ml de hidróxido de sodio 1 N y 10 ml de cloroformo. Agitar completamente y dejar separar las fases. Filtrar la fase orgánica desde una ampolla de decantación a través de un papel separador de fases, previamente lavado con 5 ml de cloroformo y recolectar el filtrado en un envase apropiado. Agregar 10 ml de cloroformo a la ampolla de decantación, agitar vigorosamente y filtrar la fase orgánica a través del mismo papel separador de fases, recolectando y combinando los filtrados en el mismo envase. Designar los filtrados combinados como *Solución A*. Filtrar la fase orgánica de la segunda ampolla de decantación a través de 30 g del sulfato de sodio anhidro, colocado sobre una torunda de lana de vidrio en un embudo previamente lavado con cloroformo y recolectar el filtrado en un envase apropiado. Agregar 10 ml de cloroformo a la ampolla de decantación, agitar a vigorosamente y filtrar la fase orgánica a través de la misma porción de sulfato de sodio anhidro, recolectando y combinando los dos filtrados en el mismo envase. Designar los filtrados combinados como *Solución B*. Evaporar las dos soluciones al vacío a un volumen de aproximadamente 1 ml. Inyectar un volumen, exactamente medido, de *Solución A*

en un cromatógrafo de gases apropiado y registrar la altura del pico por duplicado. De manera similar, determinar la altura del picos de *Solución B* por duplicado. El valor promedio obtenido para la *Solución B* está dentro de 5,0 % del valor obtenido para la *Solución A*.

El cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) está equipado con un detector y una columna de vidrio de 1,2 m \times 4 mm con 3 % de fase estacionaria constituida por 50 % fenil silicona y 50 % de metilpolisiloxano sobre un soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C. [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Después de curada y acondicionada, mantener la columna, el inyector y el detector a aproximadamente 210, 225 y 240 °C, respectivamente. Se emplea helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 60 ml por minuto.

Sulfato de sodio decahidratado - Emplear Sulfato de sodio.

Sulfato de tetrabutil amonio hidrogenado - (*Sulfato ácido de tetrabutil monio*) - $C_{16}H_{37}NO_4S$ - (PM: 339,5) - Polvo blanco cristalino. Soluble n alcohol con la que produce una solución incolora levemente turbia.

Intervalo e fusión <260> - Entre 69 y 173 °C.

Valoración - Disolver aproximadamente 170 mg de sulfato de tetrabutil amonio hidrogenada en 40 ml de agua. Titular con hidróxido e sodio 0,1 N (SV), determinar el punto final potenciométricamente. Realizar una titulación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 33,95 mg de $C_{16}H_{37}NO_4S$. No debe contener menos de 97,0 %.

Sulfato de vanadilo - $VOSO_4 \cdot xH_2O$ - (PM: 163,01 - anhidro) - Cristales azules, higroscópicos. Lenta e incompleta solubilidad en agua.

Valoración - Pesar exactamente 400 mg de muestra seca obtenida en el ensayo para *Agua* y transferir con 15 a 20 ml de agua a un vaso de precipitados. Agregar 3 ml de ácido sulfúrico, cubrir el vaso de precipitados con un vidrio de reloj y calentar en un baño de vapor hasta que se disuelva completamente. Enfriar, diluir con 125 ml de agua y titular con permanganato de potasio 0,1 N (SV) hasta la producción de un color rosado que persiste durante 1 minuto. Cada mililitro de permanganato de potasio 0,1 N equivale a 16,30 mg de $VOSO_4$. Contiene no menos de 97 %.

Agua - Secar aproximadamente 1 g, exactamente pesado, a 220 °C hasta peso constante: no pierde más de 50,0 % de su peso.

Vanadio pentavalente - Calentar 1 g, exactamente pesado, con 50 ml de agua y 5 ml de ácido clorhídrico en un erlenmeyer hasta disolver. Enfriar, agregar 2 g de ioduro de potasio, insertar el tapón y dejar reposar durante 30 minutos. Agregar 50 ml de agua y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de tiosulfato 0,1 N equivale a 5,095 mg de vanadio (V). Contiene no más de 0,5 %, calculado sobre la sustancia seca.

Sustancias no precipitadas por amoníaco - Disolver 1,0 g calentando con 20 ml de agua y 2 ml de ácido clorhídrico. Diluir con agua a aproximadamente 75 ml y neutralizar al papel de tornasol con amoníaco (SR). Transferir la solución a una probeta de 100 ml, agregar lentamente 5 ml de amoníaco (SR) y agua suficiente hasta la marca de 100 ml y dejar reposar de la noche a la mañana. Decantar 50 ml de la solución sobrenadante a través de un filtro, agregar 5 gotas de ácido sulfúrico, evaporar hasta sequedad y someter a ignición: el residuo no pesa más de 10 mg (2,0 %).

Sulfato férrico - $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ - Polvo blanco grisáceo higroscópico o gránulos de color marrón rojizo, lentamente soluble en agua.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 700 mg y disolver en una mezcla de 50 ml de agua y 3 ml de ácido clorhídrico en un erlenmeyer con tapón de vidrio. Agregar 3 g de ioduro de potasio y dejar reposar en la oscuridad durante 30 minutos. Diluir con 100 ml de agua y titular con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 5,585 mg de Fe. Contiene no menos de 21,0 % y no más de 23,0 %.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - 10 g disueltos en una mezcla de 100 ml de agua y 5 ml de ácido sulfúrico, no presentan más de 2 mg de materia insoluble (0,02 %).

Cloruro - Disolver 1 g calentando con una mezcla de 10 ml de agua y 1 ml de ácido nítrico, agregar 4 ml de ácido nítrico adicional y diluir con agua a 50 ml. A 25 ml agregar 1 ml de ácido fosfórico y 1 ml de nitrato de plata (SR). Si se produce turbidez no excede la producida en un control que contiene 0,01 mg de ion cloruro (Cl), 1 ml de ácido nítrico, 1 ml de ácido fosfórico y 1 ml de nitrato de plata (SR) (0,002 %).

Hierro ferroso - Disolver 4 g calentando con 50 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 10), enfriar y titular con permanganato de potasio 0,1 N: no se

requiere más de 0,16 ml para producir un color rosado permanente (0,02 % como Fe^{+2}).

[NOTA: ya que los reactivos empleados en los ensayos para *Cobre* y *Cinc* pueden contener cantidades excesivas de cobre y cinc, en primer lugar deben purificarse por extracción con *Solución de ditizona para extracción* (ver 600. *Límite de plomo*).]

Cobre - Disolver 1,2 g en 100 ml de agua. A 10 ml agregar 50 ml de una solución que contiene 5 g de tartrato de amonio y 5 ml de hidróxido de amonio. Agregar 10 ml de *Solución de ditizona estándar* (ver 600. *Límite de plomo*), agitar durante 2 minutos, extraer la fase de ditizona y comparar el color rosado con el de un control que contiene 6 μg de ion cobre (Cu) tratado de la misma manera. Si el color en la solución muestra es menos intenso que el de un control, la muestra contiene menos del límite de *Cobre* y *Cinc*. Si el color en la solución muestra es más intenso que el de un control, agregar 15 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 250) y agitar durante 2 minutos. Extraer la solución de ditizona y agitar con una segunda porción de 15 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 250) durante 2 minutos. Extraer la ditizona, combinar los dos extractos ácidos y reservar para el ensayo de *Cinc*. Si se produce un color rosado en la solución de ditizona no es más oscuro que el de la solución control tratada de la misma manera (0,005 %).

Cinc - A los extractos ácidos combinados retenidos del ensayo de *Cobre* agregar acetato de sodio 0,5 M para llevar a pH entre 5,0 y 5,5 y luego agregar 1 ml de tiosulfato de sodio 0,1 N. Agregar 10 ml de *Solución de ditizona estándar* (ver 600. *Límite de plomo*), agitar durante 2 minutos y dejar que las fases se separen. Drenar la ditizona y descartar la fase acuosa. Si se produce color rosado no es mayor que el de un control preparado agregando 0,006 mg de cinc (Zn) a los extractos ácidos combinados del control empleado en el ensayo para *Cobre* (0,005 %).

Nitrato - Disolver 10 g en 100 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 100), calentar a ebullición y verter, lentamente, en una mezcla de 140 ml de agua y 50 ml de agua de amoníaco fuerte. Filtrar a través de un filtro plegado mientras todavía está caliente, lavar con agua caliente hasta que el volumen de filtrado sea 300 ml, mezclar y enfriar. A 15 ml de esta solución agregar 1 ml de solución de cloruro de sodio (1 en 200), 0,10 ml de índigo carmín (SR) y 15 ml de ácido sulfúrico. El color azul no desaparece completamente después de 5 minutos (0,01 %).

Sustancias no precipitadas por amoníaco - Evaporar hasta sequedad 30 ml del filtrado obtenido en el ensayo para *Nitrato* e incinerar suavemente: el peso del residuo no excede 1 mg (0,10 %).

Sulfato férrico amónico - $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (PM: 482,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato ferroso - $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 278,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato ferroso amónico - $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 392,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato mercúrico - HgSO_4 - (PM: 296,7) - Polvo fino, blanco, pesado. Es inodoro. Soluble en solución de cloruro de sodio (1 en 5).

Valoración - Pesar exactamente 500 mg y disolver en 50 ml de ácido nítrico diluido (1 en 2). Agregar 1 ml de solución de nitrato férrico (1 en 10) y titular con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Cada mililitro de tiocianato de amonio 0,1 N equivale a 10,03 mg de Hg. Contiene entre 67 y 67,5 % de Hg.

Residuo de ignición - Someter a ignición 10 g a una velocidad tal que se requiere de 1 a 2 horas para volatilizar la muestra y calcinar a 800 ± 25 °C durante 15 minutos: el residuo no pesa más de 1 mg (0,01 %).

Cloruro - Mezclar 1 g con 50 ml de agua, agregar 1 ml de ácido fórmico y agregar solución de hidróxido de sodio (1 en 10) gota a gota hasta que se forme una pequeña cantidad de precipitado. Calentar a reflujo la suspensión hasta que todo el mercurio se reduzca a metal y la solución sea transparente. Enfriar, filtrar a través de un papel libre de cloruro, lavar con dos porciones de 15 ml de agua y diluir con agua a 90 ml. A 30 ml agregar 1 ml de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata (SR), mezclar y dejar reposar durante 5 minutos: si se produce turbidez no excede la de un control preparado agregando 0,01 mg de Cl a 30 ml de agua tratado de la misma manera (0,003 %).

Hierro <580> - Al *Residuo de ignición* agregar 3 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 2), cubrir con un vidrio de reloj y digerir en un baño de vapor durante 20 minutos. Retirar el vidrio de reloj y evaporar hasta sequedad. Absorber el residuo en una mezcla de 1 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 2) y 30 ml de agua, filtrar si fuera necesario y diluir con agua a 100 ml. A 10 ml de la solución agregar 2 ml de ácido clorhídrico y diluir con agua a 47 ml: la solución no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,001 %).

Sales mercuriosas - Transferir 5,0 g a un erlenmeyer con tapón de vidrio, agregar 100 ml de solución de yoduro de potasio (15 en 100), 5,0 ml de iodo 0,1 N (SV) y 3 ml de ácido clorhídrico 1 N y dejar reposar en la oscuridad, con agitación frecuente, durante 1 hora. Titular el iodo en exceso con tiosulfato sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final: no se requiere más de 0,38 ml

de iodo 0,1 N, haciendo la corrección para el iodo consumido en un blanco (0,15 %).

Nitrato - Dispersar 1 g en 9 ml de agua, agregar 1 ml de solución de cloruro de sodio (1 en 200), mezclar y agregar 0,1 ml de índigo carmín (SR) y 10 ml de ácido sulfúrico: el color azul de la solución clara no desaparece totalmente dentro de los 5 minutos (0,005 %).

Sulfito de sodio - Emplear Sulfito de sodio, anhidro.

Sulfito de sodio anhidro - (*Sulfito de sodio desecado*) - Na_2SO_3 - (PM: 126,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

p-Sulfofenilazocromotropato sódico - (*Sal trisódica del ácido 4,5-dihidroxi-3-(p-sulfofenilazo)-2,7-naftalendisulfónico*) - $\text{C}_{16}\text{H}_9\text{N}_2\text{Na}_3\text{O}_{11}\text{S}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 624,5) - Polvo rojo brillante. Muy soluble en agua; insoluble en alcohol. Se combina con oxiclورو de circonio para formar una laca de circonio rosada soluble.

Sulfuro de hidrógeno - H_2S - (PM: 34,1) - Gas incoloro, venenoso, más pesado que el aire. Soluble en agua. Se genera tratando sulfuro ferroso con ácido clorhídrico diluido o sulfúrico diluido. Pueden emplearse otros sulfuros que producen sulfuro de hidrógeno con ácidos diluidos. Está también disponible en forma de gas comprimido en cilindros.

Sulfuro de sodio - $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 240,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sustrato cromogénico para el ensayo de anti-factor X_a - Reactivo que consta de tripéptidos o tetrapéptidos sintéticos acoplados a un cromóforo. Tiene un grupo arginina en la porción aminoácido terminal, el cual le confiere su actividad específica, y tiene un extremo *p*-nitroanilina covalentemente unido al grupo carbonilo de la arginina. El péptido sintético imita la secuencia del péptido del sitio de acción del sustrato natural específico para el factor activado de coagulación a medir - (PM está entre: 600 y 750). El sustrato completo es incoloro y el factor de coagulación a medir cataliza la división del cromóforo (*p*-nitroanilina) del péptido. La cantidad liberada se mide directamente por el color del cromóforo. El sustrato, empleado para medir la actividad del *Anti-factor X_a* , es soluble en grado necesario y es reactivo a una concentración, basada en el peso molecular declarado en el rótulo, de 2,5 a 3,0 mM. Diferentes preparaciones de sustrato cromogénico difieren en sensibilidad y puede ser necesario determinar el periodo de incubación óptimo.

T

Tartrato de sodio - $\text{Na}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 230,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Tartrato de sodio y potasio - $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 282,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Telurito de potasio - (*Telurato de potasio IV*) - K_2TeO_3 - (PM: 253,8) - Polvo blanco, granular. Soluble en agua. Su solución es alcalina.

Valoración - Pesar exactamente 120 mg, transferir a un vaso de precipitados y disolver en una mezcla de 10 ml de ácido nítrico, 10 ml de ácido sulfúrico y 25 ml de agua. Calentar a ebullición, hasta que se generen gases copiosos de trióxido de azufre. Enfriar, agregar con cuidado 100 ml de agua, calentar a ebullición, agregar 6 g de fluoruro de sodio. Titular la solución caliente con permanganato de potasio 0,1 N (SV). Cada mililitro de permanganato de potasio 0,1N equivale a 12,69 mg de K_2TeO_3 . Contiene no menos de 98 %

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,1 mg de Cl (0,01 %).

Teobromina - $\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_2$ - (PM: 180,2) - Sólido cristalino blanco. Muy poco soluble en agua y alcohol; casi insoluble en éter y cloroformo.

Valoración - Disolver aproximadamente 34 mg, exactamente pesados, en 50 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 18,02 mg de $\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_2$. Contiene no menos de 95 %.

Tetrabromofenoltaleinato de etilo - (PM:662,0) - $\text{C}_{22}\text{H}_{14}\text{Br}_4\text{O}_4$ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Tetracloruro de carbono - CCl_4 - (PM: 153,8) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Tetracloruro de titanio - TiCl_4 - (PM: 189,7) - Líquido transparente, incoloro. Desprende gases al aire. *Precaución* - *Reacciona violentamente con agua.*

Valoración - Pesar exactamente 750 mg en 100 ml de ácido sulfúrico 2 N contenidos en una bureta gravimétrica Smith. Verter la solución a través de una columna de reducción de cinc-mercurio en 50 ml de sulfato férrico amónico 0,1 N (SV). Eluir con 100 ml de ácido sulfúrico 2 N y 100 ml de agua. Agregar 10 ml de ácido fosfórico y titular con permanganato de potasio

0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de permanganato de potasio 0,1 N equivale a 18,97 mg de TiCl_4 . Contiene no menos de 99,5 %.

Intervalo de ebullición (Ensayo para Reactivos) - Entre 135 y 140 °C.

Tetracosano - $\text{C}_{24}\text{H}_{50}$ - (PM: 338,7) - Polvo blanco.

Intervalo de fusión <260> - Entre 51 y 53 °C.

Tetradecano - $\text{C}_{14}\text{H}_{30}$ - (PM: 198,4) - Líquido transparente, incoloro.

Valoración - Analizar por cromatografía gas-líquido empleando un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 2,4 m × 3 mm con una fase estacionaria constituida por un compuesto de polietilenglicol (p.m.p aproximadamente 15.000) [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido], sobre un soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C. [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener la columna, el inyector y el detector a aproximadamente 250, 200 y 280 °C, respectivamente. Se emplea helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 27,5 ml por minuto. Presenta una pureza no menor de 98 %.

Intervalo de fusión <260> - *Método II.* Entre 4 y 8 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 2 °C.

Índice de refracción - Entre 1,4280 y 1,4300 a 20 °C.

Tetraetilenglicol - $\text{C}_8\text{H}_{18}\text{O}_5$ - (PM: 194,2) - Líquido casi incoloro. Índice de refracción: aproximadamente 1,46.

Valoración - Cuando se analiza por cromatografía de gas-líquido, empleando un cromatógrafo de gases y condiciones apropiadas, presenta una pureza no menor de 90 %.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 177 y 187 °C, a una presión de 9 mm Hg.

Tetraetilenpentamina - $\text{C}_8\text{H}_{23}\text{N}_5$ - (PM: 189,3) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y

una columna capilar de 30 m × 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de C₈H₂₃N₅ no es menor de 30 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,503 y 1,507, a 20 °C.

Tetrafenilborato de sodio - NaB(C₆H₅)₄ - (PM: 342,2) - Polvo blanco a ligeramente amarillo, voluminoso; fácilmente soluble en acetona y agua.

Tetrafluoroborato de p-nitrobencenodiazonio - NO₂C₆H₄N₂BF₄ - (PM: 236,9) - Cristales color amarillo oro. Soluble en acetonitrilo. *Precaución - Sensible a los golpes; mantener refrigerado.*

Valoración - Transferir aproximadamente 30 mg, exactamente pesados, a un matraz aforado de 100 ml de vidrio inactínico. Disolver en ácido clorhídrico 0,01 N, completar a volumen con ácido clorhídrico 0,01 N y mezclar. Empleando material de vidrio inactínico, diluir 2,0 ml de la solución resultante con metanol de grado espectrofotométrico a 50,0 ml. Determinar la absorbancia de esta solución en una celda de 1 cm aproximadamente a 255 nm, empleando metanol como blanco. Calcular la absortividad de la solución dividiendo la absorbancia medida por la concentración en g por ml. Calcular el título por la fórmula siguiente:

$$100a/59,4$$

en la cual *a* es la absortividad de la solución. Contiene no menos de 95,0 %.

Tetrahidrofurano - C₄H₈O - (PM: 72,1) - Líquido incoloro, de olor acre característico. Miscible con agua y solventes orgánicos comunes. Cuando se mezcla con agua, genera calor y se contrae el volumen; cuando se mezcla con cloroformo, genera considerable calor. Cualquier conservante apropiado, que no exceda 0,1 %, agregado para impedir formación de peróxidos, debe declararse en el rótulo. Conservar en envases inactínicos totalmente llenos.

Densidad relativa <160> - Entre 0,884 y 0,886.

Intervalo de destilación <240> - Método II. Entre 65 y 66 °C.

Acidez - Mezclar 5,0 ml con 10 ml de agua y 1 gota de rojo de metilo (SR): cualquier color rosado producido cambia a amarillo por el agregado de no más de 0,25 ml de hidróxido de sodio 0,020 N.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa.* No más de 0,1 %.

Residuo de evaporación - Evaporar 10 ml (12 g) en un baño de vapor hasta sequedad y secar el residuo a 105 °C durante 1 hora: si contiene un conservante, el peso del residuo no es mayor de 2 mg. Si no se declara ningún conservante en el rótulo, el peso del residuo no es mayor de 1 mg.

Tetrahidrofurano libre de estabilizador - Emplear uno de grado apropiado.

1,2,3,4-Tetrahidronaftaleno - C₁₀H₁₂ - (PM: 132,2) - Líquido incoloro.

Índice de refracción <230> - 1,5401, a 20 °C.

Tetrakis [3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato] de pentaeritritilo - C₇₃H₁₀₈O₁₂ - (PM: 1.178) - Polvo cristalino blanco a ligeramente amarillento. Prácticamente insoluble en agua; muy soluble en acetona; soluble en metanol; poco soluble en hexano.

Intervalo de fusión - Entre 110 a 125 °C.

Forma α - 120 a 125 °C.

Forma β - 110 a 115 °C.

1,1,3,3-Tetrametilbutilamina - (*ter*-Octilamina) - (PM: 129,3) - (CH₃)₃CCH₂C(CH₃)₂NH₂ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

4,4'-Tetrametildiaminodifenilmetano - [*4,4'*-Metilenbis(*N,N*-dimetilnilina)] - (PM: 254,4) [(CH₃)₂NC₆H₄]₂CH₂ - Cristales casi blancos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 87 y 90 °C.

Tetrametiletilendiamina - (PM: 116,2) - (CH₃)₂NCH₂CH₂N(CH₃)₂ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Tetrametilsilano - (CH₃)₄Si - (PM: 88,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Tetróxido de osmio - (*Ácido ósmico; Anhídrido perósmico*) - OsO₄ - (PM: 254,2) - Gránulos cristalinos o cristales incoloros o algo amarillos, higroscópicos. De olor pungente. Se descompone a la luz. Lentamente soluble en agua; soluble en alcohol y éter, con descomposición. Se ablanda aproximadamente a 35 °C, funde entre 40 y 42 °C y el punto de ebullición es aproximadamente 130 °C.

Precaución - Los vapores de Tetróxido de osmio son venenosos y altamente irritantes para los ojos y las membranas respiratorias.

Solubilidad - Disolver 200 mg en 1 ml de tetracloruro de carbono: se obtiene una solución transparente y apenas amarilla y no se observa residuo insoluble apreciable.

Materia no volátil - Evaporar la solución remanente del ensayo para *Solubilidad* en un baño de vapor en una campana extractora bien ventilada

hasta sequedad y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 0,4 mg (0,2 %).

Metales pesados - Al residuo del ensayo para *Materia no volátil* agregar 2 ml de ácido clorhídrico y evaporar la solución hasta sequedad. Tomar el residuo con unos ml de agua, diluir con agua a 25 ml y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): cualquier color pardo producido no es más oscuro que el de un control que contiene 0,01 mg de Pb (0,005 %).

Tierra cromatográfica silanizada lavada con ácido y base - Emplear uno de grado apropiado.

Tierra de diatomeas calcinada - Forma de sílice (SiO₂) que consiste en frústulas y fragmentos fundidos de diatomeas. Es un polvo amorfo, fino, claro rosado o blanco. Insoluble en agua, ácidos y en soluciones diluidas de hidróxidos alcalinos.

Pérdida por ignición - Pesar exactamente 4 g y someter a ignición hasta peso constante: no pierde más de 10,0 % de su peso.

Impurezas orgánicas - No se oscurece apreciablemente con la calcinación.

Pérdida por secado <680> - Secar a 110 °C durante 2 horas: no pierde más de 2,0 % de su peso.

Tierra de diatomeas calcinada y fundida - Emplear uno de grado apropiado.

Tierra de diatomeas silanizada - Emplear uno de grado apropiado.

Tierra de Fuller para cromatografía - (*Muy fina y moderadamente gruesa*) - Polvo o gránulos de color gris o blanco grisáceo constituido principalmente por silicato hidratado de aluminio-magnesio.

Determinación del tamaño de partícula - (ver 290. *Distribución del tamaño de partícula en polvos*).

Materia soluble - 20 g, tratados con 50 ml de agua fría y filtrados, producen no más de 60 mg de residuo al evaporar el filtrado (0,3 %). Una segunda porción de 20 g, tratada con 50 ml de alcohol frío y filtrada, produce no más de 14 mg al evaporar el filtrado (0,07%).

Pérdida por secado <680> - Secarlo a 105 °C durante 6 horas: pierde entre 7,0 y 10,0 % de su peso.

[NOTA: ajustar el contenido de agua, si fuera necesario, secando al vacío a temperatura ambiente, restaurando el agua requerida y equilibrando mediante agitación durante 2 horas.]

Tierra sílicea para cromatografía - Para cromatografía de gases, emplear un grado especialmente preparado que reúna la siguiente descripción general: tierra sílicea purificada de tamaño de partí-

cula apropiado que haya sido lavada con ácido y/o base. Puede ser silanizada o no.

Para cromatografía de partición en columna es esencial que el material esté exento de sustancias interferentes. Si se conoce o se piensa que existen interferencias, purificar el material del siguiente modo: colocar una torunda de lana de vidrio en la base de una columna cromatográfica que posea un diámetro de 100 mm o mayor y agregar la *Tierra sílicea purificada* a una altura igual a 5 veces el diámetro de la columna. Agregar un volumen de ácido clorhídrico equivalente a un tercio del volumen de la tierra sílicea y dejar percolar el ácido a través de la columna. Lavar la columna con metanol, emplear volúmenes pequeños al principio para lavar las paredes de la columna y continuar lavando con metanol hasta que el último lavado sea neutro al papel de tornasol humedecido. Extruir la columna lavada en un cristizador, calentar en un baño de vapor para remover el exceso de metanol y secar a 105 °C hasta que el material se reduzca a polvo y esté exento de trazas de metanol. Almacenar el material seco en envases bien cerrados.

Tierra sílicea silanizada para cromatografía - Transferir aproximadamente 450 g de tierra sílicea purificada a un cristizador de vidrio abierto y colocarlo en un desecador al vacío que contenga 30 ml de un silanizante apropiado, por ej., una mezcla de dimetildiclorosilano y trimetilclorosilano (1:1) o una mezcla de dimetildiclorosilano y metiltriclorosilano (2:1). Aplicar vacío intermitentemente durante varias horas, hasta que no quede silano líquido. Suspender la tierra sílicea purificada tratada en agua y agitar suavemente para dejar decantar cualquier partícula no recubierta. Recolectar el material silanizado de la superficie, lavar en un embudo de vidrio sinterizado con metanol caliente hasta que el filtrado no sea ácido y secar a 110 °C.

Timol - C₆H₃[CH₃][OH][CH(CH₃)₂]_{1,3,4} - (PM: 150,2) - Cristales incoloros, a menudo grandes o polvo blanco, cristalino, que posee un olor aromático. Es afectado por la luz. Tiene mayor densidad que el agua, pero cuando se licúa por fusión es menos denso que el agua. Sus soluciones alcohólicas son neutras al tornasol. Muy poco soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol, cloroformo, éter y aceite de oliva. Soluble en ácido acético glacial y en aceites fijos o volátiles. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto.

Intervalo de fusión <260> - Entre 48 y 51 °C, pero cuando se funde permanece líquido a una temperatura considerablemente inferior.

Materia no volátil - Volatilizar 2 g en un baño de vapor y secar a 105 °C hasta peso constante: el residuo no pesa más de 1 mg (0,05 %).

Tioacetamida - C_2H_5NS - (PM: 75,1) - Emplear uno de grado apropiado.

Tiocianato de amonio - NH_4SCN - (PM: 76,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Tiocianato de potasio - $KSCN$ - (PM: 97,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Tiocianato mercuríco - $Hg(SCN)_2$ - (PM: 316,8) - Polvo cristalino blanco. Muy poco soluble en agua; soluble en soluciones de cloruro de sodio; poco soluble en alcohol y éter.

2,2'-Tiodietanol - $(HOCH_2CH_2)_2S$ - (PM: 122,2) - Líquido amarillo pálido a incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 1,83 m \times 4 mm con 10 % de fase estacionaria constituida por un compuesto de polietilenglicol TPA (polietilenglicol de alto peso molecular y un diepóxido que se esterifica con ácido tereftálico); sobre un soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener la columna, el inyector y el detector a aproximadamente 200, 250 y 310 °C, respectivamente. Contiene no menos de 98 % de $C_4H_{10}O_2S$.

Índice de refracción - Entre 1,4250 y 1,4270, a 20 °C.

3,3'-tiodipropionato de didodecilo - $C_{30}H_{58}O_4S$ - (PM: 514,8) - Polvo cristalino blanco. Prácticamente insoluble en agua; fácilmente soluble en acetona y éter de petróleo; poco soluble en alcohol. Punto de fusión: aproximadamente a 39 °C.

3,3'-tiodipropionato de dioctadecilo - $C_{42}H_{82}O_4S$ - (PM: 683) - Polvo cristalino blanco. Prácticamente insoluble en agua; fácilmente soluble en cloruro de metileno; soluble en acetona, alcohol y éter de petróleo. Intervalo de fusión: entre 58 y 67 °C.

Tioglicolato de sodio - $HSCH_2COONa$ - (PM: 114,1) - Polvo cristalino blanco, de olor leve característico. Muy soluble en agua; poco soluble en alcohol. Es higroscópico, se oxida al aire. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto. No debe emplearse si presenta color amarillo pálido o más oscuro.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 250 mg y disolver en 50 ml de agua libre de oxígeno.

no. Agregar 5 ml de ácido clorhídrico diluido, calentar a ebullición durante 2 minutos, enfriar y titular la solución con iodo 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Cada mililitro de iodo 0,1 N equivale a 11,41 mg de HSC_2COONa . Contiene no menos de 75 %.

Materia insoluble - Una solución de 1 g en 10 ml de agua es transparente y la disolución es prácticamente completa.

Sulfuro - Disolver 500 mg en 10 ml de agua en un matraz apropiado, agregar 2 ml de ácido clorhídrico, luego colocar una tira de papel de filtro, humedecido en acetato de plomo (SR), sobre la boca del matraz y llevar a ebullición la solución: no se oscurece el papel de acetato de plomo.

Tiosulfato de sodio - $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ - (PM: 248,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Tiourea - $(NH_2)_2CS$ - (PM: 76,1) - Cristales blancos, inodoros o polvo blanco, cristalino. Soluble en agua y alcohol.

Valoración - Transferir 1 g, exactamente pesado, a un matraz aforado de 250 ml, disolver en 50 ml de agua y completar a volumen con agua. Transferir 20 ml de la solución bien mezclada a un matraz apropiado y agregar 25,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV) y 10 ml de amoníaco (SR). Agitar vigorosamente durante 2 minutos, calentar a ebullición y enfriar. Agregar 60 ml de ácido nítrico diluido, agitar vigorosamente, filtrar y lavar el residuo con agua. Agregar 2 ml de sulfato férrico amónico (SR) al filtrado y lavados combinados y titular con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 3,806 mg de $(NH_2)_2CS$. Contiene no menos de 99 %.

Solubilidad - Una solución de 1 g en 20 ml de agua es transparente e incolora y se disuelve completamente.

Intervalo de fusión <260> - *Método I*. Entre 176 y 182 °C.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 2 horas: no pierde más de 0,5 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1,5 mg (0,15 %).

Sensibilidad - Disolver 280 mg de subnitrato de bismuto en 12 ml de ácido nítrico y diluir con agua a 200 ml. Diluir 1 ml de esta solución con agua a 100 ml y agregar a 10 ml de la dilución 1 ml de solución muestra (1 en 5): se produce inmediatamente un color amarillo característico.

L-Tirosina - $C_9H_{11}NO_3$ (PM: 181,2) - Polvo cristalino blanco o casi blanco, cristales blancos o incoloros. Prácticamente insoluble en acetona y etanol; ligeramente soluble en agua, fácilmente

soluble en ácido clorhídrico diluido y en soluciones de hidróxidos alcalinos.

L-Tiroxina sódica - Emplear *Levotiroxina sódica*.

Titanio - Ti - (PA: 47,88) - Contiene no menos de 99,0 % de Ti. Metal en polvo, hilo delgado (diámetro no superior a 0,5 mm) o en esponja. Punto de fusión: aproximadamente a 1668 °C. Densidad: aproximadamente 4,507 g por cm³.

o-Tolidina - (4, 4'-Diamino-3, 3'-dimetilbifenil) - (NH₂)(CH₃)C₆H₃ . C₆H₃(CH₃)(NH₂)-4,3,3N,4N - (PM: 212,3) - Cristales o polvo cristalino blanco a rojizo. Poco soluble en agua; soluble en alcohol, éter y en ácidos diluidos. Conservar en envases inactivos de cierre perfecto.

Precaución - Evitar el contacto con o-tolidina y mezclas que contengan o-tolidina y realizar todos los ensayos bajo campana extractora bien ventilada.

Intervalo de fusión <260> - Entre 129 y 131 °C.

Tolualdehído - (*o-Tolualdehído*) - C₈H₈O - (PM: 120,2) - Emplear uno de grado apropiado.

p-Tolualdehído - C₈H₈O - (PM: 120,2) - Líquido incoloro a amarillo claro.

Valoración - Analizar por cromatografía de gas-líquido empleando un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,8 m × 3 mm con 5 % de fase estacionaria constituida por poliéster de succinato de dietilenglicol, sobre un soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na₂CO₃ y calcinada a 900 °C. [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el detector, la columna y el inyector a aproximadamente 125, 125 y 205 °C, respectivamente. Se emplea nitrógeno como gas transportador con un caudal de aproximadamente 12 ml por minuto. La muestra es una solución al 5 % en disulfuro de carbono. Presenta una pureza no menor a 98 %.

Índice de refracción <230> - Entre 1,544 y 1,546, a 20 °C.

Tolueno - C₆H₅CH₃ - (PM: 92,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Toluensulfonamida - (*4-metilbencenosulfonamida; p-toluensulfonamida*) - C₇H₉NO₂S - (PM: 171,2) - Polvo blanco cristalino. Soluble en alcohol y soluciones de hidróxidos alcalinos; muy poco soluble en agua y éter.

Punto de fusión - Aprox.136 °C.

o-Toluensulfonamida - (*2-metilbencenosulfamida*) - C₇H₉NO₂S - (PM: 171,2) - Polvo blanco cristalino. Soluble en alcohol y soluciones de hidróxidos alcalinos; muy poco soluble en agua y éter.

Punto de fusión - Aprox.156 °C.

p-Toluensulfonamida - Ver Toluensulfonamida.

o-Toluidina - (*2-Aminotolueno; 2-Metilanilina*) - C₆H₄(CH₃)(NH₂)-1,2 - (PM: 107,2) - Líquido amarillo claro que se transforma en rojizo pardo al exponerlo al aire y la luz. Poco soluble en agua; soluble en alcohol, éter y en ácidos diluidos. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto.

Densidad relativa <160> - Aproximadamente 1,008, a 20 °C.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 200 y 202 °C.

p-Toluidina - C₇H₉N - (PM: 107,2) - Cristales o escamas blancas a tostadas. Fácilmente soluble en alcohol, acetona, metanol y en ácidos diluidos; poco soluble en agua.

Valoración - Disolver 400 mg, exactamente pesados, en 100 ml de ácido acético glacial y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 10,72 mg de CH₃C₆H₄NH₂. Contiene no menos de 98 %, calculado sobre la sustancia seca.

Pérdida por secado - Pesar exactamente alrededor de 1 g y secar a 30 °C hasta peso constante: no pierde más de 2 % de su peso.

Tornasol - Un pigmento azul obtenido a partir de diversas especies de *Rocella decandolle*, *Lecanora acharius* u otros líquenes (Fam. Parmeliaceae).

Descripción - Cubos, masas, fragmentos o gránulos, de color azul índigo o violeta profundo. Tiene un olor combinado de índigo y violetas y colorea la saliva de color azul profundo. Las sustancias indicadoras que contiene son solubles en agua y menos solubles o insolubles en alcohol.

Ceniza - Produce no más de 60,0 % de ceniza.

n-Triacontano - C₃₀H₆₂ - (PM: 422,8) - Emplear uno de grado apropiado.

2,4,6-Triamino-5-nitrosopirimidina - C₄H₆N₆O - (PM: 154,1) - Polvo rosado.

Valoración - Disolver aproximadamente 34 mg, exactamente pesados, en 50 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV),

determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 15,41 mg de $C_4H_6N_6O$. Contiene no menos de 97 %.

Tributirina - (*Tributirato de glicerilo*) - $C_{15}H_{26}O_6$ - (PM: 302,4) - Líquido incoloro, aceitoso. Insoluble en agua; muy soluble en alcohol y éter.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,8 m × 3 mm con una fase estacionaria constituida por poliéster de succinato de dietilenglicol, sobre un soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C. [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 270 y 300 °C, respectivamente. Se emplea nitrógeno como gas transportador. El área del pico de tributirina no es menor de 98 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,4345 y 1,4365, a 20 °C.

Contenido de ácido - Transferir 1,0 g, exactamente pesado, a un vaso de precipitados, agregar 75 ml de metanol y disolver por agitación. Cuando la disolución es completa, agregar 25 ml de agua y titular con hidróxido de potasio 0,05 N (SV), empleando fenolftaleína (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de potasio 0,05 N equivale a 88,1 mg de ácido butírico. Contiene no más de 0,5 %.

Tricetohidrendeno monohidrato - Ver Nihidrina.

Tricloroetano - Ver Metilcloroformo.

Triclorofluorometano - CCl_3F - (PM: 137,4) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de conductividad térmica y una columna de vidrio de 1,8 m × 2,0 mm con 10 % de fase estacionaria constituida por aceite de dimetilpolisiloxano, sobre un soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C. [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutra-

lidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 50 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 0 °C y se programa un ascenso de 3 °C por minuto hasta 50 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de CCl_3F no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,380 y 1,384, a 20 °C.

Triclorotrifluoroetano - Emplear uno de grado apropiado.

Tricloruro de antimonio - (*Cloruro antimonioso*) - $SbCl_3$ - (PM:228,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Tricloruro de titanio - (*Cloruro titanoso*) - $TiCl_3$ - (PM: 154,2) - Polvo negro, higroscópico, inestable al aire. Soluble en agua, la solución deposita ácido tánico en contacto con el aire. Está disponible generalmente como soluciones acuosas del 15 al 20 %, violeta-azul oscuras. Almacenar la solución en botellas bien cerradas, de vidrio inactivo con tapón.

n-Tricosano - $C_{23}H_{48}$ - (PM: 324,6) - Masa incolora o blanca, más o menos translúcida, mostrando una estructura cristalina. Inodoro o prácticamente inodoro. Tiene un aspecto algo grasoso. Insoluble en agua y alcohol; soluble en cloroformo, éter, aceites volátiles y la mayoría de los aceites fijos calientes; poco soluble en alcohol absoluto. Hierve a aproximadamente 380 °C.

Intervalo de fusión <260> - Entre 47 y 49 °C.

Aptitud - Determinar su aptitud en el ensayo para *Sustancias relacionadas en Clorhidrato de dextropropoxifeno* del siguiente modo. Disolver una cantidad apropiada en cloroformo para obtener una solución que contiene 20 µg por ml. Procediendo según se indica en el ensayo para *Sustancias relacionadas en Clorhidrato de dextropropoxifeno*, inyectar un volumen apropiado de la solución en el cromatógrafo y registrar el cromatograma de la *Solución estándar* preparada según se indica en el ensayo para *Sustancias relacionadas*: sólo un pico principal se obtiene a partir de la solución de n-tricosano y no se observan picos menores a, o cerca de, los picos obtenidos para dextropropoxifeno, acetoxi, o carbinol en el cromatograma de la *Solución estándar*.

Trietanolamina - Emplear *Trolamina*.

Trietilamina - $(C_2H_5)_3N$ - (PM: 101,2) - Líquido incoloro, de fuerte olor amoniacal. Poco soluble

en agua. Miscible con alcohol, éter y agua fría. Almacenar en envases bien cerrados.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 89 y 90 °C.

Absorbancia - Transferir 1 ml a un matraz aforado de 50 ml, agregar 10 ml de metanol y 1 ml de ácido clorhídrico y completar a volumen con cloroformo. La absorbancia de esta solución, determinada a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 285 nm, con un espectrofotómetro apropiado, no excede 0,01. [NOTA: si la absorbancia excede 0,01, purificar la trietilamina del siguiente modo: calentar a reflujo 100 ml con 20 ml de agua y 2 g de hidrosulfito de sodio durante no menos de 8 horas, lavar con agua, secar por reflujo, empleando una trampa de Dean-Stark y destilar, recolectar sólo los primeros 75 ml de filtrado. Almacenar sobre carbonato de sodio anhidro o carbonato de potasio anhidro.]

Trietilenglicol - $C_6H_{14}O_4$ - (PM: 150,2) - Líquido incoloro a amarillo pálido. Es higroscópico. Miscible con agua, alcohol y tolueno.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,85 m × 3 mm con un soporte constituido por un copolímero de estireno-divinilbenceno con un área superficial nominal de menos de 50 m² por g y un diámetro de poro promedio de 0,3 a 0,4 µm. Mantener el inyector, la columna y el detector a aproximadamente 250, 230 y 310 °C, respectivamente. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico $C_6H_{14}O_4$ no es menor de 97 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,4550 y 1,4570, a 20 °C.

Trifenilmetano - $C_{19}H_{16}$ - (PM: 244,3) - Polvo marrón claro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m × 0,25 mm recubierta con una capa de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano de 1 µm. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 300 °C. La temperatura de la columna se mantiene a 200 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 300 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de $C_{19}H_{16}$ no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 92 y 94 °C.

2,2,2-Trifluoroetanol - CF_3CH_2OH - (PM: 100,0) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*)

equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m × 0,25 mm recubierta con una capa de 1 µm de una fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 100 y 150 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 0 °C y se programa un ascenso de 10°C por minuto hasta alcanzar 150 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de CF_3CH_2OH no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión - Entre 77 y 80 °C.

2,2,2-Trifluoroetildifluorometil éter - (*Difluoro-metil-2,2,2-trifluoroetil éter*) - $C_3H_3F_5O$ - (PM: 150,1) - Líquido transparente. Emplear uno de grado apropiado.

Intervalo de fusión <260> - Entre 28 y 30 °C.

5-(Trifluorometil)uracilo - $C_5H_3F_3N_2O_2$ - (PM: 180,1) - Polvo blanco a casi blanco.

Identificación -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol y ácido acético (17:2:1).

Procedimiento - Examinar los cromatogramas bajo luz ultravioleta a 366 nm. Se debe observar una única mancha.

Trifluoruro de boro - BF_3 - (PM: 67,8) - Emplear uno de grado apropiado.

Trimetilclorosilano - Ver Clorotrimetilsilano.

2,2,4-Trimetilpentano - (*Isooctano*) - C_8H_{18} - (PM: 114,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

2,4,6-Trimetilpiridina - (*5-Colidina*) - $C_8H_{11}N$ - (PM: 121,2) - Líquido claro, incoloro, de olor aromático. Soluble en agua fría y menos soluble en agua caliente; soluble en alcohol, cloroformo y metanol. Miscible con éter.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,85 m × 3 mm con una fase estacionaria constituida por un compuesto de polietilenglicol (p.m.p aproximadamente 15.000 [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido]), sobre un soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C. [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido

luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el inyector, la columna y el detector a aproximadamente 180, 165 y 270 °C, respectivamente. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico $C_8H_{11}N$ no es menos de 98 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,4970 y 1,4990, a 20 °C.

N-(Trimetilsilil)-imidazol - $C_6H_{12}N_2Si$ - (PM: 140,3) - Líquido transparente, incoloro a amarillo claro.

Índice de refracción - Entre 1,4744 y 1,4764, a 20 °C.

3-(Trimetilsilil)-1-propano sulfonato de sodio - (2,2-Dimetil-2-silapentano-5-sulfonato sódico) - $C_6H_{15}SiNaO_3S$ - (PM: 218,3) - Emplear uno de grado apropiado.

Trinitrofenol - Ver Ácido pícrico.

Trióxido de arsénico - As_2O_3 - (PM: 197,8) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Trióxido de cromo - CrO_3 - (PM: 100,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

L-Triptofano - $C_{11}H_{12}N_2O_2$ - (PM: 204,2) - Laminillas o polvo blanco o ligeramente amarillo. Poco soluble en alcohol y agua; soluble en ácidos diluidos y en soluciones de hidróxidos alcalinos.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 300 mg, disolverlos en una mezcla de 3 ml de ácido fórmico y 50 ml de ácido acético glacial, agregar 2 gotas de cristal violeta (SR). Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) hasta punto final verde. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 20,42 mg de $C_{11}H_{12}N_2O_2$. Contiene entre 98,0 y 102,0 %, calculado sobre la sustancia seca.

Rotación específica <170> - Entre -30,0° y -33,0°, determinado en una solución que contiene 1,0 g de muestra, previamente secada a 105 °C durante 3 horas, en 100 ml.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 3 horas: no pierde más de 0,3 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,1 %.

Tirosina - Disolver 100 mg en 3 ml de ácido sulfúrico diluido, agregar 10 ml de sulfato mercúrico (SR) y calentar en un baño de vapor durante 10 minutos. Filtrar, lavar con 5 ml de sulfato mercúrico (SR) y agregar al filtrado combinado 0,5 ml de solución de nitrito de sodio (1 en 20): no se produce color rojo dentro de los 15 minutos.

Triptona - Emplear Digerido pancreático de caseína.

Tris(2-aminoetil)amina - $C_6H_{18}N_4$ - (PM: 146,2) - Líquido amarillo. Soluble en metanol.

Valoración - Disolver aproximadamente 80 mg en 30 ml de metanol. Agregar 40 ml de agua y titular con ácido clorhídrico 1 N, determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido clorhídrico 1 N equivale a 48,75 mg de $C_6H_{18}N_4$. Contiene no menos de 98,0%.

Índice de refracción - Entre 1,4956 y 1,4986, a 20 °C.

1,3,5-tris(3,5-di-ter-butil-4-hidroxibencil)-s-triazina-2,4,6-(1H,3H,5H) triona - $C_{48}H_{69}N_3O_6$ - (PM: 784,1) - Polvo blanco cristalino.

Intervalo de fusión - Entre 218 y 222 °C.

Tris(hidroximetil)aminometano - Emplear un reactivo analítico apropiado. Ver Trometamina.

Trombina bovina - Preparación de una enzima obtenida a partir de plasma bovino y capaz de transformar el fibrinógeno en fibrina. Polvo blanco amarillento. Conservar a una temperatura menor de 0 °C.

Trombina humana - Trombina humana desecada. Es una preparación de una enzima que transforma el fibrinógeno humano en fibrina. Se obtiene a partir de plasma humano líquido y puede prepararse por precipitación con sales apropiadas y solventes orgánicos en condiciones controladas de pH, fuerza iónica y temperatura. Polvo blanco amarillento. Fácilmente soluble en una solución de 9 mg de cloruro de sodio por ml, dando una solución turbia, amarillo pálido.

Tromboplastina - Polvo color amarillo ligero o suspensión opalescente o turbia. Presenta actividad tromboquinasa obtenida a partir del cerebro y/o tejido del pulmón, extraído con acetona, de conejos recientemente sacrificados. Puede contener cloruro de sodio y cloruro de calcio en proporciones apropiadas y puede contener un conservante apropiado. Puede tener el olor característico de tejido animal seco. Se emplea en forma de suspensión para la determinación del tiempo y actividad de protrombina en sangre. Su actividad tromboquinasa es tal que da un tiempo de coagulación entre 11 a 16 segundos con plasma humano normal y concentración apropiada de iones de calcio. Almacenar en envases de cierre perfecto, preferentemente a una temperatura debajo de 5 °C.

Pérdida por secado <680> - [NOTA: este ensayo es aplicable sólo a la forma seca.] Secar al vacío

a 60°C durante 6 horas: no pierde más de 5,0 % de su peso.

Trometamina -

[Tris(hidroxi metil)aminometano; THAM; 2-Amino-2-(hidroxi metil)-1,3-propanodiol] - $C_4H_{11}NO_3$ - (PM: 121,1) - Emplear Tris(hidroxi metil)amino metano grado analítico.

Tropeolina OO - (*Naranja ácido 5*) - (PM: 375,4) - $C_{18}H_{14}N_3NaO_3S$ - Escamas amarillo anaranjadas o polvo amarillo. Soluble en agua.

Intervalo de pH - Entre 1,4 (rojo) y 2,6 (amarillo).

Tungstato sódico - $Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$ - (PM: 329,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

U

Uracilo - $C_4H_4N_2O_2$ - (PM: 112,1) - Polvo cristalino color blanco o crema. Funde encima de 300 °C. Poco soluble en agua; menos soluble en alcohol; soluble en amoníaco (SR) y en hidróxido de sodio (SR). Sus soluciones no producen precipitado con los precipitantes usuales de alcaloides.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 100 mg.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 2 horas: no pierde más de 2 % de su peso.

Urea - NH_2CONH_2 - (PM: 60,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Uretano - (*Carbamato de etilo*) - $C_3H_7NO_2$ - (PM: 89,1) - Polvo blanco con pequeños trozos. Fácilmente soluble en agua.

Intervalo de fusión <260> - Entre 48 y 50 °C.

Uridina - $C_9H_{12}N_2O_6$ - (PM: 244,2) - Polvo blanco.

Valoración -

Fase móvil - Metanol y acetato de amonio 0,2 M (90:10), ajustar con ácido fosfórico a pH 7,0.

Procedimiento - Inyectar aproximadamente 20 µl en un equipo para cromatografía de líquidos (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 15 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice porosa de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal es de aproximadamente 2,0 ml por minuto. El área del pico $C_9H_{12}N_2O_6$ no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 166 y 171 °C.

V

Vainillin - [4-hidroxi - 3-metoxibenzaldehído] - $C_8H_8O_3$ - (PM: 152,2)

Valerofenona - $C_{11}H_{14}O$ - (PM: 162,2) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar recubierta con una capa de $1\ \mu\text{m}$ de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 300°C. Se emplea helio como gas transportador. La respuesta del pico $C_{11}H_{14}O$ no debe ser menor de 98 % de la respuesta total.

Índice de refracción <230> - Aproximadamente 1,5149, a 20 °C.

Intervalo de ebullición - Entre 105 y 107 °C, a una presión de 5 mm Hg.

Vanadato de amonio - (*Metavanadato de amonio*) - NH_4VO_3 - (PM: 117,0) - Polvo blanco, cristalino. Poco soluble en agua fría; soluble en agua caliente y amoníaco (SR).

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 500 mg, transferirlos a un envase apropiado, agregar 30 ml de agua y 2 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 4), agitar por rotación hasta disolver y hacer pasar dióxido de azufre gaseoso a través de la solución hasta que la solución se torne color azul brillante. Calentar a ebullición suavemente mientras se hace pasar una corriente de dióxido de carbono a través de la solución para eliminar el dióxido de azufre en exceso y luego enfriar. Titular con permanganato de potasio 0,1 N (SV). Cada mililitro de permanganato de potasio 0,1 N consumido equivale a 11,7 mg de NH_4VO_3 . Contiene no menos de 98,0 %.

Solubilidad en hidróxido de amonio - Disolver 1 g en una mezcla de 3 ml de hidróxido de amonio y 50 ml de agua caliente: la solución es transparente e incolora.

Carbonato - A 500 mg agregar 1 ml de agua y 2 ml de ácido clorhídrico diluido: no se produce efervescencia.

Cloruro - Disolver 250 mg en 40 ml de agua caliente, agregar 2 ml de ácido nítrico y dejar reposar durante 1 hora. Filtrar y agregar al filtrado 0,5 ml de nitrato de plata (SR): si se produce turbidez no debe

exceder la de un blanco conteniendo 0,5 mg de Cl (0,2 %).

Sulfato - Disolver 500 mg en 50 ml de agua caliente y agregar 2 ml de ácido clorhídrico diluido y 1,5 g de clorhidrato de hidroxilamina. Calentar a 60 °C durante 3 minutos, filtrar, enfriar y agregar al filtrado 2 ml de cloruro de bario (SR): no se produce turbidez o precipitado alguno dentro de 30 minutos.

Verde brillante - (*Verde de malaquita G*) - $C_{27}H_{34}N_2O_4S$ - (PM: 482,6) - Cristales brillantes color amarillo oro. Soluble en agua y alcohol. Máximo de absorción a 623 nm.

Verde de malaquita G - Ver Verde brillante.

1-Vinil-2-pirrolidona - (*1-Vinil-pirrolidin-2-ona*) - C_6H_9NO - (PM: 111,1) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de $1\ \mu\text{m}$ de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 100 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 250 °C. Se emplea helio como gas transportador. La respuesta del pico de C_6H_9NO no debe ser menor de 99,0 % de la respuesta total.

Violeta de p-iodonitrotetrazolio - [*Cloruro de 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-feniltetrazolio*] - $C_{19}H_{13}ClIN_5O_2$ - (PM: 505,7) - Polvo de color amarillo claro.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Alcohol amílico, ácido fórmico y agua (8:1:1).

Revelador - Solución de tiosulfato de sodio al 0,1%.

Procedimiento - Pulverizar con *Revelador* sobre la placa y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm. Presenta una sola mancha, con trazas de impurezas.

Punto de fusión <260> - Aprox. 240 °C, con descomposición.

X

Xantidrol - $C_{13}H_{10}O_2$ - (PM: 198,2) - Polvo cristalino amarillo pálido. Insoluble en agua; soluble en alcohol, cloroformo y éter. Soluble en ácido acético glacial, dando una solución prácticamente incolora; cuando el polvo se trata con ácido clorhídrico diluido, se produce un color amarillo limón.

Intervalo de fusión <260> - Entre 121 y 123 °C.

Residuo de ignición <270> - Someter a ignición 500 mg con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 10 mg (2,0 %).

Xantina - $C_5H_4N_4O_2$ - (PM: 152,1) - Polvo blanco, cristalino. Se descompone con el calentamiento. Poco soluble en agua y alcohol; soluble en hidróxido de sodio (SR); moderadamente soluble en ácido clorhídrico diluido. Cuando se somete a la reacción de murexida se produce un color púrpura con el amoníaco; con el agregado posterior de hidróxidos alcalinos, el color no desaparece pero cambia a violeta.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 100 mg.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 2 horas: no pierde más de 1 % de su peso.

Xileno - C_8H_{10} - (PM: 106,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

m-Xileno - C_8H_{10} - (PM: 106,2) - (*1,3-dimetilbenceno*) - Líquido inflamable, límpido e incoloro. Miscible con alcohol y éter. Prácticamente insoluble en agua.

Densidad relativa - Aprox. 0,884 a 20 °C.

Índice de refracción <230> - Aprox. 1,497 a 20 °C.

Punto de ebullición - Aprox. 139 °C.

Punto de fusión - Aprox. - 47 °C.

o-Xileno - C_8H_{10} - (PM: 106,2) - Líquido transparente, incoloro, móvil e inflamable. Insoluble en agua; miscible con alcohol y éter.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,8 m x 3 mm empacada con 1,75 % de silicato de aluminio hidratado más 5,0 % de diisododecil ftalato sobre un soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C. [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los

grupos silanoles superficiales]. Mantener el detector, el inyector y la columna a aproximadamente 280, 180 y 80 °C, respectivamente. Se emplea helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 27,5 ml por minuto. Presenta una pureza no menor de 95 %.

Índice de refracción - Entre 1,5040 y 1,5060, a 20 °C.

p-Xileno - C_8H_{10} - (PM: 106,2) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m x 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μ m de una fase estacionaria constituida por polietilenglicol (p.m.p de 950 a 1.050). Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 130 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 50 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 100 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de C_8H_{10} no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,493 y 1,497, a 20 °C.

Xileno cianol FF - $C_{25}H_{27}N_2NaO_6S_2$ - (PM: 538,6) - Polvo de color gris azulado a azul oscuro. Soluble en agua.

Valoración - Transferir aproximadamente 50 mg, exactamente pesados, a un matraz aforado de 100 ml, disolver en agua, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 2,0 ml de la solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con solución reguladora de fosfato pH 7,0 (ver *Soluciones reguladoras*) y mezclar. Determinar la absorbancia de la solución en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente a 614 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando agua como blanco. Calcular la absorbancia (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*): la absorbancia no es menor de 55,9, correspondiendo aproximadamente a 83 % de $C_{25}H_{27}N_2NaO_6S_2$.

Pérdida por secado <680> - Secar a 110 °C hasta peso constante: no pierde más de 6,0 % de su peso.

Xilosa - $C_5H_{10}O_5$ - (PM: 150,1) - Emplear un grado apropiado.

INDICADORES, PAPELES Y PAPELES INDICADORES

INDICADORES

Los indicadores se emplean en los ensayos y valoraciones de este compendio para indicar la finalización de una reacción química en el análisis volumétrico o para indicar la concentración de ion hidrógeno (pH) de las soluciones. Las soluciones indicadoras necesarias se enumeran entre las *Soluciones de reactivos*, abreviadas como (SR).

Las soluciones de indicadores básicos y del grupo de las ftaleínas se preparan mediante disolución en alcohol. En el caso de indicadores que contienen un grupo ácido, este grupo debe, en primer lugar, neutralizarse con hidróxido de sodio del siguiente modo:

Triturar 100 mg del indicador en un mortero de superficie lisa con el volumen de hidróxido de sodio 0,05 N especificado en las indicaciones para preparar la *Solución de reactivo*, o con el equivalente de hidróxido de sodio 0,02 N. Cuando se ha disuelto el indicador, diluir la solución con agua a 200 ml (0,05%). Almacenar las soluciones en envases inactivos apropiados.

Enumerados en orden ascendente según el límite inferior del intervalo, los indicadores de pH útiles son: azul de timol, pH 1,2 - 2,8; amarillo de metilo, pH 2,9 - 4,0; azul de bromofenol, pH 3,0 - 4,6; verde de bromocresol, pH 4,0 - 5,4; rojo de metilo, pH 4,2 - 6,2; púrpura de bromocresol, pH 5,2 - 6,8; azul de bromotimol, pH 6,0 - 7,6; rojo de fenol, pH 6,8 - 8,2; azul de timol, pH 8,0 - 9,2 y timolftaleína, pH 8,6-10,0.

Alfazorina 2G - Emplear uno de grado apropiado.

Amarillo brillante (C.I. 24.890) - (PM: 592,5) - $C_{26}H_{18}N_4Na_2O_8S$ - Polvo anaranjado o color óxido. Soluble en agua.

Pérdida por secado <680> - Secar al vacío a 60°C durante 1 hora: no pierde más de 5 % de su peso.

Amarillo de metilo - $C_{14}H_{15}N_3$ - (*p*-Dimetilaminoazobenceno) - (PM: 225,3) - Cristales amarillos que funden entre 114 y 117 °C. Insoluble en agua; soluble en alcohol, cloroformo, éter, ácidos minerales diluidos y aceites. Intervalo de transición: de pH 2,9 a 4,0. Cambio de color: de rojo a amarillo.

Azo violeta - [*4*-(*p*-Nitrofenilazo)resorcinol] - $C_{12}H_9N_3O_4$ - (PM: 259,2) - Polvo rojo. Funde aproximadamente a 193 °C, con descomposición.

Azul de bromocresol - Ver Verde de bromocresol.

Azul de bromofenol - $C_{19}H_{10}Br_4O_5S$ - (*3',3'',5',5''*-Tetrabromofenolsulftaleína) - (PM: 670,0) - Cristales rosados. Insoluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones de hidróxidos alcalinos. Intervalo de transición: de pH 3,0 a 4,6. Cambio de color: de amarillo a azul.

Azul de bromofenol sódico - (*Sal sódica de 3',3'',5',5''*-Tetrabromofenolsulftaleína) - ($C_{19}H_9Br_4O_5SNa$) - Cristales rosados. Soluble en agua y en alcohol. Intervalo de transición: de pH 3,0 a 4,6. Cambio de color: de amarillo a azul.

Azul de bromotimol - $C_{27}H_{28}Br_2O_5S$ - (*3',3''*-Dibromotimolsulftaleína) - (PM: 624,4) - Polvo color crema. Insoluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones de hidróxidos alcalinos. Intervalo de transición: de pH 6,0 a 7,6. Cambio de color: de amarillo a azul.

Azul de hidroxinaftol - $C_{20}H_{14}N_2O_{11}S_3$ - (PM: 554,5) - Sal disódica del ácido 1-(2-naftolazo-3,6-disulfónico)-2-naftol-4-sulfónico depositado sobre cristales de cloruro de sodio - Cristales azules pequeños. Fácilmente soluble en agua. En el intervalo de pH entre 12 y 13, su solución es de color rojo rosado en presencia de ion calcio y azul profundo en presencia de edetato disódico en exceso.

Aptitud para la determinación de calcio - Disolver 300 mg en 100 ml de agua, agregar 10 ml de hidróxido de sodio (SR) y 1,0 ml de solución de cloruro de calcio (1 en 200) y diluir con agua a 165 ml: la solución es rojizo rosada. Agregar 1,0 ml de edetato disódico 0,05 M: la solución vira a azul profundo.

Azul de oracet B - (*Solvente azul 19*) - Una mezcla de ($C_{21}H_{16}N_2O_2$) 1-metilamino-4-anilinoantraquinona y de ($C_{20}H_{14}N_2O_2$) 1-amino-4-anilinoantraquinina - Cuando se emplea para titulación en medios no acuosos, su color cambia de azul (básico), púrpura (neutro) a rosado (ácido).

Azul de timol - (*Timolsulftaleína*) - $C_{27}H_{30}O_5S$ (PM: 466,6) - Polvo cristalino de color oscuro. Poco soluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones de álcalis diluidos. *Ácido* - Intervalo de transición: de pH 1,2 a 2,8. Cambio de color: de rojo a amarillo. *Alcalino* - Intervalo de transición:

de pH 8,0 a 9,2. Cambio de color: de amarillo a azul.

Azul nilo, clorhidrato - $C_{20}H_{20}ClN_3O$ - (PM: 353,9) - (*Azul nilo A, como clorhidrato; Cloruro de 5-amino-9-(dietilamino)benzo [a] fenoxazin-7-io*) - Poco soluble en alcohol y en ácido acético glacial. Intervalo de transición: de pH 9,0 a 13,0. Cambio de color: de azul a rosado.

Cristal violeta - (*Cloruro de hexametil p-rosanilina*) - $C_{25}H_{30}ClN_3$ - (PM: 408,0) - Cristales verde oscuro. Poco soluble en agua; moderadamente soluble en alcohol y en ácido acético glacial. Sus soluciones son color violeta profundo.

Sensibilidad - Disolver 100 mg en 100 ml de ácido acético glacial y mezclar. Transferir 1 ml de solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con ácido acético glacial: la solución es color azul-violeta y no presenta un tinte rojizo. Transferir 20 ml de la solución diluida a un vaso de precipitados y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), agregando el ácido perclórico lentamente desde una microbureta: no se consumen más de 0,10 ml de ácido perclórico 0,1 N para producir un color verde-esmeralda.

Fenoltaleína - [*3,3-Bis(p-hidroxifenil)ftalida*] - $C_{20}H_{14}O_4$ - (PM: 318,3) - Polvo blanco o débilmente amarillento blanco, cristalino. Insoluble en agua; soluble en alcohol. Intervalo de transición: de pH 8,0 a 10,0. Cambio de color: de incoloro a rojo.

p-Naftolbenceína - (PM: 374,4) - (4-[α -(4-Hidroxi-1-naftil)bencilideno]-1(4H)-naftalenona) - (4-HOC₁₀H₆C:(C₁₀H₆-4:O)(C₆H₅) - Polvo pardo rojizo. Insoluble en agua; soluble en alcohol, éter y ácido acético glacial. Intervalo de transición: de pH 8,8 a 10,0. Cambio de color: de anaranjado a verde.

Naranja de metilo - (*Heliantina o tropeolina D*) - $C_{14}H_{14}N_3NaO_3S$ - (PM: 327,3) - Sal sódica del ácido dimetilaminoazobenceno sulfónico o dimetilaminoazobenceno sulfonato sódico. Polvo o escamas cristalinas de color amarillo anaranjado. Poco soluble en agua fría; fácilmente soluble en agua caliente; insoluble en alcohol. Intervalo de transición: de pH 3,2 a 4,4. Cambio de color: de rosado a amarillo.

Naranja de xilenol - $C_{31}H_{28}N_2Na_4O_{13}$ - (*N,N'*-[*3H-2,1-Benzoxatiol-3-ilidenbis-(6-hidroxi-5-metil-3,1-fenilen)metilen*]]bis[*N*-(*carboximetil*)glicina] *S,S*-dióxido) - (PM: 760,6) - Polvo anaranjado. Soluble en alcohol y agua. En solución ácida, es color amarillo limón y sus complejos metálicos son intensamente rojos. Proporciona un punto final diferenciado cuando un metal, como por ej., bismuto, cadmio, lantano, plomo,

mercurio, escandio, torio o cinc se titula con edetato disódico.

Negro de eriocromo T - [*1-(1-Hidroxi-2-naftilazo)-5-nitro-2-naftol-4-sulfonato de sodio*] - (PM: 461,4) - $C_{20}H_{12}N_3NaO_7S$ - Polvo negro pardusco que tiene un débil brillo metálico. Soluble en alcohol, metanol y agua caliente.

Sensibilidad - A 10 ml de una solución (1 en 200.000) en una mezcla de partes iguales de metanol y agua agregar solución de hidróxido de sodio (1 en 100) hasta pH 10: la solución es color azul y exenta de turbidez. Agregar 0,01 mg de ion magnesio (Mg): el color de la solución se torna de color rojo violeta y con el agregado continuado de ion magnesio adquiere una coloración rojo vino.

Negro de eriocromo T triturado - Reducir a polvo 200 mg de negro de eriocromo T a polvo fino con 20 g de cloruro de potasio.

Púrpura de bromocresol - (*Dibromo-*o*-cresolsulfotaleína*) - $C_{21}H_{16}Br_2O_5S$ - (PM: 540,2) - Polvo cristalino blanco a rosado. Insoluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones de hidróxidos alcalinos. Intervalo de transición: de pH 5,2 a 6,8. Cambio de color: de amarillo a púrpura.

Púrpura de ftaleína - Ver Púrpura de ftaleína en *Especificaciones de reactivos*.

Rojo congo - Ver Rojo congo en *Especificaciones de reactivos*.

Rojo cresol - (**o*-Cresolsulfotaleína*) - $C_{21}H_{18}O_5S$ - (PM: 382,4) - Polvo rojo-pardo. Poco soluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones diluidas de hidróxidos alcalinos. Intervalo de transición: de pH 7,2 a 8,8. Cambio de color: de amarillo a rojo.

Rojo de fenol - [*4,4'-(3H-2,1-Benzoxatiol-3-iliden)difenol, S,S-dióxido*] - $C_{19}H_{14}O_5S$ - (PM: 354,4) - Polvo cristalino, varía el color de rojo brillante a rojo oscuro. Muy poco soluble en agua; fácilmente soluble en soluciones de carbonatos e hidróxidos alcalinos; poco soluble en alcohol. Intervalo de transición: de pH 6,8 a 8,2. Cambio de color: de amarillo a rojo.

Rojo de metilo - (PM: 305,8) - (*Ácido 2-[[4-(dimetilamino)fenil]azo]benzoico, clorhidrato*) - 2-[4-(CH₃)₂NC₆H₄N:N]C₆H₄COOH] . HCl - Polvo rojo oscuro o cristales de color violeta. Moderadamente soluble en agua; soluble en alcohol. Intervalo de transición: de pH 4,2 a 6,2. Cambio de color: de rojo a amarillo.

Rojo de metilo sódico - (*Sal sódica del ácido 2-[[4-(dimetilamino)fenil]azo] benzoico*) - (PM: 291,3) - 2-[4-(CH₃)₂NC₆H₄N:N]C₆H₄COONa

- Polvo naranja pardusco. Fácilmente soluble en agua fría y alcohol. Intervalo de transición: de pH 4,2 a 6,2. Cambio de color: de rojo a amarillo.

Rojo de quinaldina - (*Ioduro de 5-dimetilamino-2-estiriletil quinolinio*) - $C_{21}H_{23}IN_2$ - (PM: 430,3) - Polvo de color azul oscuro a negro. Moderadamente soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol. Funde aproximadamente a 260 °C, con descomposición. Intervalo de transición: de pH 1,4 a 3,2. Cambio de color: de incoloro a rojo.

Rojo neutro - (*3-Amino-7-dimetilamino-2-metilfenazina monoclóhidrato*) - $C_{15}H_{16}N_4.HCl$ - (PM: 288,8) - Polvo grueso color rojizo a verde aceituna. Moderadamente soluble en agua y alcohol. Intervalo de transición: de pH 6,8 a 8,0. Cambio de color: de rojo a anaranjado.

Sal sódica de púrpura de bromocresol - (PM: 562,2) - $C_{21}H_{15}Br_2O_5SNa$ - Polvo negro. Soluble en agua. Intervalo de transición: de pH 5,0 a 6,8. Cambio de color: de amarillo verdoso a púrpura-violeta.

Intervalo de fusión <260> - Entre 261 y 264 °C.

Sal trisódica del ácido 2-(4-sulfofenilazo)-1,8-dihidroxi-3,6 naftaleno disulfónico - (*Sal trisódica del ácido 4,5-dihidroxi-3-(p-sulfofenilazo)-2,7-naftalenodisulfónico*) - $C_{16}H_9N_2O_{11}S_3Na_3$ - (PM: 570,4) - Polvo rojo. Soluble en agua.

Sal sódica de verde de bromocresol - Emplear uno de grado apropiado.

Sulfito de bismuto - Emplear uno de grado apropiado.

Solución mezcla de azul sulfán y bromuro de dimidium -

Timolftaleína - $C_{28}H_{30}O_4$ - (PM: 430,5) - Polvo cristalino blanco a algo amarillo. Insoluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones de hidróxidos alcalinos. Intervalo de transición: de pH 9,3 a 10,5. Cambio de color: de incoloro a azul.

Tornasol - Polvo azul. Parcialmente soluble en agua y alcohol. Intervalo de transición: de pH aproximadamente 4,5 a 8. Cambio de color: de rojo a azul. El papel de tornasol no es apropiado para determinar el pH de alcaloides, carbonatos y bicarbonatos.

Verde brillante - Ver Verde brillante en la *Especificaciones de reactivos*.

Verde de bromocresol - (*Azul de bromocresol; Tetrabromo m-cresolsulfoftaleína*) - $C_{21}H_{14}Br_4O_5S$ - (PM: 698,0) - Polvo blanco o amarillo pálido. Poco soluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones de hidróxidos alcalinos. Intervalo de transición: de pH 4,0 a 5,4. Cambio de color: de amarillo a azul.

Verde de malaquita, oxalato - (PM: 927,0) - $[4-NH(CH_3)_2C_6H_4C(C_6H_5):C_6H_4-4-N(CH_3)_2(OCO COOH)]_2(COO)_2$ - Es el oxalato, cristalizado con ácido oxálico, de un colorante derivado del trifenilmetano. Polvo verde oscuro, de brillo metálico. Moderadamente soluble en agua; soluble en ácido acético glacial. Intervalo de transición: de pH 0,0 a 2,0. Cambio de color: de amarillo a verde.

PAPELES Y PAPELES INDICADORES

Los papeles y papeles indicadores son tiras de papel de dimensión y grado apropiado (ver *Papel de filtro cuantitativo*, en *Especificaciones de reactivos*) impregnadas con un indicador o un reactivo. Algunos papeles pueden obtenerse comercialmente. Aquellos requeridos en los ensayos y valoraciones de este compendio pueden ser preparados según se indica a continuación.

Tratar el papel de filtro con ácido clorhídrico y lavarlo con agua hasta que el último lavado ya no de reacción ácida con rojo de metilo. Luego tratar con amoníaco (SR) y lavar nuevamente con agua hasta que el último lavado no sea alcalino a la fenolftaleína.

Luego de un secado minucioso, saturar el papel con la concentración apropiada de soluciones indicadoras y cuidadosamente secar al aire, a menos

que se especifique de otro modo, suspendiéndolos en varillas de vidrio u otro material inerte en un espacio exento de ácido, álcali y otros gases.

Cortar el papel en tiras de tamaño conveniente y almacenar los papeles en envases inactivos, bien cerrados, protegidos de la humedad.

Papel de amarillo de metilo - Emplear una solución (1 en 2000) de amarillo de metilo en alcohol.

Papel de cúrcuma - Emplear una solución preparada del siguiente modo: macerar 20 g de polvo de cúrcuma, la raíz seca de *Curcuma longa* Linne (Fam. Zingiberaceae), con cuatro porciones de 100 ml de agua fría, decantando la porción líquida transparente cada vez y descartándola. Secar el residuo a una temperatura no mayor de 100 °C.

Macerar con 100 ml de alcohol durante varios días y filtrar.

Sensibilidad - Sumergir una tira del papel, de longitud de aproximadamente 1,5 cm, en una solución de 1,0 mg de ácido bórico en 5 ml de agua, previamente mezclada con 1 ml de ácido clorhídrico. Luego de 1 minuto remover el papel del líquido y dejarlo secar: el color amarillo cambia a pardo. Luego humedecer el papel con amoníaco (SR): el color del papel cambia a negro verdoso.

Papel de fenolftaleína - Emplear una solución (1 en 1.000) de fenolftaleína en alcohol diluido.

Papel de iodato - almidón - Emplear una mezcla de volúmenes iguales de almidón (SR) y solución de iodato de potasio (1 en 20).

Papel de ioduro - almidón - Emplear una solución de 500 mg de ioduro de potasio en 100 ml de almidón recientemente preparado (SR).

Papel de acetato de plomo - Generalmente de un tamaño aproximado de 6 mm × 80 mm. Usar acetato de plomo (SR) y secar el papel a 100 °C, evitando el contacto con metales.

Papel de bromuro mercúrico - Emplear bromuro mercúrico alcohólico (SR). Almacenar protegido de la luz.

Papel de sulfato cúprico - Emplear sulfato cúprico (SR).

Papel de tornasol azul - Generalmente de un tamaño aproximado de 6 mm × 50 mm. Cumple con los requisitos de los siguientes ensayos.

Fosfato (Ensayo para reactivos) - Cortar 5 tiras en piezas pequeñas, mezclar con 500 mg de nitrato

de magnesio en un crisol de porcelana y someter a ignición. Agregar al residuo 5 ml de ácido nítrico y evaporar hasta sequedad: el residuo no presenta más de 0,02 mg de PO₄.

Residuo de ignición - Someter a ignición cuidadosamente 10 tiras del papel hasta peso constante: el peso del residuo corresponde a no más de 0,4 mg por tira de aproximadamente 3 cm².

Ácidos de colofonia - Sumergir una tira del papel azul en una solución de 100 mg de nitrato de plata en 50 ml de agua: el color del papel no cambia en 30 segundos.

Sensibilidad - Dejar caer una tira de 10 a 12 mm en un vaso de precipitados que contenga 100 ml de ácido 0,0005 N y agitar continuamente: el color del papel cambia dentro de los 45 segundos. El ácido 0,0005 N se prepara diluyendo 1 ml de ácido clorhídrico 0,1 N con agua purificada hervida recientemente y enfriada a 200 ml.

Papel de tornasol rojo - Generalmente de un tamaño aproximado de 6 mm × 50 mm. El papel de tornasol rojo cumple con los requisitos de los ensayos para *Fosfato*, *Residuo de ignición* y *Ácidos de colofonia* en Papel de tornasol azul.

Sensibilidad - Dejar caer una tira de 10 a 12 mm en un vaso de precipitados que contenga 100 ml de hidróxido de sodio 0,0005 N y agitar continuamente: el color del papel cambia dentro de los 30 segundos. El hidróxido de sodio 0,0005 N es preparado diluyendo 1 ml de hidróxido de sodio 0,1 N con agua purificada recientemente hervida y enfriada a 200 ml.

Papel indicador de pH de intervalo corto - Emplear uno grado apropiado.

SOLUCIONES

Soluciones Reguladoras

Muchos ensayos y valoraciones de este compendio requieren el ajuste o mantenimiento de un pH especificado mediante el agregado de soluciones reguladoras. En las mediciones de pH, las soluciones reguladoras estándar son necesarias como referencia. La preparación de estas soluciones, en algunos casos, están descritas en las secciones en las cuales su empleo se especifica; por ej., en <770>. *Valoración microbiológica de antibióticos* se describe la preparación de varias soluciones reguladoras de fosfato.

Se dice que una solución está regulada si resiste cambios en la actividad de un ion con el agregado de sustancias que se supone cambian la actividad de ese ion. Las soluciones reguladas son sistemas en los que el ion está en equilibrio con sustancias capaces de atraparlo o liberarlo.

La capacidad de la solución reguladora está relacionada con la cantidad de material que puede agregarse a una solución sin causar un cambio significativo en la actividad del ion. Se define como la relación entre la cantidad de ácido o base agregados (en equivalentes g por litro) y el cambio en pH (en unidades de pH).

Las soluciones reguladoras se emplean para establecer y mantener una actividad iónica dentro de límites estrechos. Los sistemas más empleados son para: (a) establecer la actividad del ion hidrógeno para la calibración de medidores de pH, (b) la preparación de formas farmacéuticas isotónicas, (c) procedimientos analíticos y (d) mantener la estabilidad de diversas formas farmacéuticas. Las soluciones reguladoras empleadas en sistemas fisiológicos se eligen cuidadosamente de modo que no interfieran con la actividad farmacológica del medicamento o la función normal del organismo. Es esencial que las soluciones reguladoras empleadas en los análisis químicos sean compatibles con la sustancia a determinar y los reactivos empleados.

Soluciones reguladoras estándar

Las soluciones estándar de pH definido pueden obtenerse fácilmente a partir de soluciones reguladoras preparadas con reactivos apropiados. Además, pueden obtenerse comercialmente.

Los reactivos requeridos se describen en *Especificaciones de reactivos*. Secar previamente los reactivos cristalinos, excepto el ácido bórico, entre 110 y 120 °C durante 1 hora.

[NOTA: cuando se especifica agua para disolver o diluir las sustancias bajo ensayo en determinaciones de pH, emplear agua].

Almacenar las soluciones preparadas en envases químicamente resistentes de cierre perfecto como por ej., envases de vidrio Tipo I. Emplear las soluciones dentro de los 3 meses de preparadas.

Soluciones reguladoras estándar para diversos intervalos entre pH 1,2 y 10,0 pueden ser preparadas por combinaciones apropiadas de las soluciones 0,2 M descritas aquí, empleando las proporciones especificadas en las tablas siguientes. Los volúmenes dados en las tablas son para preparar 200 ml de solución reguladora.

1- *Ácido clorhídrico 0,2 M e Hidróxido de sodio 0,2 M* - Proceder según se indica en *Soluciones volumétricas*.

2- *Biftalato de potasio 0,2 M* - Disolver 40,85 g de biftalato de potasio [$\text{KHC}_6\text{H}_4(\text{COO})_2$] en agua y diluir con agua a 1 litro.

3- *Fosfato monobásico de potasio 0,2 M* - Disolver 27,22 g de fosfato monobásico de potasio (KH_2PO_4) en agua y diluir con agua a 1 litro.

4- *Ácido bórico y cloruro de potasio 0,2 M* - Disolver 12,37 g de ácido bórico (H_3BO_3) y 14,91 g de cloruro de potasio (KCl) en agua y diluir con agua a 1 litro.

5- *Cloruro de potasio 0,2 M* - Disolver 14,91 g de cloruro de potasio (KCl) en agua y diluir con agua a 1 litro.

6- *Ácido acético 2 N* - Proceder según se indica en *Soluciones volumétricas*.

Composición de las soluciones reguladoras estándar

Solución reguladora de ácido clorhídrico -

Transferir 50 ml de la solución de cloruro de potasio a un matraz aforado de 200 ml, agregar el volumen especificado de la solución de ácido clorhídrico y completar a volumen con agua.

pH	ClH (ml)
1,2	85,0
1,3	67,2
1,4	53,2
1,5	41,4
1,6	32,4
1,7	26,0
1,8	20,4
1,9	16,2
2,0	13,0
2,1	10,2
2,2	7,8

Solución reguladora de ftalato -

Transferir 50 ml de la solución de biftalato de potasio a un matraz aforado de 200 ml, agregar el volumen especificado de la solución de ácido clorhídrico y completar a volumen con agua.

pH	ClH (ml)
2,2	49,5
2,4	42,2
2,6	35,4
2,8	28,9
3,0	22,3
3,2	15,7
3,4	10,4
3,6	6,3
3,8	2,9
4,0	0,1

Solución reguladora de ftalato neutralizada -

Transferir 50 ml de la solución de biftalato de potasio a un matraz aforado de 200 ml, agregar el volumen especificado de la solución de hidróxido de sodio y completar a volumen con agua

pH	NaOH (ml)
4,2	3,0
4,4	6,6
4,6	1,1
4,8	6,5
5,0	22,6
5,2	28,8
5,4	34,1
5,6	38,8
5,8	42,3

Solución reguladora de fosfato -

Transferir 50 ml de la solución de fosfato monobásico de potasio a un matraz aforado de 200 ml, agregar el volumen especificado de la solución de hidróxido de sodio y completar a volumen con agua.

pH	NaOH (ml)
5,8	3,6
6,0	5,6
6,2	8,1
6,4	11,6
6,6	16,4
6,8	22,4
7,0	29,1
7,2	34,7
7,4	39,1
7,6	42,4
7,8	44,5
8,0	46,1

Solución reguladora alcalina de borato -

Transferir 50 ml de la solución de ácido bórico y de cloruro de potasio a un matraz aforado de

200 ml, agregar el volumen especificado de la solución de hidróxido de sodio y completar a volumen con agua.

pH	NaOH (ml)
8,0	3,9
8,2	6,0
8,4	8,6
8,6	11,8
8,8	15,8
9,0	20,8
9,2	26,4
9,4	32,1
9,6	36,9
9,8	40,6
10,0	43,7

Solución reguladora de acetato -

Transferir la cantidad especificada de acetato de sodio ($\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) a un matraz aforado de 1 litro, agregar el volumen especificado de la solución de ácido acético y completar a volumen con agua.

pH	pH (medido)	$\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (g)	CH_3COOH (ml)
4,1	4,10	1,50	19,5
4,3	4,29	1,99	17,7
4,5	4,51	2,99	14,0
4,7	4,70	3,59	11,8
4,9	4,90	4,3	49,1
5,1	5,11	5,08	6,3
5,2	5,18	5,23	5,8
5,3	5,30	5,61	4,4
5,4	5,40	5,76	3,8
5,5	5,48	5,98	3,0

SOLUCIONES COLORIMÉTRICAS (SC)

Estas soluciones se emplean en la preparación de los estándares colorimétricos para ciertos principios activos y para el ensayo de carbonización con ácido sulfúrico que se especifica en varias monografías (ver 350. *Ensayo de sustancias fácilmente carbonizables*). Almacenar las soluciones en envases apropiadamente resistentes, de cierre perfecto.

La comparación de colores tal como se indica en los ensayos de este compendio se hace preferentemente en tubos de Nessler armonizados o en un colorímetro apropiado bajo condiciones que aseguren que la solución colorimétrica de referencia y la de la muestra se tratan en forma similar. Los tubos deben contener el mismo volumen de solución y observarse transversalmente contra un fondo blanco. Es particularmente importante que las soluciones se comparen a la misma temperatura, preferentemente 25 °C.

Cloruro cobaltoso (SC) - Disolver aproximadamente 65 g de cloruro cobaltoso ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) en cantidad suficiente de una mezcla de 25 ml de ácido clorhídrico y 975 ml de agua para obtener 1 litro. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz de iodo de 250 ml, agregar 5 ml de peróxido de hidrógeno (SR) y 15 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 5), calentar a ebullición durante 10 minutos, enfriar y agregar 2 g de ioduro de potasio y 20 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 4). Cuando se ha disuelto el precipitado, titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 23,79 mg de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Ajustar el volumen final de la solución mediante el agregado de suficiente cantidad de la mezcla de ácido clorhídrico y agua para que cada ml contenga a 59,5 mg de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

Cloruro férrico (SC) - Disolver aproximadamente 55 g de cloruro férrico ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) en suficiente cantidad de una mezcla de 25 ml de ácido clorhídrico y 975 ml de agua para obtener 1 litro. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz de iodo de 250 ml, agregar 15 ml de agua, 3 g de ioduro de potasio y 5 ml de ácido clorhídrico y dejar que la mezcla repose durante 15 minutos. Diluir con 100 ml de agua y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 27,03 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Ajustar el volumen final de la solución mediante el agregado de suficiente cantidad de la mezcla de ácido clorhídrico y agua para que cada ml contenga a 45,0 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

Sulfato cúprico (SC) - Disolver aproximadamente 65 g de sulfato cúprico ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) en suficiente cantidad de una mezcla de 25 ml de ácido clorhídrico y 975 ml de agua para obtener 1 litro. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz de iodo de 250 ml, agregar 40 ml de agua, 4 ml de ácido acético, 3 g de ioduro de potasio y 5 ml de ácido clorhídrico y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 24,97 mg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Ajustar el volumen final de la solución mediante el agregado de suficiente cantidad de la mezcla de ácido clorhídrico y agua para que cada ml contenga a 62,4 mg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

SOLUCIONES INDICADORAS

Soluciones indicadoras ver *Soluciones de reactivos*

SOLUCIONES DE REACTIVOS (SR)

Algunas de las siguientes soluciones de reactivos están destinadas a emplearse como indicadores en el análisis volumétrico ácido-base. Tales soluciones deben ajustarse de modo que, cuando 0,15 ml de la solución indicadora se agregan a 25 ml de agua, 0,25 ml de ácido o álcali 0,02 N, respectivamente, producirá el cambio de color característico. Soluciones similares están destinadas a ser empleadas en mediciones de pH. Cuando no se dan indicaciones especiales para su preparación, la misma solución es apropiada para ambos fines.

Cuando se indica el empleo de una solución volumétrica como solución de reactivo, la estandarización de la solución empleada como "SR" no es necesaria.

En general, la directiva para preparar una solución "en el día de su uso" indica que la solución es de estabilidad limitada y debe prepararse en el día en el que se la va a emplear.

Para la preparación de *Soluciones de reactivos*, emplear reactivos de la calidad especificada en *Especificaciones de Reactivos*.

Acetaldehído (SR) - Mezclar 4 ml de acetaldehído, 3 ml de alcohol y 1 ml de agua. Preparar esta solución en el día de su uso.

Acetato cúprico (SR) - Disolver 100 mg de acetato cúprico en aproximadamente 5 ml de agua a la cual se le ha agregado unas pocas gotas de ácido acético. Diluir a 100 ml y filtrar, si fuera necesario.

Acetato cúprico fuerte (SR) - (*Reactivo de Barfoed*) - Disolver 13,3 g de acetato cúprico en una mezcla de 195 ml de agua y 5 ml de ácido acético.

Acetato de amonio (SR) - Disolver 10 g de acetato de amonio en agua para obtener 100 ml.

Acetato de amonio (SR1) - Disolver 150 g de acetato de amonio en agua, agregar 3 ml de ácido acético glacial y diluir con agua a 1 litro. Conservar durante no más de 1 semana.

Acetato de dicitohexilamina (SR) - Disolver 50 g de dicitohexilamina en 150 ml de acetona, enfriar en un baño de hielo y agregar, con agitación, una solución de 18 ml de ácido acético glacial en 150 ml de acetona. Recristalizar el precipitado formado, calentando la mezcla a ebullición y dejándola enfriar en un baño de hielo, recolectar los cristales en un embudo filtrante, lavar con un volumen pequeño de acetona y secar al aire. Disolver

300 mg del acetato dicitclohexilamina obtenido en 200 ml de una mezcla de cloroformo y éter saturado con agua (6:4). Emplear de inmediato.

Acetato de fenilhidracina (SR) - Disolver 10 ml de fenilhidracina y 5 ml de ácido acético glacial en agua para obtener 100 ml.

Acetato de mercurio (SR) - Disolver 3,19 g de acetato de mercurio (II) en ácido acético glacial, diluir a 100 ml con el mismo solvente. Neutralizar la solución si fuera necesario con ácido perclórico 0,1 N en presencia de 0,05 ml de cristal violeta (SR).

Acetato de plomo (SR) - Disolver 9,5 g de cristales claros, transparentes de acetato de plomo en agua recientemente hervida para obtener 100 ml. Almacenar en botellas de cierre perfecto.

Acetato de plomo alcohólico (SR) - Disolver 2 g de cristales transparentes de acetato de plomo en alcohol para obtener 100 ml. Almacenar en envases de cierre perfecto.

Acetato de potasio (SR) - Disolver 10 g de acetato de potasio en agua para obtener 100 ml.

Acetato de sodio (SR) - Disolver 13,6 g de acetato de sodio en agua para obtener 100 ml.

Acetato de uranilo y cinc (SR) - Disolver 50 g de acetato de uranilo en una mezcla de 15 ml de ácido acético glacial y agua para obtener 500 ml. Luego disolver 150 g de acetato de cinc en una mezcla de 15 ml de ácido acético glacial y agua para obtener 500 ml. Mezclar las dos soluciones, dejar reposar durante toda la noche y filtrar a través de un filtro seco, si fuera necesario.

Acetato de uranilo y cobalto (SR) - Disolver, calentando, 40 g de acetato de uranilo en una mezcla de 30 g de ácido acético glacial y agua suficiente para obtener 500 ml. En forma similar, preparar una solución que contenga 200 g de acetato cobaltoso en una mezcla de 30 g de ácido acético glacial y agua suficiente para obtener 500 ml. Mezclar las dos soluciones aún calientes y enfriar a 20 °C. Mantener la temperatura a 20 °C durante aproximadamente 2 horas para separar el exceso de sales de la solución y luego filtrar a través de un filtro seco.

Acetato mercúrico (SR) - Disolver 6,0 g de acetato mercúrico en ácido acético glacial para obtener 100 ml. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto.

Acetato mercúrico (SR1) - Disolver 3,19 g de acetato mercúrico en ácido acético glacial y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Neutralizar la solución, si es necesario con ácido perclórico 0,1 M en presencia de 0,05 ml de cristal violeta (SR).

Acetona regulada (SR) - Disolver 8,15 g de acetato de sodio y 42 g de cloruro de sodio en aproximadamente 100 ml de agua y agregar 68 ml de ácido clorhídrico 0,1 N y 150 ml de acetona. Mezclar y diluir con agua a 500 ml.

Ácido acético glacial (SR) - Determinar el contenido de agua de una muestra de ácido acético glacial por *Titulación volumétrica directa* (ver 120. *Determinación de agua*). Si el ácido contiene más de 0,05 % de agua, agregar unos pocos ml de anhídrido acético, mezclar, dejar reposar de la noche a la mañana, y nuevamente determinar el contenido de agua. Si el ácido contiene menos de 0,02 % de agua, agregar agua suficiente para obtener una concentración final entre 0,02 y 0,05 %, mezclar, dejar reposar de la noche a la mañana y nuevamente determinar el contenido de agua. Repetir el ajuste con anhídrido acético o agua, según sea necesario, hasta que la solución resultante contenga entre 0,02 y 0,05 % de agua.

Ácido aminonaftolsulfónico (SR) - Pesar exactamente 5 g de sulfito de sodio, 94,3 g de bisulfito de sodio y 700 mg de ácido 1,2,4-aminonaftolsulfónico y mezclar. Preparar ácido aminonaftolsulfónico (SR) el día de uso disolviendo 1,5 g de la mezcla seca en 10 ml de agua.

Ácido cromotrópico (SR) - Disolver 50 mg de ácido cromotrópico o su sal sódica en 100 ml de ácido sulfúrico al 75 %, preparado agregando cuidadosamente 75 ml de ácido sulfúrico a 33,3 ml de agua.

Ácido diazobencenosulfónico (SR) - Transferir 1,57 g de ácido sulfanílico, previamente secado a 105°C durante 3 horas, a un vaso de precipitados, agregar 80 ml de agua y 10 ml de ácido clorhídrico diluido y calentar en un baño de vapor hasta disolver. Enfriar a 15 °C (se puede separar algo del ácido sulfanílico pero se disuelve posteriormente) y agregar lentamente, con agitación constante, 6,5 ml de solución de nitrito de sodio (1 en 10). Luego diluir con agua a 100 ml.

Ácido fenoldisulfónico (SR) - Disolver 2,5 g de fenol en 15 ml de ácido sulfúrico en un matraz apropiado. Agregar 7,5 ml de ácido sulfúrico fumante, agitar y calentar a 100 °C durante 2 horas. Transferir el producto, mientras permanece líquido, a una botella con tapón de vidrio y, si fuera necesario, calentar en un baño de agua hasta licuarlo.

Ácido fosfomolibdico (SR) - Disolver 20 g de ácido fosfomolibdico en alcohol para obtener 100 ml. Filtrar la solución y emplear sólo el filtrado transparente.

Ácido fosfotúngstico (SR) - Disolver 1 g de ácido fosfotúngstico en agua para obtener 100 ml.

Ácido metafosfórico - ácido acético (SR) - Disolver 15 g de ácido metafosfórico en 40 ml de ácido acético glacial y agua suficiente para obtener 500 ml. Almacenar en un sitio frío y emplear dentro de los 2 días de preparado.

Ácido oxálico (SR) - Disolver 6,3 g de ácido oxálico en agua para obtener 100 ml.

Ácido perclórico (SR) - Diluir 8,5 ml de ácido perclórico a 100 ml con agua.

Ácido pícrico (SR) - Ver Trinitrofenol (SR).

Ácido pícrico (SR1) - Preparar 100 ml de una solución saturada de ácido pícrico y agregar 0,25 ml de hidróxido de sodio al 42 % p/v.

Ácido sulfanílico (SR) - Disolver 800 mg de ácido sulfanílico en 100 ml de ácido acético. Almacenar en envases de cierre perfecto.

Ácido sulfanílico diazotado (SR) - Disolver, calentando, 0,9 g de ácido sulfanílico en 9 ml de ácido clorhídrico y diluir con agua a 100 ml. Enfriar 10 ml de esta solución en agua helada y agregar 10 ml de una solución de nitrito de sodio (4,5 en 100) previamente enfriada en agua helada. Dejar reposar a 0 °C durante por lo menos 15 minutos (la solución se puede mantener durante 3 días a esta temperatura). Inmediatamente antes de usar, agregar 20 ml de solución de carbonato de sodio (1 en 10).

Ácido sulfomolibdico (SR) - Disolver, calentando, 2,5 g de molibdato de amonio en 20 ml de agua, agregar 50 ml de ácido sulfúrico 12 N y diluir con agua a 100 ml. Almacenar esta solución en un envase de polietileno.

Ácido sulfúrico (SR) - Agregar una cantidad de ácido sulfúrico de concentración conocida a un volumen de agua suficiente para ajustar la concentración final entre 94,5 y 95,5 % (p/p) de H₂SO₄. [NOTA: debido a que la concentración de ácido puede cambiar con el tiempo o con el uso, la concentración debe controlarse con frecuencia y las soluciones cuya valoración indique más de 95,5 o menos de 94,5 % deben ser descartadas].

Ácido sulfúrico - formaldehído (SR) - Agregar 1 gota de formaldehído (SR) por cada ml de ácido sulfúrico y mezclar. Preparar esta solución antes de usar.

Ácido tánico (SR) - Disolver 1 g de ácido tánico en 1 ml de alcohol y diluir con agua a 10 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Ácido tartárico (SR) - Disolver 3 g de ácido tartárico en agua para obtener 10 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Ácido p - toluensulfónico (SR) - Disolver 2 g de ácido *p*-toluensulfónico en 10 ml de una mezcla de acetona y agua (7:3).

Albúmina (SR) - Separar cuidadosamente la clara de la yema de un huevo de gallina fresco. Agitar la clara con 100 ml de agua hasta obtener una mezcla homogénea y filtrar. Preparar la solución en el día de su uso.

Alcohol - fenol (SR) - Disolver 780 mg de fenol en alcohol para obtener 100 ml.

Alizarinsulfonato sódico (SR) - Disolver 100mg de alizarinsulfonato sódico en 100 ml de agua y filtrar.

Almidón (SR) - Mezclar 1 g de almidón soluble con 10 mg de ioduro mercúrico rojo y agua fría suficiente para obtener una pasta fina. Agregar 200 ml de agua a ebullición y calentar durante 1 minuto a ebullición con agitación continua. Enfriar y emplear sólo la solución transparente. [NOTA: pueden emplearse soluciones indicadoras de almidón estabilizadas, disponibles comercialmente].

Almidón - ioduro de potasio (SR) - Disolver 500 mg de ioduro de potasio en 100 ml de almidón (SR) recientemente preparado. Preparar esta solución antes de usar.

Almidón - ioduro de potasio (SR1) - Disolver 750 mg de ioduro de potasio en 100 ml de agua, calentar a ebullición y agregar una solución de 0,5 g de almidón en 35 ml de agua, en agitación constante. Calentar a ebullición durante 2 minutos y dejar enfriar.

Prueba para sensibilidad - A 15 ml de Almidón - ioduro de potasio (SR1), agregar 0,05 ml de ácido acético glacial y 0,3 ml de una solución de iodo preparada disolviendo 10 ml de iodo 0,05 M con 0,6 g de ioduro de potasio, en 1 litro. La solución obtenida debe ser azul.

Amaranto (SR) - Disolver 20 mg de amaranto en 10 ml de agua.

Amarillo de metilo (SR) - Diluir con alcohol una solución madre comercialmente disponible de amarillo de metilo en alcohol para obtener una solución con una concentración de 0,10 mg por ml.

Amarillo de metilo-azul de metileno (SR) - Disolver 1 g de amarillo de metilo y 100 mg de azul de metileno en 125 ml de metanol.

Aminoacetato de sodio (SR) - (*Glicinato de sodio (SR)*) - Disolver 3,75 g de ácido aminoacéti-

co en aproximadamente 500 ml de agua, agregar 2,1 g de hidróxido de sodio y diluir con agua a 1 litro. Mezclar 9 ml de la solución resultante con 1 ml de ácido acético glacial diluido (1 en 300). La solución de ensayo posee un pH entre 10,4 y 10,5.

Aminopirazolona (SR) - Disolver 1 g de aminopirazolona en 1 litro de solución reguladora alcalina de borato pH 9,0 (ver *Soluciones reguladoras*).

Amoniaco (SR) - Contiene entre 9,5 y 10,5 % de NH₃. Preparar diluyendo 400 ml de *Agua de Amoniaco fuerte* con agua hasta obtener 1 litro.

Amoniaco alcohólico (SR) - Solución de amoniaco gaseoso en alcohol. Líquido transparente, incoloro con olor fuerte a amoniaco. Densidad relativa: aproximadamente 0,80. Contiene entre 9 y 11 % de NH₃. Almacenarlo en envases resistentes a los álcalis, en un sitio frío.

Amoniaco - cianuro (SR) - Disolver 2 g de cianuro de potasio en 15 ml de hidróxido de amonio y diluir con agua a 100 ml.

Amoniaco concentrado (SR) - Emplear *Agua de Amoniaco Fuerte*.

Anisaldehído (SR) - Mezclar en el siguiente orden 10 ml de anisaldehído, 90 ml de alcohol y 10 ml de ácido sulfútrico.

Anisaldehído (SR1) - Mezclar en el siguiente orden 0,5 ml de anisaldehído, con 10 ml de ácido acético glacial, 85 ml de metanol y 5 ml de ácido sulfúrico.

Anisaldehído - sulfúrico (SR) - Mezclar 0,5 ml de anisaldehído con 10 ml de acetato de mercurio, agregar 85 ml de metanol y 5 ml de ácido sulfúrico concentrado.

Antrona (SR) - 12 horas antes de usar, disolver rápidamente 35 mg de antrona en una mezcla caliente de 35 ml de agua y 65 ml de ácido sulfúrico. De inmediato enfriar en un baño de hielo a temperatura ambiente y filtrar a través de lana de vidrio. Dejar la solución en reposo a temperatura ambiente durante 30 minutos antes de usar.

Azometino H - Disolver 0,45 g de Azometino H y 1 g de ácido ascórbico en agua, calentando suavemente y diluir a 100 ml.

Azul brillante G (SR) - Transferir 25 mg de azul brillante G a un matraz aforado de 100 ml, agregar 12,5 ml de alcohol y 25 ml de ácido fosfórico, completar a volumen con agua y mezclar.

Azul de bromocresol (SR) - Ver Verde de bromocresol (SR).

Azul de bromofenol (SR) - Disolver 100 mg de azul de bromofenol en 100 ml de alcohol diluido y filtrar si fuera necesario.

Azul de bromofenol (SR1) - Calentar 200 mg de azul de bromofenol en 3 ml de hidróxido de sodio 0,1 N y 10 ml de alcohol. Una vez disuelto dejar enfriar y diluir a 100 ml con alcohol.

Azul de bromofenol (SR2) - Calentar 50 mg de azul de bromofenol en 3,73 ml de hidróxido de sodio 0,02 N. Una vez disuelto dejar enfriar y diluir a 100 ml con agua.

Azul de bromotimol (SR) - Disolver 100 mg de azul de bromotimol en 100 ml de alcohol diluido y filtrar si fuera necesario.

Azul de bromotimol (SR1) - Disolver 50 mg de azul de bromotimol en una mezcla de 4 ml de hidróxido de sodio 0,02 N y de 20 ml de alcohol y completar a 100 ml con agua.

Azul de metileno (SR) - Disolver 125 mg de azul de metileno en 100 ml de alcohol y diluir con alcohol a 250 ml.

Azul de Oracet B (SR) - Corresponde a una solución 1 en 200 de azul de oracet B en ácido acético glacial.

Azul de tetrazolio (SR) - Disolver 500 mg de azul de tetrazolio en alcohol para obtener 100 ml.

Azul de timol (SR) - Disolver 100 mg de azul de timol en 100 ml de alcohol y filtrar si fuera necesario.

Azul de timol (SR1) - Disolver 0,1 g de azul de timol en una mezcla de 2,2 ml de hidróxido de sodio 0,1 N y 20 ml de alcohol. Diluir a 100 ml con agua.

Prueba para sensibilidad - A 0,1 ml de esta solución, agregar 100 ml de agua libre de dióxido de carbono y 0,2 ml de hidróxido de sodio 0,02 N (SV): la solución debe ser azul. El viraje de indicador al amarillo no debe consumir más de 0,1 ml de ácido clorhídrico 0,02 N (SV).

Zonas de viraje - De pH 1,2 (rojo) a pH 2,8 (amarillo); de pH 8,0 (verde oliva) a pH 9,6 (azul).

Azul nilo (SR) - Emplear una solución con una concentración de 10 g por litro en ácido acético glacial.

Prueba para sensibilidad - A 50 ml de ácido acético glacial agregar 0,25 ml Azul nilo (SR). La solución debe ser azul. Agregar 0,1 ml ácido perclórico 0,1 M: el color cambia a un verde azulado.

Cambio de color - pH 9,0 (azul) a pH 13,0 (rojo).

Betanaftol (SR) - Ver 2-Naftol (SR).

Bisbenzimidazolidina (SR) - Disolver 5 mg de bisbenzimidazolidina en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Proteger de la luz.

Bisbenzimidazolidina diluida (SR) - Transferir 100 µl de Bisbenzimidazolidina (SR) a una matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con Solución reguladora fosfato salina pH 7,4. Preparar inmediatamente antes de su uso.

Bisulfato de sodio (SR) - Disolver 10 g de bisulfato de sodio en agua para obtener 30 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Bitartrato de sodio (SR) - Disolver 1 g de bitartrato de sodio en agua para obtener 10 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Bromo (SR) - (*Agua de bromo*) - Una solución saturada de bromo, preparada agitando 2 a 3 ml de bromo con 100 ml de agua fría en una botella con tapón de vidrio, el cual debe lubricarse con vaselina. Almacenar en envases inactivos, en un sitio frío.

Bromo (SR1) - Disolver 30 g de bromo y 30 g de bromuro de potasio en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente.

Bromo - acetato de sodio (SR) - Disolver 100 g de acetato de sodio en 1 litro de ácido acético glacial, agregar 50 ml de bromo y mezclar.

p-Bromoanilina (SR) - Agregar 8 g de p-bromoanilina a una mezcla de 380 ml de ácido acético glacial saturado con tiourea, 10 ml de solución de cloruro de sodio (1 en 5), 5 ml de solución de ácido oxálico (1 en 20) y 5 ml de solución de fosfato dibásico de sodio (1 en 10) en una botella de vidrio inactivo. Mezclar y dejar reposar de la noche a la mañana antes de usar. Proteger de la luz y emplear dentro de los 7 días.

Bromuro de cianógeno (SR) - Agregar gota a gota con enfriamiento tiocianato de amonio 0,1 M a agua de bromo hasta que el color desaparezca. Preparar en el momento de su uso.

Bromuro de iodo (SR) - Disolver 20 g de bromuro de iodo en ácido acético glacial para obtener 1 litro. Almacenar en envases de vidrio inactivo.

Bromuro mercúrico alcohólico (SR) - Disolver 5 g de bromuro mercúrico en 100 ml de alcohol, calentando suavemente para facilitar la disolución. Almacenar en envases de vidrio inactivo.

Carbonato de amonio (SR) - Disolver 20 g de carbonato de amonio y 20 ml de amoníaco (SR) en agua para obtener 100 ml.

Carbonato de potasio (SR) - Disolver 7 g de carbonato de potasio anhidro en agua para obtener 100 ml.

Carbonato de sodio (SR) - Disolver 10,6 g de carbonato de sodio anhidro en agua para obtener 100 ml.

Citrato cúprico alcalino (SR) - Disolver, calentando, 173 g de citrato de sodio dihidratado y 117 g de carbonato de sodio monohidratado en aproximadamente 700 ml de agua y filtrar a través de papel, si fuera necesario, para obtener una solución transparente. En un envase separado, disolver 17,3 g de sulfato cúprico en aproximadamente 100 ml de agua y lentamente agregar esta solución, con agitación constante, a la primera solución. Enfriar la mezcla, agregar agua para obtener 1 litro y mezclar.

Clorhidrato de hidroxilamina (SR) - Disolver 3,5 g de clorhidrato de hidroxilamina en 95 ml de alcohol al 60 % y agregar 0,5 ml de solución azul de bromofenol (1 en 1000) e hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N hasta que se desarrolle un tinte verdoso en la solución. Luego agregar alcohol al 60 % hasta obtener 100 ml.

Clorhidrato de metafenilendiamina (SR) - Disolver 1 g de clorhidrato metafenilendiamina en 200 ml de agua. La solución debe ser incolora cuando se emplea. Si fuera necesario, decolorar calentando con carbón activado.

Clorhidrato de 3-metil-2-benzotiazolinona hidrazona (SR) - Disolver 100 mg de clorhidrato de 3-metil-2-benzotiazolinona hidrazona monohidrato en 10 ml de agua, diluir la solución resultante con metanol a 100 ml y mezclar.

Cloro (SR) - (*Agua de cloro*) - Una solución saturada de cloro en agua. Transferir la solución en envases pequeños, completamente llenos, resistentes a la luz. Esta solución, aun cuando está protegida de la luz y el aire, suele deteriorarse. Almacenar en un sitio frío, oscuro. Para obtener la concentración más alta, preparar esta solución en el día de su uso.

Cloroformo acidificado (SR) - A 100 ml de cloroformo, agregar 10 ml de ácido clorhídrico. Agitar, dejar reposar y separar las dos fases.

Cloruro cobaltoso (SR) - Disolver 2 g de cloruro cobaltoso en 1 ml de ácido clorhídrico y agua suficiente para obtener 100 ml.

Cloruro de amonio (SR) - Disolver 10,5 g de cloruro de amonio en agua para obtener 100 ml.

Cloruro de amonio-hidróxido de amonio (SR) - Mezclar volúmenes iguales de agua e hidróxido de amonio y saturar con cloruro de amonio.

Cloruro de bario (SR) - Disolver 12 g de cloruro de bario en agua para obtener 100 ml.

Cloruro de calcio (SR) - Disolver 7,5 g de cloruro de calcio en agua para obtener 100 ml.

Cloruro de cinc iodado (SR) - Disolver 20 g de cloruro de cinc y 6,5 g de ioduro de potasio en 10,5 ml de agua. Agregar 0,5 g de yodo y agitar durante 15 minutos.

Cloruro de iodo (SR) - Disolver 16,5 g de monoclóruo de iodo en 1 litro de ácido acético glacial.

Cloruro de metileno acidificado (SR) - A 100 ml de cloruro de metileno, agregar 10 ml de ácido clorhídrico. Agitar, dejar reposar la solución y separar las dos fases. Emplear la fase inferior.

Cloruro de oro (SR) - Disolver 1 g de cloruro de oro en 35 ml de agua.

Cloruro de paladio regulado (SR) - Pesar 500 mg de cloruro de paladio en un vaso de precipitados de 250 ml, agregar 5 ml de ácido clorhídrico concentrado y calentar la mezcla en un baño de vapor. Agregar 200 ml de agua caliente en porciones pequeñas con calentamiento continuo hasta que la disolución se complete. Transferir la solución a un matraz aforado de 250 ml y completar a volumen con agua. Transferir 50 ml a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 10 ml de acetato de sodio 1 M y 9,6 ml de ácido clorhídrico 1 N. Completar a volumen con agua.

Cloruro de sodio alcalino (SR) - Disolver 2 g de hidróxido de sodio en 100 ml de agua, saturar la solución con cloruro de sodio y filtrar.

Cloruro de trifeniltetrazolio (SR) - Disolver 500 mg de cloruro de trifeniltetrazolio en alcohol absoluto para obtener 100 ml.

Cloruro estañoso (SR) - Disolver 8 g de cloruro estañoso en 500 ml de ácido clorhídrico. Almacenar en envases de vidrio y emplear dentro de los 3 meses de preparado.

Cloruro estañoso concentrado (SR) - Disolver 40 g de cloruro estañoso en 100 ml de ácido clorhídrico. Almacenar en envases de vidrio y emplear dentro de los 3 meses de preparado.

Cloruro férrico (SR) - Disolver 9 g de cloruro férrico en agua para obtener 100 ml.

Cloruro férrico ácido (SR) - Mezclar 60 ml de ácido acético glacial con 5 ml de ácido sulfúrico,

agregar 1 ml de cloruro férrico (SR), mezclar y enfriar.

Cloruro férrico-ácido sulfámico (SR) - Preparar una solución que contenga 10 g por litro de cloruro férrico y 16 g por litro de ácido sulfámico.

Cloruro mercúrico (SR) - Disolver 6,5 g de cloruro mercúrico en agua para obtener 100 ml.

Cloruro platínico (SR) - Disolver 2,6 g de cloruro platínico en agua para obtener 20 ml.

Cobaltonitrito de sodio (SR) - Disolver 10 g de cobaltonitrito de sodio en agua para obtener 50 ml y filtrar si fuera necesario.

Colorante de Mallory - Disolver 500 mg de azul de anilina soluble en agua, 2 g de naranja G y 2 g de ácido oxálico en 100 ml de agua.

Cristal violeta (SR) - Disolver 100 mg de cristal violeta en 10 ml de ácido acético glacial.

Cromato de potasio (SR) - Disolver 10 g de cromato de potasio en agua para obtener 100 ml.

Diclorhidrato de N-(1-naftil)etilendiamina (SR) - Disolver 100 mg de diclorhidrato de N-(1-naftil)etilendiamina en 100 ml de una mezcla de acetona y agua (7:3).

Diclorofluoresceína (SR) - Disolver 100 mg de diclorofluoresceína en 60 ml de alcohol, agregar 2,5 ml de hidróxido de sodio 0,1 N, mezclar y diluir con agua a 100 ml.

Dicromato de potasio (SR) - Disolver 7,5 g de dicromato de potasio en agua para obtener 100 ml.

Dietilditiocarbamato de plata (SR) - Disolver 1 g de dietilditiocarbamato de plata en 200 ml de piridina recientemente destilada. Almacenar en envases resistentes a la luz y emplear dentro de los 30 días.

Difenilamina (SR) - Disolver 1,0 g de difenilamina en 100 ml de ácido sulfúrico. La solución debe ser incolora.

Difenilcarbazona (SR) - Disolver 1 g de difenilcarbazona en cristales en 75 ml de alcohol, luego agregar alcohol para obtener 100 ml. Almacenar en una botella oscura.

2,7-Dihidroxinaftaleno (SR) - Disolver 100 mg de 2,7-dihidroxinaftaleno en 1 litro de ácido sulfúrico y dejar reposar la solución hasta que el color amarillo desaparezca. Si la solución es muy oscura, descartarla y preparar una solución nueva con ácido sulfúrico de distinta procedencia. Esta solución es estable durante aproximadamente 1 mes si se almacena en una botella de material inactivo.

Diiodofluoresceína (SR) - Disolver 500 mg de diiodofluoresceína en una mezcla de 75 ml de alcohol y 30 ml de agua.

p-Dimetilaminobenzaldehído (SR) - Disolver 125 mg de p-dimetilaminobenzaldehído en una mezcla enfriada de 65 ml de ácido sulfúrico y 35 ml de agua y agregar 0,05 ml de cloruro férrico (SR). Emplear dentro de los 7 días de preparada.

Dinitrofenilhidracina (SR) - Mezclar cuidadosamente 10 ml de agua y 10 ml de ácido sulfúrico y enfriar. A la mezcla, contenida en un erlenmeyer con tapón de vidrio, agregar 2 g de 2,4- dinitrofenilhidracina y agitar hasta disolución. Agregarle a la solución 35 ml de agua, mezclar, enfriar y filtrar.

Ditizona (SR) - Disolver 25,6 mg de ditizona en 100 ml de alcohol. Almacenar en un sitio frío y emplear dentro de los 2 meses de preparada.

Ditizona (SR1) - Disolver 40,0 mg de ditizona en cloroformo y diluir a 1.000 ml con el mismo solvente. Transferir 30 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con cloroformo.

Estandarización - Transferir 1 ml de solución de mercurio (20 ppm) (SL) a un ampolla de decantación y agregar 50 ml de ácido sulfúrico diluido, 140 ml de agua y 10 ml de una solución de 200 mg de clorhidrato de hidroxilamina por ml. Titular con ditizona (SR1) y agitar luego de cada agregado durante 20 minutos. Hacia el final de la valoración, dejar separar las fases y descartar la fase clorofórmica. Titular con ditizona (SR1) hasta obtener una coloración azul-verdosa. Calcular el equivalente en μg de mercurio por ml de ditizona (SR) por la fórmula siguiente,

$$20/V$$

donde V es el volumen en ml de ditizona (SR) empleada en la valoración.

Ditizona (SR2) - Preparar una solución de ditizona en cloroformo de 0,5 g por litro.

Edetato disódico (SR) - Disolver 1 g de edetato disódico en 950 ml de agua, agregar 50 ml de alcohol y mezclar.

Enzima fosfática (SR) - Disolver 5 g de enzima fosfática en agua para obtener 50 ml. Preparar esta solución el día de uso.

Eosina (SR) - (Indicador de adsorción) - Disolver 50 mg de eosina en 10 ml de agua.

Eriocromo cianina (SR) - Disolver 750 mg de eriocromo cianina R en 200 ml de agua, agregar 25 g de cloruro de sodio, 25 g de nitrato de amonio y 2 ml de ácido nítrico y diluir con agua a 1 litro.

Fenilhidracina - ácido sulfúrico (SR) - Disolver 65 mg de clorhidrato de fenilhidracina en 100 ml de una mezcla enfriada de volúmenes iguales de ácido sulfúrico y agua.

Fenoltaleína (SR) - Disolver 1 g de fenoltaleína en 100 ml de alcohol.

Fenoltaleína (SR 1) - Disolver 100 mg de fenoltaleína en 80 ml de alcohol diluir a 100 ml con agua.

Ensayo de sensibilidad - A 0,1 ml de solución de fenoltaleína, agregar 100 ml de agua. La solución debe ser incolora. No se requieren más de 0,2 ml de hidróxido de sodio 0,02 N para cambiar el color del indicador a rosa.

Ferricianuro de potasio (SR) - Disolver 1 g de ferricianuro de potasio en 10 ml de agua. Preparar esta solución antes de usar.

Ferricianuro de potasio diluido (SR) - Disolver 1 g de ferricianuro de potasio en 100 ml de agua. Preparar esta solución antes de usar.

Ferricianuro de potasio amoniacal (SR) - Disolver 2 g de ferricianuro de potasio en 75 ml de agua, agregar 25 ml de hidróxido de amonio y mezclar.

Ferrocianuro de potasio (SR) - Disolver 1 g de ferrocianuro de potasio en 10 ml de agua. Preparar esta solución antes de usar.

Ferroína (SR) - Disolver 0,7 g de sulfato ferroso y 1,76 g de monoclóhidrato de *o*-fenantrolina monohidrato en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente.

Floroglucinol (SR) - Disolver 500 mg de floroglucinol en 25 ml de alcohol. Almacenar en envases inactivos, de cierre perfecto.

Fluido gástrico simulado (SR) - Disolver 2,0 g de cloruro de sodio y 3,2 g de pepsina purificada, derivada de la mucosa estomacal porcina, con una actividad de 800 a 2.500 unidades por mg de proteína, en 7,0 ml de ácido clorhídrico y agua suficiente para obtener 1 litro. Esta solución tiene un pH de aproximadamente 1,2.

Fluido intestinal simulado (SR) - Disolver 6,8 g de fosfato monobásico de potasio en 250 ml de agua, mezclar y agregar 77 ml de hidróxido de sodio 0,2 N y 500 ml de agua. Agregar 10,0 g de pancreatina purificada, mezclar y ajustar la solución resultante con hidróxido de sodio 0,2 N o ácido clorhídrico 0,2N hasta pH $6,8 \pm 0,1$. Diluir con agua a 1 litro.

Fluoruro de sodio (SR) - Secar aproximadamente 500 mg de fluoruro de sodio a 200 °C duran-

te 4 horas. Pesar exactamente 222 mg del material seco y disolver en agua para obtener 100,0 ml. Transferir 10 ml de esta solución en un matraz aforado de 1 litro y completar a volumen con agua. Cada ml de esta solución corresponde a 0,01 mg de flúor (F).

Folin - Cioalceu para fenoles (SR) - En un erlenmeyer de 1500 ml, introducir 100 g de tungstato de sodio, 25 g de molibdato de sodio, 700 ml de agua, 50 ml de ácido fosfórico y 100 ml de ácido clorhídrico. Calentar a reflujo la mezcla suavemente durante aproximadamente 10 horas y agregar 150 g de sulfato de litio, 50 ml de agua y unas pocas gotas de bromo. Calentar a ebullición la mezcla, sin refrigerante, durante aproximadamente 15 minutos o hasta expulsar el exceso de bromo. Enfriar, diluir con agua a 1 litro y filtrar: el filtrado no tiene tinte verdoso. Antes de usar, diluir 1 parte del filtrado con 1 parte de agua.

Formaldehído (SR) - Emplear Solución de formaldehído (ver en *Especificaciones de reactivos*).

Fosfato dibásico de amonio (SR) - (*Fosfato de Amonio (SR)*) - Disolver 13 g de fosfato dibásico de amonio en agua para obtener 100 ml.

Fosfato dibásico de sodio (SR) - Disolver 12 g de cristales transparentes de fosfato dibásico de sodio en agua para obtener 100 ml.

Fosfotungstato de molibdeno (SR) - (*Reactivo de Folin-Denis*) - A aproximadamente 350 ml de agua dentro de un balón, agregar 50 g de tungstato sódico, 12 g de ácido fosfomolibdico y 25 ml de ácido fosfórico. Adosar un refrigerante al balón y calentar a ebullición la mezcla durante 2 horas, enfriar, diluir con agua a 500 ml y mezclar. Almacenar en envases inactivos, de cierre perfecto y en un sitio frío.

Fosfotungstato sódico (SR) - Agregar a una solución de 20 g de tungstato sódico en 100 ml de agua, ácido fosfórico suficiente para dar una reacción fuertemente ácida frente al tornasol y filtrar. Cuando se requiera esta solución, decantar la solución transparente de cualquier sedimento que pueda estar presente. Almacenar en envases inactivos, de cierre perfecto.

Fucsina-ácido sulfuroso (SR) - Disolver 200 mg de fucsina básica en 120 ml de agua caliente y dejar enfriar la solución. Agregar una solución de 2 g de sulfito de sodio anhidro en 20 ml de agua; luego agregar 2 ml de ácido clorhídrico. Diluir la solución con agua a 200 ml y dejar reposar durante no menos de 1 hora. Preparar esta solución antes de usar.

Fucsina decolorada (SR)- Disolver 100 mg de fucsina básica en 6 ml de agua y agregar 10 ml de una solución preparada disolviendo 1 g de sulfito de sodio anhidro en 10 ml de agua. Lentamente y en agitación constante agregar 2 ml de ácido clorhídrico y diluir a 100 ml con agua. Proteger de la luz y dejar reposar por lo menos durante 12 horas. Decolorar la solución agregando carbón vegetal activado y filtrar. Si la solución se enturbia, filtrarla antes de su empleo. Si con el tiempo se torna violeta, agregar nuevamente carbón vegetal activado para decolorarla. Conservar en envases inactivos.

Ensayo de sensibilidad - A 1,0 ml de fucsina decolorada agregar 1,0 ml de agua, 0,1 ml de alcohol libre de aldehído y 0,2 ml de una solución de formaldehído de 0,1 mg por ml. Luego de 5 minutos debe desarrollarse color rosa pálido.

Fucsina-pirogalol (SR) - Disolver 100 mg de fucsina básica en 50 ml de agua que previamente se ha calentado a ebullición durante 15 minutos y dejado enfriar levemente. Enfriar, agregar 2 ml de una solución saturada de bisulfito de sodio, mezclar y dejar reposar durante no menos de 3 horas. Agregar 0,9 ml de ácido clorhídrico, mezclar y dejar reposar de la noche a la mañana. Agregar 100 mg de pirogalol, agitar hasta disolución y diluir con agua a 100 ml. Almacenar en una botella de vidrio ámbar, en un refrigerador.

Gelatina (SR) - (para la valoración de *Corticotrofina solución inyectable*) - Disolver 340 g de precursor de gelatina tratada con ácido (Tipo A) en agua para obtener 1.000 ml. Calentar la solución en autoclave a 115 °C durante 30 minutos contados a partir de que la temperatura de la línea de salida ha alcanzado 115 °C. Enfriar la solución y agregar 10 g de fenol y 1.000 ml de agua. Almacenar en envases de cierre perfecto, en un refrigerador.

Glicerina básica (SR) - Agregar agua a 200 g de glicerina para obtener un peso total de 235 g. A continuación agregar 142,5 ml de hidróxido de sodio 1 N y 47,5 ml de agua.

Glucosa oxidasa - cromogénica (SR) - Una solución que contiene, en cada ml, 0,5 μmol de 4-aminoantipirina, 22,0 μmol de p-hidroxibenzoato de sodio, no menos de 7,0 unidades de glucosa oxidasa y no menos de 0,5 unidades de peroxidasa y regulada a pH $7,0 \pm 0,1$.

Aptitud - Cuando se emplea para determinar glucosa en Inulina, evaluar que no se produzca color significativo después de la reacción con fructosa y que se obtenga una pendiente apropiada de absorbancia en función de la concentración de glucosa.

Hematoxilina de Delafield (SR) - Preparar 400 ml de una solución saturada de alumbre de amonio (*Solución A*). Disolver 4 g de hematoxilina en 25 ml de alcohol, mezclarlo con *Solución A* y dejar reposar durante 4 días en un erlenmeyer tapado con una torunda de algodón purificado y expuesto a la luz y al aire (*Solución B*). Luego filtrar la *Solución B* y agregarla a la *Solución C*, que consta de una mezcla de 100 ml de glicerina y 100 ml de metanol. Mezclar y dejar reposar la mezcla en un sitio caliente, expuesto a la luz, durante 6 semanas hasta que se colorea de oscuro. Almacenar en botellas perfectamente tapadas. Para teñir tejido endocrino, diluir esta solución de reactivo con un volumen igual de agua.

Hidrato de cloral (SR) - Disolver 50 g de hidrato de cloral en una mezcla de 15 ml de agua y 10 ml de glicerina.

Hidrosulfito de sodio alcalino (SR) - Disolver 25 g de hidróxido de potasio en 35 ml de agua y 50 g de hidrosulfito de sodio en 250 ml de agua. Cuando se requiere la solución de reactivo, mezclar 40 ml de la solución de hidróxido con los 250 ml de la solución de hidrosulfito. Preparar esta solución antes de usar.

Hidróxido de bario (SR) - Una solución saturada de hidróxido de bario en agua recientemente hervida. Preparar la solución el día de uso.

Hidróxido de calcio (SR) - Emplear *Solución tópica de hidróxido de calcio*.

Hidróxido de cuprietilendiamina (SR) - Solución de hidróxido de cuprietilendiamina 1 M, con relación molar entre la etilendiamina y el cobre es de $2,00 \pm 0,04$.

Hidróxido de potasio (SR) - Disolver 6,5 g de hidróxido de potasio en agua para obtener 100 ml.

Hidróxido de potasio alcohólico (SR) - Emplear *Hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N* (ver en *Soluciones volumétricas*).

Hidróxido de sodio (SR) - Disolver 4,0 g de hidróxido de sodio en agua para obtener 100 ml.

Hidróxido de tetrametilamonio (SR) - Emplear una solución acuosa que contenga, cada 100 ml, el equivalente de 10 g de hidróxido de tetrametilamonio anhidro.

8-Hidroxiquinolina (SR) - Disolver 5 g de 8-hidroxiquinolina en alcohol para obtener 100 ml.

Hierro - fenol (SR) - (*Reactivo Hierro-Kober*) - Disolver 1,054 g de sulfato ferroso amónico en 20 ml de agua y agregar 1 ml de ácido sulfúrico y 1 ml de peróxido de hidrógeno al 30 %. Mezclar, calen-

tar hasta que cese la efervescencia y diluir con agua a 50 ml. A 3 volúmenes de esta solución contenido en un matraz aforado agregar ácido sulfúrico, enfriando, para obtener 100 volúmenes. Purificar el fenol mediante destilación, descartando el primer 10 % y el último 5 %, recolectar el destilado, excluyendo la humedad, en un erlenmeyer seco y previamente pesado, con tapón de vidrio, de aproximadamente dos veces el volumen de fenol. Solidificar el fenol en un baño de hielo, rompiendo la capa superficial con una varilla de vidrio para asegurar una cristalización completa. Pesar el erlenmeyer y su contenido, agregar al fenol 1,13 veces su peso de solución de hierro-ácido sulfúrico preparada según se indica, insertar el tapón en el erlenmeyer y dejar reposar, sin enfriamiento pero mezclando ocasionalmente, hasta que el fenol licue. Agitar la mezcla vigorosamente, dejar reposar en la oscuridad durante 16 a 24 horas, y nuevamente pesar el erlenmeyer y su contenido. A la mezcla agregar 23,5 % de su peso de una solución de 100 volúmenes de ácido sulfúrico en 110 volúmenes de agua, mezclar, transferir a una botella con tapón de vidrio seca y almacenar en la oscuridad, protegida de humedad atmosférica. Emplear dentro de los 6 meses de preparada. Agregar el reactivo desde una bureta de diámetro interno pequeño, protegida de la humedad, capaz de entregar 1 ml en 30 segundos o menos, sin lubricante en su robinete con excepción del reactivo. Limpiar la punta de la bureta antes de cada agregado.

Hipobromito de sodio (SR) - A una solución de 20 g de hidróxido de sodio en 75 ml de agua, agregar 5 ml de bromo. Luego que se disuelva, diluir con agua a 100 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Hipoclorito de sodio (SR) - Emplear *Solución de hipoclorito de sodio* (ver en *Especificaciones de reactivos*).

Hipoclorito de sodio diluida (SR)- Diluir 35 ml de solución de hipoclorito de sodio (SR) a 100 ml con agua inmediatamente antes de su uso. La solución contiene aproximadamente 3,5 % p/v de la cloro libre.

Índigo carmín (SR) - (*Indigotindisulfonato de sodio (SR)*) - Disolver una cantidad de indigotindisulfonato de sodio, equivalente a 180 mg de $C_{16}H_8N_2O_2(SO_3Na)_2$, en agua para obtener 100 ml. Emplear dentro de los 60 días de preparado.

Indofenol - acetato (SR) - (para la valoración de *Corticotrofina solución inyectable*) - A 60 ml de *Solución estándar de 2,6-diclorofenol-indofenol* (ver en *Soluciones volumétricas*) agregar agua hasta obtener 250 ml. Agregar a la solución resultante un

volumen igual de solución de acetato de sodio preparado recientemente al disolver 13,66 g de acetato de sodio anhidro en agua hasta obtener 500 ml y ajustando con ácido acético 0,5 N a pH 7. Almacenar en un refrigerador y emplear dentro de las 2 semanas de preparada.

Iodo (SR) - Emplear *Iodo 0,1 N* (ver en *Soluciones volumétricas*).

Iodobismutato de potasio (SR) - Disolver 12,5 g de ácido tartárico en 25 ml de agua y luego disolver 1,06 g de subnitrito de bismuto en esta mezcla (*Solución A*). Disolver 20 g de yoduro de potasio en 25 ml de agua (*Solución B*). Disolver 100 g de ácido tartárico en 450 ml de agua (*Solución C*). Agregar las *Soluciones A y B* a la *Solución C* y mezclar.

Iodobismutato de potasio (SR1) - Disolver 100 g de ácido tartárico en 400 ml de agua y agregar 8,5 g de subnitrito de bismuto. Agitar durante 1 hora, agregar 200 ml de una solución de yoduro de potasio de 400 g por litro y agitar. Dejar en reposo durante 24 horas y filtrar. Conservar protegido de la luz.

Iodobismutato de potasio (SR2) - Suspender 1,7 g de subnitrito de bismuto y 20 g de ácido tartárico en 40 ml de agua. Agregar 40 ml de una solución de yoduro de potasio al 40 % u agitar durante 1 hora y filtrar. Conservar protegido de la luz. Inmediatamente antes de su uso, mezclar 5 ml de esta solución con 15 ml de agua.

Iodohidroquinoleinsulfonato sódico (SR) - Disolver 8,8 g de ácido iodohidroquinoleín sulfónico en 200 ml de agua y agregar 6,5 ml de hidróxido de sodio 4 N. Diluir con agua a 250 ml, mezclar y filtrar.

Iodo-yoduro de potasio (SR) - Disolver 500 mg de iodo y 1,5 g de yoduro de potasio en 25 ml de agua.

Iodo-yoduro de potasio (SR1) - A 10 ml de iodo 0,05 N, agregar 0,6 g de yoduro de potasio y diluir con agua a 1000 ml. [NOTA: Preparar en forma extemporánea].

Iodo-yoduro de potasio (SR2) - Disolver 2 g de iodo y 4 g de yoduro de potasio en 10 ml de agua. Cuando la solución este completamente diluida completar a 100 ml con agua.

Iodomercuriato de potasio (SR) - (*Reactivo de Mayer*) - Disolver 1,358 g de cloruro mercúrico en 60 ml de agua. Disolver 5 g de yoduro de potasio en 10 ml de agua. Mezclar las dos soluciones y diluir con agua a 100 ml.

Iodomercuriato de potasio alcalino (SR) - (*Reactivo de Nessler*) - Disolver 10 g de yoduro de potasio en 10 ml de agua y agregar lentamente agitando, una solución saturada de cloruro mercúrico hasta que un leve precipitado rojo permanezca sin disolverse. A esta mezcla, agregar una solución de 30 g de hidróxido de potasio en 60 ml de agua previamente enfriada en baño de hielo luego agregar 1 ml adicional de la solución saturada de cloruro mercúrico. Diluir con agua a 200 ml. Dejar que el precipitado sedimente y extraer el líquido transparente. Una porción de 2 ml de este reactivo, cuando se agrega a 100 ml de una solución (1 en 300.000) de cloruro de amonio en agua libre de amoníaco, produce inmediatamente un color pardo amarillento.

Iodoplatinato (SR) - Disolver 300 mg de cloruro platínico en 97 ml de agua. De inmediato antes de usar, agregar 3,5 ml de yoduro de potasio (SR) y mezclar.

Iodoplatinato de potasio (SR) - Disolver 200 mg de cloruro platínico en 2 ml de agua, mezclar con 25 ml de solución de yoduro de potasio (1 en 25) y agregar agua para obtener 50 ml.

Ioduro cúprico alcalino (SR) - Disolver 7,5 g de sulfato cúprico ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) en aproximadamente 100 ml de agua. En un envase separado disolver 25g de carbonato de sodio anhidro, 20 g de bicarbonato de sodio y 25 g de tartrato de sodio y potasio en aproximadamente 600 ml de agua. Con agitación constante, agregar la solución de sulfato cúprico al fondo de la solución de tartrato alcalino a través de un embudo que toca el fondo del envase. Agregar 1,5 g de yoduro de potasio, 200 g de sulfato de sodio anhidro, 50 a 150 ml de iodato de potasio 0,02 M y agua en cantidad suficiente para obtener 1 litro.

Ioduro de potasio (SR) - Disolver 16,5 g de yoduro de potasio en agua para obtener 100 ml. Almacenar en envases inactivos.

Ioduro de potasio y almidón (SR) - Disolver 0,75 g de yoduro de potasio en 100 ml de agua. Calentar a ebullición y agregar bajo agitación, una solución de 0,5 g de almidón soluble en 35 ml de agua. Calentar a ebullición durante 2 minutos y dejar enfriar.

Ioduro mercúrico (SR) - (*Reactivo de Valser*) - Agregar lentamente solución de yoduro de potasio (1 en 10) a yoduro mercúrico rojo hasta que este último se disuelva casi totalmente y filtrar el exceso. Una solución que contiene 10 g de yoduro de potasio en 100 ml disuelve aproximadamente a 14 g de HgI_2 a 20 °C.

Locke-Ringer (SR) - (*Solución de Locke-Ringer*).

Cloruro de sodio	9,0 g
Cloruro de potasio	0,42 g
Cloruro de calcio	0,24 g
Cloruro de magnesio	0,2 g
Bicarbonato de sodio	0,5 g
Dextrosa	0,5 g

Agua, recientemente destilada en un matraz de vidrio grueso, c.s.p. 1000 ml

Preparar en el día de uso. Los componentes (excepto la dextrosa y el bicarbonato de sodio) pueden prepararse como soluciones madre y diluirse según sea necesario.

Mezcla de magnesia (SR) - Disolver 5,5 g de cloruro de magnesio y 7 g de cloruro de amonio en 65 ml de agua, agregar 35 ml de amoníaco (SR), dejar la mezcla aparte durante unos pocos días en una botella de cierre perfecto y filtrar. Si la solución no es transparente, filtrar antes de usar.

Molibdato de amonio (SR) - Disolver 6,5 g de ácido molíbdico finamente pulverizado en una mezcla de 14 ml de agua y 14,5 ml de hidróxido de amonio. Enfriar la solución y agregarla lentamente, agitando, a una mezcla enfriada de 32 ml de ácido nítrico y 40 ml de agua. Dejar reposar durante 48 horas y filtrar a través de un crisol de vidrio sinterizado de porosidad fina. Esta solución se deteriora con el tiempo y no es apropiada para su empleo si luego del agregado de 2 ml de fosfato dibásico de sodio (SR) a 5 ml de la solución, no se forma un precipitado amarillo abundante inmediatamente o luego de un calentamiento suave. Almacenarlo en la oscuridad. Si se forma un precipitado durante el almacenamiento, emplear solo la solución sobrenadante transparente.

Molibdato de amonio (SR1) - Disolver en caliente 5,0 g de molibdato de amonio en 30 ml de agua y dejar enfriar. Ajustar el pH a 7,0 con amoníaco diluido y diluir con agua a 50 ml.

Molibdovanádico (SR) - En un vaso de 150 ml, mezclar 4,0 g de molibdato de amonio finamente pulverizado y 100 mg de vanadato de amonio finamente pulverizado. Agregar 70 ml de agua y triturar las partículas con una varilla de vidrio. Luego de unos minutos, se obtiene una solución transparente. Agregar 20 ml de ácido nítrico y diluir a 100 ml con agua.

Monocloruro de yodo (SR) - Disolver 10 g de yoduro de potasio y 6,44 g de iodato de potasio en

75 ml de agua en un envase con tapón de vidrio. Agregar 75 ml de ácido clorhídrico y 5 ml de cloroformo y ajustar a un color de yodo débil (en el cloroformo) agregando yoduro de potasio diluido o solución de iodato de potasio. Si se libera demasiado yodo, emplear al principio una solución más fuerte de iodato de potasio que 0,01 M, haciendo el ajuste final con iodato de potasio 0,01 M. Almacenar en un sitio oscuro, y reajustar a un color de yodo débil según sea necesario.

1-Naftol (SR) - Disolver 1 g de 1-naftol en 25 ml de metanol. Preparar esta solución el día de uso.

2-Naftol (SR) - (*Betanaftol (SR)*) - Disolver 1 g de 2-naftol en 100 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 100).

p-Naftolbencéina (SR) - Disolver 250 mg de p-naftolbencéina en 100 ml de ácido acético glacial.

Naranja de metilo (SR) - Disolver 100 mg de naranja de metilo en 100 ml de agua y filtrar si fuera necesario.

Naranja de xilenol (SR) - Disolver 100 mg de naranja de xilenol en 100 ml de alcohol.

Negro de eriocromo (SR) - Disolver 200 mg de negro de eriocromo T y 2 g de clorhidrato de hidroxilamina en metanol para obtener 50 ml.

Ninhidrina (SR) - (*Tricetohidrido mono-hidrato (SR)*) - Disolver 200 mg de ninhidrina en agua para obtener 10 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Ninhidrina (SR1) - Disolver 1 g de ninhidrina en 50 ml de alcohol y agregar 10 ml de ácido acético glacial.

Nitrato cérico amónico (SR) - Disolver 6,25 g de nitrato cérico amónico en 10 ml de ácido nítrico 0,25 N. Emplear dentro de los 3 días de preparada.

Nitrato de bario (SR) - Disolver 6,5 g de nitrato de bario en agua para obtener 100 ml.

Nitrato de plata (SR) - Emplear Nitrato de plata 0,1 N (ver *Soluciones volumétricas*).

Nitrato de plata amoniacal (SR) - Disolver 1 g de nitrato de plata en 20 ml de agua. Agregar amoníaco (SR), gota a gota, agitando constantemente, hasta que el precipitado casi se disuelva pero no completamente. Filtrar y almacenar en envases de material inactínico, de cierre perfecto.

Nitrato de torio (SR) - Disolver 1 g de nitrato de torio en agua para obtener 100 ml. Filtrar, si fuera necesario.

Nitrato mercúrico (SR) - Disolver 40 g de óxido mercúrico (rojo o amarillo) en una mezcla de 32 ml de ácido nítrico y 15 ml de agua. Almacenar en envases de vidrio inactínico.

Nitrato mercurioso (SR) - Disolver 15 g de nitrato mercurioso en una mezcla de 90 ml de agua y 10 ml de ácido nítrico diluido. Almacenar en botellas de material inactínico en las cuales se ha colocado un glóbulo pequeño de mercurio.

p-Nitroanilina (SR) - A 350 mg de p-nitroanilina, agregar 1,5 ml de ácido clorhídrico y mezclar. Diluir con agua a 50 ml, mezclar y dejar sedimentar. Colocar 5 ml del líquido claro sobrenadante en un matraz aforado de 100 ml y sumergirlo en un baño de hielo. Mientras está en el baño de hielo, agregar 1 ml de ácido clorhídrico luego agregar, en pequeñas porciones, 2 ml de solución de nitrito de sodio (1 en 100), completar a volumen con agua y mezclar.

Nitrobenzaldehído (SR) - A 10 ml de solución diluida de hidróxido de sodio, agregar 0,12 g de nitrobenzaldehído triturado. Dejar en reposo, con agitación frecuente durante 10 minutos y filtrar. Preparar en el momento de su uso.

Nitrofenantrolina (SR) - Disolver 150 mg de 5-nitro-1,10-fenantrolina en 15 ml de solución de sulfato ferroso recientemente preparada (1 en 140).

Nitroferriicianuro sódico (SR) - Disolver 1 g de nitroferriicianuro sódico en agua para obtener 20 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Ortofenantrolina (SR) - Disolver 150 mg de ortofenantrolina en 10 ml de una solución de sulfato ferroso, preparada mediante disolución de 700 mg de cristales claros de sulfato ferroso en 100 ml de agua. La solución de sulfato ferroso debe estar preparada inmediatamente antes de disolver la ortofenantrolina. Almacenar en envases bien cerrados.

Oxalato de amonio (SR) - Disolver 3,5 g de oxalato de amonio en agua para obtener 100 ml.

Oxido cúprico amoniacal (SR) - (*Reactivo de Schweitzer*) - Disolver 10 g de sulfato cúprico en 100 ml de agua, agregar suficiente solución de hidróxido de sodio (1 en 5) hasta precipitar el hidróxido de cobre, recolectar este último en un filtro y lavarlo con agua fría exenta de sulfato. Disolver el precipitado, que debe mantenerse húmedo durante todo el procedimiento, en la cantidad mínima de amoníaco (SR) necesaria para disolución completa.

Pasta de yoduro-almidón (SR) - Calentar 100 ml de agua en un vaso de precipitados de 250 ml hasta ebullición, agregar una solución de

750 mg de yoduro de potasio en 5 ml de agua. Luego agregar 2 g de cloruro de cinc disuelto en 10 ml de agua y mientras continúa la ebullición agregar, con agitación, una suspensión homogénea de 5 g de almidón soluble en 30 ml de agua fría. Continuar calentando a ebullición durante 2 minutos luego enfriar. Almacenar en envases bien cerrados en un sitio frío.

La pasta de yoduro-almidón (SR) debe mostrar una línea azul definida cuando una varilla de vidrio, sumergida en una mezcla de 1 ml de nitrito de sodio 0,1 M, 500 ml de agua y 10 ml de ácido clorhídrico, se pasa sobre un extendido de la pasta.

Perclorato de metiltionina (SR) - A 500 ml de una solución de perclorato de potasio (1 en 1.000), agregar, gota a gota, agitando constantemente, solución de azul de metileno (1 en 100) hasta observar una leve turbidez permanente. Dejar que el precipitado sedimente, decantar el líquido sobrenadante a través de papel y emplear solo la solución transparente.

Penicilasa (SR) - Transferir 10 g de caseína hidrolizada, 2,72 g de fosfato dihidrogenado de potasio y 5,88 g de citrato de sodio a un matraz de 1 litro, agregar 200 ml de agua, ajustar a pH 7,2 con hidróxido de sodio al 20 % y completar a volumen con agua. Disolver 0,41 g de sulfato de magnesio en 5 ml de agua y agregar 1 ml de una solución de 1,6 mg de sulfato ferroso amónico por ml y diluir a 10 ml con agua. Esterilizar ambas soluciones en autoclave, enfriar, mezclar, distribuir en sendos erlenmeyer formando capas poco profundas y sembrar *Bacillus cereus* (ATCC 9946). Dejar en reposo a una temperatura comprendida entre 18 y 37 °C hasta obtener crecimiento y luego mantener a una temperatura comprendida entre 35 y 37 °C durante 16 horas, en constante agitación para asegurar la aireación. Centrifugar y esterilizar el líquido sobrenadante por filtración por membrana. Cada ml debe contener no más de 0,4 microkatal (correspondientes a una hidrólisis de por lo menos 500 mg de bencilpenicilina en ácido bencilpeniciloico por hora) a 30 °C y a pH 7, siempre que la concentración de bencilpenicilina no descienda por debajo del nivel necesario para alcanzar la saturación enzimática. La constante de Michaelis para la bencilpenicilina, de la penicilinasas presente en la solución debe ser aproximadamente 12 µg por ml. Conservar a una temperatura comprendida entre 0 y 2 °C y emplear en un periodo menor a 3 días. En forma liofilizada y en ampollas selladas, puede conservarse durante varios meses.

Ensayo de esterilidad <370> - Debe cumplir con este requisito.

Periodato de sodio (SR) - Disolver 1,07 g de periodato de sodio en agua, agregar 5 ml de ácido sulfúrico diluido y diluir a 100 ml con agua. [NOTA: preparar esta solución antes de su empleo].

Permanganato de potasio (SR) - Emplear Permanganato de potasio 0,1 N (ver *Soluciones volumétricas*).

Peróxido de hidrógeno (SR) - Emplear *Agua oxigenada*.

Peróxido de hidrógeno al 3 % (SR) - H_2O_2 - (PM: 34,0) - Contiene no menos de 2,5 % p/p y no más de 3,5 % p/p de H_2O_2 . Un volumen de esta solución corresponde a unas 10 veces su volumen de oxígeno. Se puede agregar un estabilizante apropiado.

Peróxido de hidrógeno al 30 % (SR) - H_2O_2 - (PM: 34,0) - Contiene no menos de 29 % p/p y no más de 31 % p/p de H_2O_2 . Un volumen de esta solución corresponde a unas 11 veces su volumen de oxígeno. Se puede agregar un estabilizante apropiado.

Picrato alcalino (SR) - Mezclar 20 ml de solución de trinitrofenol (1 en 100) con 10 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 20), diluir con agua a 100 ml y mezclar. Emplear dentro de los 2 días de preparado.

Piridilazonaftol (SR) - Preparar una solución de 1 g de piridilazonaftol en 1 litro de alcohol.

Sensibilidad - A 50 ml de agua, agregar 10 ml de solución reguladora de acetato (SR1), 0,10 ml de edetato disódico 0,02 M y 0,25 ml de piridilazonaftol (SR). Agregar 0,15 ml de una solución de sulfato de cobre de 5 g por litro: el color debe virar de amarillo pálido a violeta.

Piridina-pirazolona (SR) - A 100 ml de una solución saturada de 1-fenil-3-metil-2-pirazolin-5-ona, agregar 20 ml de una solución (1 en 1000) de 3,3N-dimetil-1,1N-difenil-[4,4N-bi-2-pirazolina]-5,5N-diona en piridina. Almacenar en una botella de material inactivo y emplear dentro de los 3 días de preparada.

Piroantimoniato de potasio (SR) - Disolver 2 g de piroantimoniato de potasio en 95 ml de agua caliente. Enfriar rápidamente, agregar una solución que contenga 2,5 g de hidróxido de potasio en 50 ml de agua y 1 ml de solución de hidróxido de sodio (8,5 en 100). Dejar reposar durante 24 horas, filtrar y diluir con agua a 150 ml.

Pirogalol alcalino (SR) - Disolver 500 mg de pirogalol en 2 ml de agua. Disolver 12 g de hidróxido de potasio en 8 ml de agua. Las solucio-

nes deben prepararse en el momento y mezclar inmediatamente antes de usar.

Platino-cobalto (SR) - Disolver 1,246 g de cloroplatinato de potasio (K_2PtCl_6) y 1,000 g de cloruro de cobalto ($CoCl_2 \cdot 6H_2O$) en agua, agregar 100 ml de ácido clorhídrico y diluir con agua a 1 litro.

Polisulfuro de amonio (SR) - Líquido amarillo, preparado saturando el sulfuro de amonio (SR) con azufre.

Púrpura de bromocresol (SR) - Disolver 250 mg de púrpura de bromocresol en 20 ml de hidróxido de sodio 0,05 N y diluir con agua a 250 ml.

Púrpura de bromocresol (SR1) - Disolver 50 mg de púrpura de bromocresol en 0,92 ml de hidróxido de sodio 0,1 N y 20 ml de alcohol. Diluir con agua a 100 ml.

Sensibilidad - A 0,2 ml de púrpura e bromocresol, agregar 100 ml de agua libre de dióxido de carbono y 0,05 ml de hidróxido de sodio 0,02 N. La solución es azul violeta. El viraje del indicador al amarillo o debe consumir más de 0,2 ml de ácido clorhídrico 0,2 M.

Zona de viraje - De pH 5,2 (amarillo) a pH 6,8 (azul violeta).

Púrpura de m-cresol (SR) - Disolver 100 mg de púrpura de metacresol en 13 ml de hidróxido de sodio 0,01 N, diluir con agua a 100 ml y mezclar.

Púrpura de metilo (SR) - Ver Rojo de metilo-azul de metileno (SR).

Quinona (SR) - Disolver 500 mg de p-benzoquinona en 2,5 ml de ácido acético glacial y diluir con alcohol a 50 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Reactivo de Biuret - Disolver 1,5 g de sulfato cúprico y 6,0 g de tartrato de sodio y potasio en 500 ml de agua en un matraz aforado de 1 litro. Agregar 300 ml de solución de hidróxido de sodio libre de carbonato (1 en 10), diluir con solución de hidróxido de sodio libre de carbonato (1 en 10) a 1 litro y mezclar.

Reactivo de Denigès -Ver Sulfato mercuríco(SR).

Reactivo de Mayer - Ver Iodomercuriato de potasio (SR).

Reactivo de Millon - Transferir 2 ml de mercurio a un erlenmeyer, agregar 20 ml de ácido nítrico. Agitar el erlenmeyer bajo una campana extractora para deshacer el mercurio en glóbulos pequeños. Luego de aproximadamente 10 minutos, agregar

35 ml de agua y, si aparece un precipitado o cristales, agregar ácido nítrico diluido suficiente (1 en 5, preparado a partir de ácido nítrico al que se le hayan retirado los óxidos haciendo pasar aire a través de él hasta que se torne incoloro) para disolver el sólido separado. Agregar solución de hidróxido de sodio (1 en 10) gota a gota, mezclando minuciosamente, hasta que el precipitado grueso que se forma luego del agregado de cada gota ya no se redisuelve pero se dispersa para formar una suspensión. Agregar 5 ml adicionales de ácido nítrico diluido y mezclar. Preparar esta solución al momento de usar.

Reactivo de Nessler - Ver Iodomercuriato de potasio alcalino (SR).

Reactivo de Schweitzer - Ver Óxido cúprico amoniacal (SR).

Reineckato de amonio (SR) - Agitar aproximadamente 500 mg de reineckato de amonio con 20 ml de agua con frecuencia durante 1 hora y filtrar. Emplear dentro de los 2 días de preparado.

Resorcinol (SR) - Disolver 1 g de resorcinol en ácido clorhídrico para obtener 100 ml.

Rojo congo (SR) - Disolver 500 mg de rojo congo en una mezcla de 10 ml de alcohol y 90 ml de agua.

Rojo cresol (SR) - Triturar 100 mg de rojo cresol en un mortero con 26,2 ml de hidróxido de sodio 0,01N hasta disolución completa luego diluir la solución con agua a 250 ml.

Rojo cresol - azul de timol (SR) - Agregar 15 ml de azul de timol (SR) a 5 ml de rojo cresol (SR) y mezclar.

Rojo de fenol (SR) - (*Fenolsulfoftaleína (SR)*) - Disolver 100 mg de fenolsulfoftaleína en 100 ml de alcohol y filtrar si fuera necesario.

Rojo de fenol (SR1) - Disolver 25 mg de sulfato de amonio en 235 ml de agua y agregar 105 ml de hidróxido de sodio diluido y 135 ml de ácido acético diluido. Agregar 25 ml de una solución preparada disolviendo 30 mg de rojo de fenol en 1,5 ml de hidróxido de sodio diluido y completando a volumen de 100 ml con agua.

Rojo de metilo (SR) - Disolver 100 mg de rojo de metilo en 100 ml de alcohol y filtrar si fuera necesario.

Rojo de metilo (SR 1) - Disolver 50 mg de rojo de metilo en una mezcla de 1,86 ml de hidróxido de sodio 0,1 M y de 50 ml de alcohol. Diluir a 100 ml con agua.

Ensayo de sensibilidad - A 0,1 ml de solución de rojo de metilo, agregar 100 ml de agua y 0,05 ml

de ácido clorhídrico 0,02 M. La solución es roja. El viraje del indicador al amarillo no requiere más de 0,1ml de hidróxido de sodio 0,02 M.

Rojo de metilo-azul de metileno (SR) - (*Púrpura de metilo (SR)*) - Agregar 10 ml de rojo de metilo (SR) a 10 ml de azul de metileno (SR) y mezclar.

Rojo de metilo metanólico (SR) - Disolver 1 g de rojo de metilo en 100 ml de metanol y filtrar, si fuera necesario. Almacenar en envases inactivos y emplear dentro de los 21 días de preparado.

Rojo de quinaldina (SR) - Disolver 100 mg de rojo de quinaldina en 100 ml de alcohol.

Rojo de rutenio (SR) - Disolver 10 g de acetato de plomo en agua, diluir con agua a 100 ml y agregar 80 mg de rojo de rutenio. La solución es de color rojo-vino. [NOTA: si fuera necesario, agregar rojo de rutenio adicional para obtener un color rojo-vino.]

Rojo neutro (SR) - Disolver 100 mg de rojo neutro en 100 ml de alcohol al 50 %.

Salicilato de hierro (SR) - Disolver 500 mg de sulfato férrico amónico en 250 ml de agua que contiene 10 ml de ácido sulfúrico diluido y agregar agua para obtener 500 ml. A 100 ml de la solución resultante agregar 50 ml de una solución de salicilato de sodio al 1,15%, 20 ml de ácido acético diluido y 80 ml de una solución de acetato de sodio al 13,6 %, luego agregar agua hasta obtener 500 ml. Almacenar en un envase inactivo de cierre perfecto. Emplear dentro de las dos semanas de preparada.

Solución cupri-tartárica (SR) - Ver Tartrato cúprico alcalino (SR).

Solución de Fehling - Ver Tartrato cúprico alcalino (SR).

Solución de Locke - Ringer - Ver Locke - Ringer (SR).

Solución estándar de plomo - Ver <590>. *Límite de metales pesados.*

Solución fisiológica (SR) - Disolver 9,0 g de cloruro de sodio en agua para obtener 1 litro. [NOTA: cuando en este compendio se especifica *Solución fisiológica libre de piretógenos (SR)*, se empleará solución fisiológica (SR) que cumpla con los requisitos de <340>. *Ensayo de piretógenos.*]

Solución fisiológica libre de piretógenos (SR) - Ver Solución fisiológica (SR).

Solución fuerte de 1-naftol (SR) - Disolver 1 g de 1-naftol en una solución de 6 g de hidróxido

de sodio y 16 g de carbonato de sodio anhidro en 100 ml de agua.

Solución de Lugol (SR) - Disolver 5 g de yodo y 10 g de yoduro de potasio en 100 ml de agua.

Solución reguladora de acetato (SR) - Disolver 320 g de acetato de amonio en 500 ml de agua, agregar 5 ml de ácido acético glacial, diluir con agua a 1 litro y mezclar. Esta solución tiene un pH entre 5,9 y 6,0.

Solución reguladora de acetato (SR1) - Disolver 136 g de acetato de sodio y 77 g de acetato de amonio en 100 ml de agua, agregar 250 ml de ácido acético glacial y mezclar. Esta solución tiene un pH de aproximadamente 4,4.

Solución reguladora de acetato (SR2) - Disolver 77,1 g de acetato de amonio en agua, agregar 70 ml de ácido acético glacial y diluir con agua a 1 litro. Esta solución tiene un pH de aproximadamente 4,5.

Solución reguladora de ácido acético-acetato de amonio (SR) - Disolver 77,1 g de acetato de amonio en agua, agregar 57 ml de ácido acético glacial y diluir con agua a 1 litro.

Solución reguladora de amoníaco-cloruro de amonio (SR) - Disolver 67,5 g de cloruro de amonio en agua, agregar 570 ml de hidróxido de amonio y diluir con agua a 1 litro.

Solución reguladora de barbital pH 8,4 (SR) - Disolver 8,25 g de barbital sódico en agua y diluir a 1 litro con el mismo solvente.

Solución reguladora de barbital pH 8,6 (SR) - Disolver 1,38 g de barbital, 8,76 g de barbital sódico y 0,38 g de lactato de calcio en agua y diluir a 1 litro con el mismo solvente.

Solución reguladora fosfato salina pH 7,4 (SR) - Disolver 2,38 g de Na_2HPO_4 , 0,19 g de KH_2PO_4 y 8,0 g de ClNa en H_2O . Diluir a 1 litro con el mismo solvente y ajustar a pH 7,4 si es necesario.

Subacetato de plomo (SR) - Triturar 14 g de monóxido de plomo con 10 ml de agua hasta obtener una pasta suave y transferir la mezcla a una botella, empleando 10 ml de agua adicionales para lavar. Disolver 22 g de acetato de plomo en 70 ml de agua y agregar la solución a la mezcla de óxido de plomo. Agitar vigorosamente durante 5 minutos y luego agitar con frecuencia durante 7 días. Finalmente filtrar, y agregar suficiente agua recientemente hervida a través del filtro hasta obtener 100 ml.

Subacetato de plomo diluido (SR) - Diluir 3,25 ml de subacetato de plomo (SR) con agua, recientemente hervida y enfriada, para obtener 100 ml. Almacenar en envases pequeños, completamente llenos, de cierre perfecto.

Sudán III (SR) - Disolver 50 mg de sudán III en 25 ml de alcohol, calentando si fuera necesario. Enfriar, agregar 25 ml de glicerina, y mezclar. Filtrar si queda material sin disolver.

Sudán IV (SR) - Disolver 500 mg de sudán IV en cloroformo para obtener 100 ml.

Sulfanílico - 1-naftilamina (SR) - Disolver 500 mg de ácido sulfanílico en 150 ml de ácido acético. Disolver 100 mg de clorhidrato de 1-naftilamina en 150 ml de ácido acético y mezclar las dos soluciones. El color rosado, que se puede desarrollar al dejar reposar la solución, puede ser eliminado por tratamiento con cinc.

Sulfato cúprico (SR) - Disolver 12,5 g de sulfato cúprico en agua para obtener 100 ml.

Sulfato de amonio cúprico (SR) - A sulfato cúprico (SR) agregar amoníaco (SR), gota a gota, hasta que el precipitado formado al principio se disuelva casi totalmente pero no completamente. Dejar sedimentar y decantar la solución transparente. Preparar esta solución el día de uso.

Sulfato de calcio (SR) - Una solución saturada de sulfato de calcio en agua.

Sulfato de magnesio (SR) - Disolver 12 g de cristales de sulfato de magnesio, seleccionados por la ausencia de fluorescencia, en agua para obtener 100 ml.

Sulfato de potasio (SR) - Disolver 1 g de sulfato de potasio en agua para obtener 100 ml.

Sulfato férrico amónico (SR) - Disolver 8 g de sulfato férrico amónico en agua para obtener 100 ml.

Sulfato ferroso (SR) - Disolver 8 g de cristales transparentes de sulfato ferroso en aproximadamente 100 ml de agua recientemente hervida y completamente enfriada. Preparar esta solución antes de usar.

Sulfato ferroso ácido (SR) - Disolver 7 g de cristales de sulfato ferroso en 90 ml de agua recientemente hervida y completamente enfriada y agregar ácido sulfúrico para obtener 100 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Sulfato mercúrico (SR) - (*Reactivo de Denigès*) Mezclar 5 g de óxido mercúrico amarillo con 40 ml de agua, y agregar lentamente, con agitación, 20 ml de ácido sulfúrico agitando luego agregar

otros 40 ml de agua y agitar hasta disolución completa.

Sulfuro de amonio (SR) - Saturar amoníaco (SR) con sulfuro de hidrógeno y agregar dos tercios de su volumen de amoníaco (SR). Residuo de ignición: no más de 0,05 %. La solución no se enturbia o por sulfato de magnesio (SR) o por cloruro de calcio (SR) (*carbonato*). Esta solución no es apropiada para usar si se forma un precipitado abundante de azufre. Almacenarlo en pequeñas botellas de vidrio inactivo, completamente llenas, en un sitio frío y oscuro.

Sulfuro de hidrógeno (SR) - Una solución saturada de sulfuro de hidrógeno, preparada haciendo pasar H₂S a través de agua fría. Almacenarlo en botellas pequeñas de material inactivo, completamente llenas. No es apropiado a menos que posea un olor fuerte a H₂S y que produzca inmediatamente un precipitado copioso de sulfuro cuando se agrega a un volumen igual de cloruro férrico (SR). Almacenar en un sitio frío y oscuro.

Sulfuro de sodio (SR) - Disolver 1 g de sulfuro de sodio en agua para obtener 10 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Sulfuro de sodio (SR1) - Disolver en caliente 12 g de sulfuro de sodio en 45 ml de una mezcla de glicerina al 85 % p/p y agua (29:10). Dejar enfriar y diluir a 100 ml con la misma mezcla de solventes. La solución debe ser incolora.

Tartrato cúprico alcalino (SR) - (*Solución de Fehling*) - *Solución de cobre (A)* - Disolver 34,66 g de cristales pequeños, cuidadosamente seleccionados de sulfato cúprico, que no presenten trazas de fluorescencia por humedad adherida, en agua para obtener 500 ml. Almacenar esta solución en envases pequeños, de cierre perfecto. *Solución de tartrato alcalino (B)* - Disolver 173 g de tartrato de sodio y potasio cristalizado y 50 g de hidróxido de sodio en agua para obtener 500 ml. Almacenar esta solución en envases pequeños resistentes a los álcalis. Para usar, mezclar volúmenes exactamente iguales de Soluciones A y B en el momento requerido.

Tartrato de sodio (SR) - Disolver 11,5 g de tartrato de sodio en agua para obtener 100 ml.

Tetrabromofenoltaleinato de etilo (SR) - Disolver 100 mg de tetrabromofenoltaleinato de etilo en 90 ml de ácido acético glacial y diluir con ácido acético glacial a 100 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Tetrafenilborato de sodio (SR) - Disolver 1,2 g de tetrafenilborato de sodio en agua para ob-

tener 200 ml. Si fuera necesario, agitar durante 5 minutos con 1 g de óxido de aluminio hidratado recientemente preparado y filtrar para clarificar.

Tetraiodomercurato de potasio alcalino (SR) - Disolver 11 g de ioduro de potasio y 15 g de ioduro mercúrico en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Mezclar esta solución con una solución de 250 mg de hidróxido de sodio por ml (1:1). [NOTA: Preparar esta solución en el momento de su empleo.]

Timolftaleína (SR) - Disolver 100 mg de timolftaleína en 100 ml de alcohol y filtrar, si fuera necesario.

Tioacetamida (SR) - Disolver 4 g de tioacetamida en 100 ml de agua.

Tioacetamida-glicerina básica (SR) - Mezclar 0,2 ml de tioacetamida (SR) y 1 ml de glicerina básica (SR) y calentar en un baño de agua a ebullición durante 20 segundos. Emplear la mezcla inmediatamente.

Tiocianato de amonio (SR) - Disolver 8 g de tiocianato de amonio en agua para obtener 100 ml.

Tiocianato mercúrico amónico (SR) - Disolver 30 g de tiocianato de amonio y 27 g de cloruro mercúrico en agua para obtener 1 litro.

Tioglicolato de sodio (SR) - Disolver 1,5 g de tioglicolato de sodio en 450 ml de agua y agregar 50 ml de alcohol. Emplear dentro de los 3 días de preparado.

Tiosulfato de sodio (SR) - Emplear Tiosulfato de sodio 0,1 N (ver *Soluciones volumétricas*).

Tornasol (SR) - Digerir 25 g de tornasol en polvo con tres porciones sucesivas de 100 ml de alcohol hirviendo, continuando cada extracción durante aproximadamente 1 hora. Filtrar, lavar con alcohol y descartar el filtrado alcohólico. Macerar el residuo con aproximadamente 25 ml de agua fría durante 4 horas, filtrar y descartar el filtrado. Finalmente digerir el residuo con 125 ml de agua hirviendo durante 1 hora, enfriar y filtrar.

Tricetohidrendeno monohidrato (SR) - Ver Ninhidrina (SR).

Tricloruro de antimonio (SR) - Disolver 20 g de tricloruro de antimonio en cloroformo hasta obtener 100 ml. Filtrar si fuera necesario.

Tricloruro de titanio (SR) - Disolver 15 g de tricloruro de titanio en 100 ml de solución de ácido clorhídrico al 10 %.

Tricloruro de titanio-ácido sulfúrico (SR) - Mezclar con cuidado 20 ml de tricloruro de titanio

(SR) en 13 ml de ácido sulfúrico. Agregar peróxido de hidrógeno al 30 % en cantidad suficiente para producir una coloración amarilla. Calentar hasta que se desprendan gases, dejar enfriar y diluir con agua. Repetir la evaporación y la adición de agua hasta que se obtenga una solución incolora. Diluir con agua a 100 ml.

Trinitrofenol (SR) - (*Ácido pícrico (SR)*) - Disolver el equivalente a 1 g de trinitrofenol anhidro en 100 ml de agua caliente. Enfriar la solución y filtrar, si fuera necesario.

Vanadato de amonio (SR) - Disolver 2,5 g de vanadato de amonio en 500 ml de agua hirviendo, enfriar y agregar 20 ml de ácido nítrico. Mezclar, enfriar y agregar agua para obtener 1 litro. Almacenar en envases de polietileno.

Verde de bromocresol (SR) - Disolver 50 mg de verde de bromocresol en 100 ml de alcohol y filtrar si fuera necesario.

Verde de bromocresol (SR1) - Disolver 50 mg de verde de bromocresol en 0,72 ml de hidróxido de sodio 0,1 N y 20 ml de alcohol. Completar a 100 ml con agua.

Ensayo de sensibilidad - A 0,2 ml de solución de verde de bromocresol, agregar 100 ml de agua libre de dióxido de carbono: la solución debe ser azul. El cambio de color del indicar al amarillo no debe requerir más de 0,2 ml de ácido clorhídrico 0,02 M.

Verde de malaquita (SR) - Disolver 1 g de verde de malaquita oxalato en 100 ml de ácido acético glacial.

Violeta de metilo (SR) - Ver Cristal violeta (SR).

SOLUCIONES VOLUMÉTRICAS (SV)

Soluciones normales - Las soluciones normales son soluciones que contienen el peso equivalente a 1 gramo de la sustancia activa en cada 1 litro de solución; esto es, una cantidad equivalente a 1,0079 gramos de hidrógeno o 7,9997 gramos de oxígeno.

Soluciones molares - Las soluciones molares son soluciones que contienen, en 1 litro, 1 molécula gramo de reactivo. Por ej., cada litro de una solución molar de ácido sulfúrico contiene 98,07 gramos de H₂SO₄.

Soluciones empíricas - Con frecuencia es difícil preparar soluciones estándar de una normalidad teórica deseada. Una solución de aproximadamente la normalidad deseada, se prepara y estandariza por titulación contra una solución de estándar primario. El factor de normalidad obtenido se emplea en

todos los cálculos cuando se empleen dichas soluciones empíricas. Si se desea, una solución preparada empíricamente puede diluirse hasta una normalidad determinada siempre que sea lo suficientemente concentrada para ser diluida.

Todas las soluciones volumétricas, obtenidas ya sea por disolución directa o por dilución de una solución más concentrada, deben mezclarse perfectamente por agitación antes de la normalización. Debido a que la concentración de una solución estándar puede cambiar con el tiempo, el factor debe determinarse nuevamente con frecuencia.

Cuando se emplean soluciones de un reactivo en diversas normalidades, los detalles de la preparación y estandarización se dan generalmente para la normalidad que se emplea más frecuentemente. Las soluciones más concentradas o más diluidas se preparan y estandarizan de la misma manera general según se describe, empleando cantidades proporcionales del reactivo. Es posible en muchos casos, preparar las soluciones de menor normalidad exactamente por dilución de una solución más concentrada. Las soluciones volumétricas preparadas por dilución se deben estandarizar nuevamente según se indica para la solución más concentrada o comparando con otra solución volumétrica que posea una relación conocida con la solución de mayor concentración.

Las soluciones diluidas que no son estables, como por ej., permanganato de potasio 0,01 N o tiosulfato de sodio diluido, son preferentemente preparadas al diluir exactamente la normalidad mayor con agua previamente hervida y enfriada.

Determinaciones con blancos - Cuando se indica que se debe hacer *las correcciones necesarias* por medio de una determinación con un blanco, la determinación se hará con las mismas cantidades de los mismos reactivos tratados de la misma manera de la solución o mezcla que contenga la porción de la sustancia en análisis, pero omitiendo dicha sustancia. En todas las valoraciones volumétricas de la Farmacopea deberán hacerse correcciones apropiadas debidas a la determinación del blanco (ver 780. *Volumetría*).

En todas las valoraciones de la Farmacopea de naturaleza volumétrica se indica el peso de la sustancia en análisis equivalente a cada ml de la solución volumétrica primaria. En general, estos equivalentes pueden obtenerse por cálculos sencillos a partir de los datos proporcionados en fórmulas y pesos moleculares.

PREPARACIÓN Y MÉTODOS DE ESTANDARIZACIÓN DE SOLUCIONES VOLUMÉTRICAS

A continuación se indica sólo un método para estandarizar pero pueden emplearse otros métodos de normalización, capaces de proporcionar al menos el mismo grado de exactitud. Los valores obtenidos en la estandarización de soluciones volumétricas son válidos para todos los usos farmacopeicos de estas soluciones, independientemente del instrumental o indicadores químicos empleados en las monografías correspondientes. Cuando la normalidad o molaridad aparente de una solución titulante depende de las condiciones especiales del uso, la monografía correspondiente establece las indicaciones para estandarizar el reactivo en el contexto especificado. Para aquellas sales que pueden obtenerse como estándar primarios certificados o altamente purificadas, se acepta preparar las soluciones pesando exactamente una cantidad apropiada de sal y disolviendo para producir un volumen específico de solución de concentración conocida. Los ácidos acético, clorhídrico y sulfúrico pueden estandarizarse contra una solución de hidróxido de sodio recientemente estandarizada contra un estándar primario certificado.

Cuando es posible, todas las soluciones volumétricas son preparadas, estandarizadas y empleadas a la temperatura estándar de 25 EC. Si la titulación se lleva a cabo con una solución volumétrica a una temperatura marcadamente diferente, estandarizar la solución volumétrica empleada como solución titulante a esa temperatura diferente o hacer una corrección apropiada de temperatura.

Ácido acético 2 N

$C_2H_4O_2$ - (PM: 60,1)
120,10 g en 1 litro.

Agregar 116 ml de ácido acético glacial a un volumen suficiente de agua, enfriar a temperatura ambiente y diluir con agua a 1 litro.

Ácido clorhídrico 1 N

HCl - (PM: 36,5)
36,46 g en 1 litro.

Diluir 85 ml de ácido clorhídrico con agua a 1 litro. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente alrededor de 5,0 g de trometamina, previamente secada a 105 °C durante 3 horas. Disolver en 50 ml de agua y agregar 2 gotas de verde de bromocresol (SR). Titular con ácido clorhídrico 1 N hasta punto final amarillo pálido. Calcular la normalidad. Cada 121,14 mg de trometamina equivale a 1 ml de ácido clorhídrico 1 N.

Ácido clorhídrico 0,5 N en metanol

HCl - (PM: 36,5)
18,23 g en 1 litro.

Agregar lentamente a un matraz aforado de 1 litro que contenga 40 ml de agua., Enfriar y completar a volumen con metanol. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente alrededor de 2,5 g de trometamina, previamente secada a 105 °C durante 3 horas. Proceder según se indica en Ácido Clorhídrico 1 N, comenzando donde dice: “*Disolver en 50 ml de agua...*”.

Ácido oxálico 0,1 N

$H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$ - (PM: 126,1)
6,303 g en 1 litro.

Disolver 6,45 g de ácido oxálico en agua hasta obtener 1 litro. Estandarizar mediante titulación contra permanganato de potasio 0,1 N (SV) recientemente estandarizado según se indica en Permanganato de potasio 0,1 N.

Almacenar en botellas de material inactivo con tapón de vidrio.

Ácido perclórico 0,1 N en ácido acético glacial

$HClO_4$ - (PM: 100,5)
10,05 g en 1 litro.

[NOTA: cuando en los ensayos y valoraciones se requiere esta solución volumétrica, se especifica como *ácido perclórico 0,1 N*. Por lo tanto, cuando se especifica 0,1 N u otra concentración de esta solución volumétrica, se empleará la solución en ácido acético glacial, a menos que se declaren las palabras en *dioxano* (Ver también Ácido perclórico 0,1 N en dioxano).]

Mezclar 8,5 ml de ácido perclórico con 500 ml de ácido acético glacial y 21 ml de anhídrido acético, enfriar y agregar ácido acético glacial hasta obtener 1 litro. Alternativamente, la solución puede prepararse del siguiente modo. Mezclar 11 ml de ácido perclórico al 60 % con 500 ml de ácido acético glacial y 30 ml de anhídrido acético, enfriar y agregar ácido acético glacial hasta obtener 1 litro.

Dejar reposar la solución preparada durante 1 día para que el anhídrido acético en exceso se combine y determinar el contenido de agua por *Titulación volumétrica directa* (ver 120. *Determinación de agua*). Si el contenido de agua excede 0,05 %, agregar más anhídrido acético. Si la solución no contiene agua tituable, agregar suficiente agua para obtener un contenido de entre 0,02 y 0,05 % de agua. Dejar reposar la solución durante 1 día y titular nuevamente el contenido de agua. La solución obtenida contiene entre 0,02 y 0,05 % de agua, indicando la ausencia de anhídrido acético.

Estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente alrededor de 700 mg de biftalato de potasio, previamente triturado y secado a 120 °C durante 2 horas y disolver en 50 ml de ácido acético glacial en un erlenmeyer de 250 ml. Agregar 2 gotas de cristal violeta (SR) y titular con solución de ácido perclórico hasta que el color cambie de violeta a verde-azulado. Descontar el volumen de ácido perclórico consumido por 50 ml del ácido acético glacial y calcular la normalidad. Cada 20,42 mg de biftalato de potasio equivale a 1 ml de ácido perclórico 0,1 N.

Ácido perclórico 0,1 N en dioxano

Mezclar 8,5 ml de ácido perclórico con suficiente dioxano, que ha sido especialmente purificado mediante adsorción, para obtener 1 litro. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente alrededor de 700 mg de biftalato de potasio, previamente reducido a polvo y secado a 120 °C durante 2 horas y disolver en 50 ml de ácido acético glacial en un erlenmeyer de 250 ml. Agregar 2 gotas de cristal violeta (SR) y titular con solución de ácido perclórico hasta que el color cambie de violeta a verde azulado. Descontar el volumen de ácido perclórico consumido por 50 ml del ácido acético glacial y calcular la normalidad. Cada 20,42 g de biftalato de potasio equivale a 1 ml de ácido perclórico 0,1 N.

Ácido sulfúrico 1 N

H_2SO_4 - (PM: 98,1)
49,04 g en 1 litro.

Agregar lentamente, agitando, 30 ml de ácido sulfúrico a aproximadamente 1020 ml de agua, dejar enfriar a 25 °C y determinar la normalidad titulando contra trometamina según se describe en Ácido clorhídrico 1 N.

Ácido sulfúrico 0,5 N en alcohol

H_2SO_4 - (PM: 98,1)
24,52 g en 1 litro.

Agregar lentamente, agitando, 13,9 ml de ácido sulfúrico a una cantidad suficiente de alcohol absoluto para obtener 1 litro. Enfriar y estandarizar contra trometamina según se describe en Ácido clorhídrico 0,5 N en metanol.

Arsenito de potasio 0,1 N

$KAsO_2$ - (PM: 146,0)
7,301 g en 1 litro.

Disolver 4,9455 g de trióxido de arsénico estándar primario, secado previamente a 105 °C durante 1 hora, en 75 ml de hidróxido de potasio 1 N. Agregar 40g de bicarbonato de potasio, disuelto en aproximadamente 200 ml de agua y diluir con agua a 1 litro.

Bromato de potasio 0,1 N

$KBrO_3$ - (PM: 167,0)
2,784 g en 1 litro.

Disolver 2,784 g de bromato de potasio en agua, diluir a 1 litro y estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 40 ml de la solución, exactamente medidos, a un erlenmeyer con tapón de vidrio, agregar 3 g de ioduro de potasio y continuar con 3 ml de ácido clorhídrico. Dejar reposar, durante 5 minutos luego titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregar 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Calcular la normalidad.

Bromo 0,1 N

Br - (PM: 79,9)
7,990 g en 1 litro.

Disolver 3 g de bromato de potasio y 15 g de bromuro de potasio en agua para obtener 1 litro y estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 25 ml de la solución, exactamente medidos, a un matraz de iodo de 500 ml y diluir con 120 ml de agua. Agregar 5 ml de ácido clorhídrico, tapar el matraz y agitar suavemente. Luego agregar 5 ml de ioduro de potasio (SR), tapar nuevamente, agitar la mezcla, dejar reposar durante 5 minutos y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Calcular la normalidad.

Almacenar en botella de material inactivo oscuro con tapón de vidrio.

Bromuro-Bromato de potasio 0,1 N

Disolver 2,78 g de bromato de potasio ($KBrO_3$) y 12,0 g de bromuro de potasio (KBr) en agua y diluir con agua a 1 litro. Estandarizar según el procedimiento dado para Bromato de potasio 0,1 N.

Bromuro de tetrametilamonio 0,1 M

$(CH_3)_4NBr$ - (PM: 154,1)
15,41 g en 1 litro.

Disolver 15,41 g de bromuro de tetrametilamonio en agua hasta obtener 1 litro y estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 40 ml de la solución, exactamente medidos, a un vaso de precipitados, agregar 10 ml de ácido nítrico diluido y 50,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV) y mezclar. Agregar 2 ml de sulfato férrico amónico (SR) y titular el exceso de nitrato de plata con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Calcular la molaridad.

Cloruro de bario 0,1 M

BaCl₂ - (PM: 208,3)

24,4 g en 1 litro.

Disolver 24,4 g de cloruro de bario en agua y diluir a 1 litro con el mismo solvente y estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 10 ml de la solución obtenida, agregar 60 ml de agua, 3 ml de amoníaco concentrado, aproximadamente 1 mg de púrpura de ftaleína y titular con edetato disódico 0,1 M (SV). Cuando la solución comienza a decolorarse, agregar 50 ml de alcohol y continuar la titulación hasta la desaparición de la coloración azul violeta.

Cloruro de tetrametilamonio 0,1 M

(CH₃)₄NCl - (PM: 109,6)

10,96 g en 1 litro.

Disolver 10,96 g de cloruro de tetrametilamonio en agua para obtener 1 litro y estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 40 ml de la solución, exactamente medidos, a un erlenmeyer, agregar 10 ml de ácido nítrico diluido y 50,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV) y mezclar. Agregar 5 ml de nitrobenzoceno y 2 ml de sulfato férrico amónico (SR), agitar y titular el exceso de nitrato de plata con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Calcular la molaridad.

Cloruro de Bencetonio 0,004 M

C₂₇H₄₂ClNO₂ - (PM: 448,1)

1,792 g en 1 litro.

Disolver 1,792 g de Cloruro de Bencetonio, previamente secado a 100 - 105 °C hasta peso constante, en agua para obtener 1 litro y estandarizar la solución del siguiente modo.

Calcular la molaridad de la solución teniendo en cuenta la cantidad de C₂₇H₄₂ClNO₂ en el cloruro de bencetonio desecado. La determinación se realiza como sigue: transferir 350 mg de cloruro de bencetonio, previamente secado, a un erlenmeyer de 250 ml y disolver en 30 ml de ácido acético glacial (SR). Agregar 6 ml de acetato mercúrico (SR), 0,05 ml de cristal violeta (SR) como indicador y titular con ácido perclórico 0,1 M. Realizar una titulación del blanco. Cada 44,81 mg de Cloruro de Bencetonio equivale a 1 ml de ácido perclórico 0,1 M.

Dicromato de potasio 0,1 N

K₂Cr₂O₇ - (PM: 294,2)

4,903 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 5 g de dicromato de potasio en 1 litro de agua. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir 25,0 ml de esta solución a un erlenmeyer de 500 ml con tapón de vidrio, agregar 2 g de ioduro de potasio (libre de iodato), diluir con 200 ml de agua, agregar 5 ml de ácido clorhídrico, dejar reposar durante 10 minutos en un sitio oscuro y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Calcular la normalidad.

Edetato disódico 0,05 M

C₁₀H₁₄N₂Na₂O₈ · 2H₂O - (PM: 372,2)

18,61 g en 1 litro.

Disolver 18,6 g de edetato sódico en agua para obtener 1 litro y estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de carbonato de calcio estándar para quelatometría, previamente secado a 110°C durante 2 horas, y enfriar en un desecador. Transferir a un vaso de precipitados de 400 ml, agregar 10 ml de agua y agitar por rotación para formar una suspensión. Cubrir el vaso de precipitados con un vidrio de reloj y transferir 2 ml de ácido clorhídrico diluido con una pipeta insertada entre el borde del vaso de precipitados y el borde del vidrio de reloj. Agitar por rotación el contenido del vaso de precipitados para disolver el carbonato de calcio. Lavar las paredes del vaso de precipitados, la superficie exterior de la pipeta y el vidrio de reloj con agua y diluir con agua hasta aproximadamente 100 ml. Agregar mientras se agita la solución, preferentemente con un agitador magnético, aproximadamente 30 ml de la solución de edetato sódico desde una bureta de 50 ml. Agregar 15 ml de hidróxido de sodio (SR) y 300 mg de indicador de azul de hidroxí naftol y continuar la titulación con la solución de edetato sódico hasta punto final azul. Calcular la molaridad, por la fórmula siguiente:

$$P/(100,09V)$$

en la cual *P* es el peso, en mg, de CaCO₃ en la porción de carbonato de calcio tomada y *V* es el volumen, en ml, de la solución de edetato disódico consumida.

Edetato disódico 0,1 M

C₁₀H₁₄N₂Na₂O₈ · 2H₂O - (PM: 372,2)

37,5 g en 1 litro.

Disolver 37,5 g de edetato disódico en 500 ml de agua, agregar 100 ml de hidróxido de sodio al 4 % y diluir a 1 litro con agua. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente alrededor de 120 mg de grallas de Cinc, transferir a un recipiente adecuado, disolver en 4 ml de ácido clorhídrico y agregar 0,1 ml de agua de bromo (SR). Calentar a ebullición para eliminar el exceso de bromo y luego agregar hidróxido de sodio al 8,5 % hasta reacción ligeramente ácida o neutra. Transferir la solución anterior a un erlenmeyer de 500 ml y diluir a 200 ml con agua. Agregar 50 mg de naranja de xilenol y hexametilentetramina hasta coloración violeta-rosado. Agregar 2 g más de hexametilentetramina y titular con edetato disódico 0,1 M (SV) hasta punto final amarillo. Calcular la molaridad de la solución. Cada 6,54 mg de Cinc equivale a 1 ml de edetato disódico 0,1 M (SV).

Ferricianuro de potasio 0,05 M

$K_3Fe(CN)_6$ - (PM: 329,3)
16,46 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 17 g de ferricianuro de potasio en agua para obtener 1 litro. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir 50,0 ml de esta solución a un erlenmeyer con tapón de vidrio, de 500 ml, diluir con 50 ml de agua, agregar 10 ml de ioduro de potasio (SR) y 10 ml de ácido clorhídrico diluido y dejar reposar durante 1 minuto. Luego agregar 15 ml de solución de sulfato de cinc (1 en 10) y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Calcular la molaridad.

Proteger de la luz y volver a estandarizar antes de emplear.

Hidróxido de potasio 1 N

KOH - (PM: 56,1)
56,11 g en 1 litro.

Disolver 68 g de hidróxido de potasio en aproximadamente 950 ml de agua. Agregar una solución saturada recientemente preparada de hidróxido de bario hasta que no se forme más precipitado. Agitar la mezcla a fondo y dejar reposar durante toda la noche en una botella tapada. Decantar el líquido transparente o filtrar la solución en una botella de poliolefina de cierre perfecto y estandarizar según el procedimiento dado para *Hidróxido de sodio 1 N*.

Hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N

28,06 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 34 g de hidróxido de potasio en 20 ml de agua y agregar alcohol libre de aldehído para obtener 1 litro. Dejar reposar la solución en una botella de cierre perfecto durante 24 horas. Luego decantar rápidamente el líquido sobrenadante transparente en un envase apropiado,

cerrado perfectamente, y estandarizar la solución del siguiente modo.

Medir exactamente alrededor de 25 ml de ácido clorhídrico 0,5 N (SV). Diluir con 50 ml de agua, agregar 2 gotas de fenolftaleína (SR) y titular con solución de hidróxido de potasio alcohólico hasta que se produzca un color rosado pálido permanente. Calcular la normalidad.

[NOTA: almacenar en botellas de cierre perfecto, protegidas de la luz].

Hidróxido de potasio metanólico 0,1 N

5,612 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 6,8 g de hidróxido de potasio en 4 ml de agua y agregar metanol para obtener 1 litro. Dejar reposar la solución en una botella de cierre perfecto durante 24 horas. Luego decantar rápidamente el líquido sobrenadante transparente en un envase apropiado, cerrado perfectamente, y estandarizar la solución del siguiente modo.

Medir exactamente alrededor de 25 ml de ácido clorhídrico 0,1 N (SV). Diluir con 50 ml de agua, agregar 2 gotas de fenolftaleína (SR) y titular con la solución de hidróxido de potasio metanólico hasta que se produzca un color rosado pálido permanente. Calcular la normalidad.

[NOTA: almacenar en botellas de cierre perfecto, protegidas de la luz].

Hidróxido de sodio 1 N

NaOH - (PM: 40,0)
40,00 g en 1 litro.

Disolver 162 g de hidróxido de sodio en 150 ml de agua, enfriar la solución a temperatura ambiente y filtrar a través de papel de filtro endurecido. Transferir 54,5 ml del filtrado transparente a un envase de poliolefina de cierre perfecto y diluir con agua hasta obtener 1 litro.

Pesar exactamente alrededor de 5 g de biftalato de potasio, previamente triturado y secado a 120 °C durante 2 horas, y disolver en 75 ml de agua. Agregar 2 gotas de fenolftaleína (SR) y titular con la solución de hidróxido de sodio hasta la producción de color rosado permanente. Cada 204,2 mg de biftalato de potasio equivale a 1 ml de hidróxido de sodio 1 N.

[NOTAS: (1) las soluciones de hidróxidos alcalinos absorben dióxido de carbono cuando se exponen al aire. Deben conservarse en botellas perfectamente cerradas con tapones apropiados conectados con un tubo lleno con una mezcla de hidróxido de sodio y cal (tubo de soda cáustica) para que el aire que penetre en el envase deba pasar a través de este tubo, que absorberá el dióxido de carbono. (2) Preparar soluciones de concentración inferior (por

ej., 0,1 N, 0,01 N) mediante la dilución cuantitativa, de volúmenes exactamente medidos de la solución 1 N, con suficiente agua para obtener la concentración deseada].

[NOTA: volver a estandarizar la solución con frecuencia].

Hidróxido de sodio alcohólico 0,1 N

13,2 g en 1 litro.

A 200 ml de alcohol, agregar 3,3 g de una solución de hidróxido de sodio al 42 %. Estandarizar la solución del siguiente modo:

Disolver 200 mg de ácido benzoico estándar primario en una mezcla de 10 ml de alcohol y 2 ml de agua. Titular con hidróxido de sodio alcohólico 0,1 N en presencia de 0,2 ml de timolftaleína (SR). Cada ml de esta solución equivale a 12,21 mg de $C_7H_6O_2$.

Hidróxido de tetrabutylamonio 0,1 N

$(C_4H_9)_4NOH$ - (PM: 259,5)

25,95 g en 1 litro.

Disolver 40 g de ioduro de tetra-butylamonio en 90 ml de metanol anhidro en un erlenmeyer con tapón de vidrio. Colocar en un baño de hielo, agregar 20 g de óxido de plata reducido a polvo, tapar el erlenmeyer y agitar vigorosamente durante 60 minutos. Centrifugar unos pocos ml y someter el líquido sobrenadante a el ensayo de ioduro (ver *Ioduro en 410. Ensayos generales de identificación*). Si el ensayo fuera positivo, agregar 2 g de óxido de plata adicionales y dejar reposar durante 30 minutos agitando intermitentemente. Cuando todo el ioduro haya reaccionado, filtrar a través de un embudo de vidrio sinterizado. Enjuagar el erlenmeyer y el embudo con tres porciones de 50 ml de tolueno anhidro, agregando los enjuagues al filtrado. Diluir con una mezcla de 3 volúmenes de tolueno anhidro y 1 volumen de metal anhidro hasta 1 litro y lavar la solución durante 10 minutos con nitrógeno libre de dióxido de carbono. [NOTA: si fuera necesario obtener una solución transparente, se pueden agregar cantidades aún más pequeñas de metanol anhidro]. Conservar en un recipiente protegido del dióxido de carbono y la humedad y descartar después de 60 días de preparado. Alternativamente, la solución puede prepararse al diluir un volumen apropiado de solución de hidróxido de tetrabutylamonio en metanol comercialmente disponible con una mezcla de 4 volúmenes de tolueno anhidro y 1 volumen de metanol anhidro. [NOTA: si fuera necesario obtener una solución transparente, se pueden agregar cantidades aún más pequeñas de metanol].

Estandarizar la solución el día de uso del siguiente modo. Disolver aproximadamente 400 mg

de ácido benzoico estándar primario, exactamente pesados, en 80 ml de dimetilformamida, agregar 3 gotas de una solución 1 en 100 de azul de timol en dimetilformamida y titular hasta punto final azul con la solución de hidróxido de tetrabutylamonio, descargando la solución titulante desde una bureta equipada con una trampa de absorción de dióxido de carbono. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada ml de hidróxido tetrabutylamonio 0,1 N equivale a 12,21 mg de ácido benzoico.

Iodato de potasio 0,05 M

KIO_3 - (PM: 214,0)

10,70 g en 1 litro.

Disolver 10,700 g de iodato de potasio, previamente secado a 110 °C hasta peso constante, en agua para obtener 1 litro.

Iodo 0,1 N

I - (PM: 126,9)

12,69 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 14 g de iodo en una solución de 36 g de ioduro de potasio en 100 ml de agua, agregar 3 gotas de ácido clorhídrico, diluir con agua a 1 litro y estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir 25,0 ml de la solución de iodo a un matraz aforado de 250 ml, diluir hasta 100 ml y titular con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV) hasta que la solución adquiera un color amarillo pálido. Añadir 2 ml de almidón (SR) y continuar titulado hasta que la solución sea incolora. Calcular la normalidad.

Conservar en botellas de material inactivo con tapón de vidrio.

Iodo 0,05 M

I - (PM: 126,9)

12,7 g en 1 litro.

KI - (PM: 166,0)

20 g en 1 litro-

Disolver 12,7 g de iodo y 20 g de ioduro de potasio en agua y diluir con el mismo solvente a 1000 ml. Estandarizar la solución por titulación contra una solución preparada disolviendo 80 mg de anhídrido arsenioso en una mezcla de 10 ml de hidróxido de sodio diluido y 10ml de agua, a la cual se le agregan 10 ml de ácido clorhídrico diluido y 3 g de bicarbonato de sodio. Valorar en presencia de 1 ml de almidón. Calcular la molaridad.

Conservar en envases inactivos.

Metóxido de litio 0,1 N en benceno

CH_3OLi - (PM: 38,0)

3,798 g en 1 litro.

Disolver 0,6 g de litio metálico recientemente cortado en 150 ml de metanol, enfriando el erlenmeyer durante el agregado del metal. Cuando se completa la reacción, agregar 850 ml de benceno. Si aparece opalescencia o precipitación, agregar metanol suficiente para volver la solución transparente. Almacenar preferentemente en el reservorio de una bureta automática apropiadamente protegida del dióxido de carbono y la humedad. Estandarizar la solución por titulación contra ácido benzoico según se indica en Metóxido de sodio 0,1 N en tolueno.

[NOTA: volver a estandarizar la solución con frecuencia].

Metóxido de litio 0,1 N en clorobenceno

CH_3OLi - (PM: 38,0)
3,798 g en 1 litro.

Disolver 0,7 g de litio metálico recientemente cortado en 150 ml de metanol, enfriando el erlenmeyer durante el agregado del metal. Cuando se completa la reacción, agregar 850 ml de clorobenceno. Si aparece opalescencia o precipitación, agregar metanol suficiente para aclarar la solución. Almacenar preferentemente en el reservorio de una bureta automática apropiadamente protegida del dióxido de carbono y la humedad. Estandarizar la solución por titulación contra ácido benzoico según se indica en Metóxido de sodio 0,1 N en tolueno.

[NOTA: volver a estandarizar la solución con frecuencia].

Metóxido de litio 0,02 N en metanol

CH_3LiO - (PM: 38,0)
759,6 mg en 1 litro.

Disolver 0,12 g de litio metálico recientemente cortado en 150 ml de metanol, enfriando el erlenmeyer durante el agregado del metal. Cuando se completa la reacción, agregar 850 ml de metanol y mezclar. Almacenar la solución preferentemente en el reservorio de una bureta automática apropiadamente protegida del dióxido de carbono y la humedad. Estandarizar la solución por titulación contra ácido benzoico según se indica en Metóxido de sodio 0,1 N en tolueno, pero emplear sólo 100 mg de ácido benzoico. Cada 2,442 mg de ácido benzoico equivale a 1 ml de metóxido de litio 0,02 N.

[NOTA: volver a estandarizar la solución con frecuencia].

Metóxido de sodio 0,1 N en tolueno

CH_3ONa - (PM: 54,0)
5,402 g en 1 litro.

Enfriar en un baño de agua helada 150 ml de metanol contenidos en un matraz aforado de 1 litro y agregar, en porciones pequeñas, aproximadamen-

te 2,5 g de sodio metálico recientemente cortado. Cuando el metal se ha disuelto, completar a volumen con tolueno y mezclar. Almacenar preferentemente en el recipiente de una bureta automática apropiadamente protegida del dióxido de carbono y la humedad. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente alrededor de 400 mg de ácido benzoico estándar primario y disolver en 80 ml de dimetilformamida en un erlenmeyer. Agregar 3 gotas de una solución 1 en 100 de azul de timol en dimetilformamida y titular con metóxido de sodio hasta punto final azul. Corregir por el volumen de solución de metóxido de sodio consumido por 80 ml de la dimetilformamida y calcular la normalidad. Cada 12,21 mg de ácido benzoico equivale a 1 ml de metóxido de sodio 0,1 N.

[NOTAS: (1) para eliminar la turbidez que puede formarse después de la dilución con tolueno, agregar metanol (25 a 30 ml son generalmente suficientes) hasta que la solución se vuelva transparente. (2) Volver a estandarizar la solución con frecuencia].

Metóxido de sodio 0,5 N en metanol

CH_3ONa - (PM: 54,0)
27,01 g en 1 litro.

Pesar 11,5 g de sodio metálico recientemente cortado en cubos pequeños. Transferir aproximadamente 0,5 ml de metanol anhidro en un balón de 250 ml equipado con una junta de vidrio esmerilado, agregar 1 cubo de sodio metálico y cuando la reacción haya cesado, agregar al balón el resto del sodio metálico. Conectar al balón un refrigerante y agregar lentamente 250 ml de metanol anhidro, en porciones pequeñas, a través de la parte superior del refrigerante. Regular el agregado del metanol de manera que los vapores se condensen y no se escapen por la parte superior del refrigerante. Luego que se ha completado el agregado del metanol, conectar un tubo de secado a la parte superior del refrigerante y dejar enfriar la solución. Transferir la solución a un matraz aforado de 1 litro, completar a volumen con metanol anhidro y mezclar. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 20 ml de ácido clorhídrico 1 N (SV), recientemente estandarizado y exactamente medidos, a un erlenmeyer de 250 ml, agregar 0,25 ml de fenolftaleína (SR) y titular con la solución de metóxido de sodio hasta la primera aparición de un color rosado permanente. Calcular la normalidad.

Morfolina 0,5 N en metanol

$\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}$ - (PM: 87,1)
43,56 g en 1 litro.

Transferir 44 ml de morfolina recientemente destilada a una botella para reactivos de 1 litro y agregar metanol hasta completar aproximadamente 1 litro. Proteger de la absorción de dióxido de carbono durante la remoción de alícuotas. No es necesario estandarizar esta solución.

Nitrato cérico amónico 0,05 N

$Ce(NO_3)_4 \cdot 2NH_4NO_3$ - (PM: 548,2)
2,741 g en 100 ml

Disolver 2,75 g de nitrato cérico amónico en ácido nítrico 1 N para obtener 100 ml de solución y filtrar. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir exactamente 10 ml de sulfato ferroso amónico 0,1 N (SV) recientemente estandarizado a un erlenmeyer y diluir con agua hasta aproximadamente 100 ml. Agregar 1 gota de nitrofenantrolina (SR) y titular con la solución de nitrato cérico amónico hasta punto final incoloro. Calcular la normalidad a partir del volumen tomado de sulfato ferroso amónico 0,1N (SV) y el volumen de solución de nitrato cérico amónico consumido.

Nitrato cúprico 0,1 N

$Cu(NO_3)_2 \cdot 2,5H_2O$ - (PM: 232,6)
23,26 g en 1 litro.
 $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$ - (PM: 241,6)
24,16 g en 1 litro.

Disolver 23,3 g de nitrato cúprico 2,5 hidratado, ó 24,2 g del trihidratado, en agua para obtener 1 litro. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir 20,0 ml de la solución a un vaso de precipitados de 250 ml. Agregar 2 ml de nitrato de sodio 5 M, 20 ml de acetato de amonio (SR) y suficiente agua para obtener 100 ml. Titular con edetato disódico 0,05 M (SV). Determinar el punto final potenciométricamente empleando un electrodo de referencia de doble junta para ion cúprico. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Calcular la normalidad por la fórmula siguiente:

$$VM/20,0$$

en la cual V es el volumen, en ml, de edetato disódico consumido, M es la molaridad del edetato disódico y 20,0 es el número de ml tomados de la solución de nitrato cúprico.

Nitrato de plata 0,1 N

$AgNO_3$ - (PM: 169,9)
16,99 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 17,5 g de nitrato de plata en 1 litro de agua y estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 100 mg, exactamente pesados, de cloruro de sodio grado reactivo,

previamente secado a 110 °C durante 2 horas, a un vaso de precipitados de 150 ml, disolver en 5 ml de agua y agregar 5 ml de ácido acético, 50 ml de metanol y 0,5ml gotas de eosina (SR). Agitar, preferentemente con un agitador magnético y titular con solución de nitrato de plata. Calcular la normalidad.

Nitrato mercúrico 0,1 M

$Hg(NO_3)_2$ - (PM: 324,6)
32,46 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 35 g de nitrato mercúrico en una mezcla de 5 ml de ácido nítrico y 500ml de agua y diluir con agua a 1 litro. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 20 ml de la solución, exactamente medidos, a un erlenmeyer y agregar 2 ml de ácido nítrico y 2 ml de sulfato férrico amónico (SR). Enfriar por debajo de 20 °C y titular con tiocianato de amonio 0,1 N (SV) hasta la primera aparición de un color pardusco permanente. Calcular la molaridad.

Nitrito de sodio 0,1 M

$NaNO_2$ - (PM: 69,0)
6,900 g en 1 litro.

Disolver 7,5 g de nitrito de sodio en agua para obtener 1 litro y estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Sulfanilamida SR-FA, secar previamente a 105 °C durante 3 horas y transferir a un vaso de precipitados apropiado. Agregar 20 ml de ácido clorhídrico y 50 ml de agua, agitar hasta disolución y enfriar a 15 °C. Mantener la temperatura aproximadamente a 15 °C, titular lentamente con solución de nitrito de sodio, colocando la punta de la bureta debajo de la superficie de la solución para evitar la oxidación del nitrito de sodio por el aire y agitar la solución suavemente con un agitador magnético, pero evitar la formación de un vórtice de aire debajo de la superficie. Emplear el indicador especificado en la monografía individual o, si se especifica un procedimiento potenciométrico, determinar el punto final electrométricamente, empleando electrodos de platino-calomel o platino-platino. Cuando la titulación está cerca de 1 ml del punto final, agregar la solución titulante en porciones de 0,1 ml y esperar 1 minuto entre cada agregado. Calcular la molaridad. Cada 17,22 mg de sulfanilamida equivale a 1 ml de nitrito de sodio 0,1000 M.

Permanganato de potasio 0,1 N

$KMnO_4$ - (PM: 158,0)
3,161 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 3,3 g de permanganato de potasio en 1 litro de agua en un erlenmeyer

y calentar a ebullición la solución durante aproximadamente 15 minutos. Insertar el tapón en el erlenmeyer, dejar reposar durante al menos 2 días y filtrar a través de un crisol de vidrio sinterizado de porosidad fina. Si fuera necesario, el fondo del crisol de vidrio sinterizado puede revestirse con una torunda de lana de vidrio. Estandarizar la solución del siguiente modo:

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de oxalato de sodio, previamente secado a 110 °C hasta peso constante, y disolver en 250 ml de agua. Agregar 7 ml de ácido sulfúrico, calentar a aproximadamente 70 °C y luego agregar lentamente la solución de permanganato desde una bureta, con agitación constante, hasta que se produzca un color rosado pálido, que persista durante 15 segundos. La temperatura, al finalizar la titulación no debe ser menor de 60 °C. Calcular la normalidad. Cada 6,700 mg de oxalato de sodio equivale a 1 ml de permanganato de potasio 0,1N.

Dado que el permanganato de potasio se reduce en contacto con sustancias orgánicas, como por ej., goma, la solución debe manipularse en aparatos enteramente construidos de vidrio u otro material apropiadamente inerte. Debe volver a estandarizarse con frecuencia. Almacenar en botellas de vidrio color ámbar con tapón.

Solución estándar de diclorofenol-indofenol

A 50 mg de 2,6-diclorofenol-indofenol sódico que haya sido almacenado en un desecador sobre cal sodada, agregar 50 ml de agua que contengan 42 mg de bicarbonato de sodio, agitar vigorosamente y cuando se disuelve el colorante, agregar agua hasta obtener 200 ml. Filtrar en una botella ámbar con tapón de vidrio. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir 50 mg de Ácido ascórbico SR-FA, exactamente pesados, a un matraz aforado de 50 ml con tapón de vidrio con la ayuda de un volumen suficiente de ácido metafosfórico - ácido acético (SR) para obtener 50 ml. Transferir inmediatamente 2 ml de la solución de ácido ascórbico a un erlenmeyer de 50 ml que contenga 5 ml de ácido metafosfórico - ácido acético (SR) y titular rápidamente con solución de diclorofenol-indofenol hasta que un color rosado característico persista durante al menos 5 segundos. Realizar una determinación con un blanco titulando 7 ml de ácido metafosfórico - ácido acético (SR) más un volumen de agua igual al volumen de la solución de diclorofenol empleada para titular la solución de ácido ascórbico. Expresar la concentración de esta solución estándar en función de su equivalente en mg de ácido ascórbico.

Sulfato cérico 0,1 N

$Ce(SO_4)_2$ - (PM: 332,2)
33,22 g en 1 litro.

Transferir 59 g de nitrato cérico amónico a un matraz aforado de 1 litro, agregar una solución de ácido sulfúrico preparada disolviendo 30 ml de ácido sulfúrico en 500 ml de agua y mezclar. Completar a volumen con agua. Dejar reposar durante toda la noche y filtrar a través de un crisol de porosidad fina de vidrio sinterizado, si es necesario. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente 200 mg de trióxido de arsénico, previamente secado a 105 °C durante 1 hora, y transferir a un erlenmeyer de 500 ml. Lavar las paredes internas del erlenmeyer con 25 ml de solución de hidróxido de sodio (2 en 25), agitar por rotación hasta disolver la sustancia y cuando la disolución se completa, agregar 100 ml de agua y mezclar. Agregar 10 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 3), luego agregar 2 gotas de ortofenantrolina (SR) y un pequeño cristal de yodo como catalizador. Agitar y titular lentamente con solución de sulfato cérico hasta que el color rosado cambie a azul pálido. Calcular la normalidad. Cada 4,946 mg de trióxido de arsénico equivale a 1 ml de sulfato cérico 0,1 N.

Sulfato de cinc 0,05 M

$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ - (PM: 287,5)
14,4 g en 1 litro.

Disolver 14,4 g de sulfato de cinc en agua para obtener 1 litro. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 10 ml de edetato disódico 0,05 M (SV), exactamente medidos, a un erlenmeyer de 125 ml y agregar, en el orden dado, 10 ml de solución reguladora de ácido acético - acetato de amonio (SR), 50 ml de alcohol y 2 ml de ditizona (SR). Titular con solución de sulfato de cinc hasta obtener una solución transparente de color rosado. Calcular la molaridad.

Sulfato de cobre 0,02 M

$CuSO_4$ - (PM: 159,5)
5,0 g en 1 litro.

Disolver 5,0 g de sulfato de cobre en agua y diluir a 1 litro con el mismo solvente. Estandarizar la solución del siguiente modo.

A 20,0 ml de la solución de sulfato de cobre, agregar 2 g de acetato de sodio y 0,1 ml de piridilazonaftol (SR). Titular con edetato disódico 0,02 M (SV) hasta viraje de azul violeta a verde esmeralda. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Calcular la normalidad.

Sulfato férrico amónico 0,1 N

$FeNH_4(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ - (PM: 482,2)

48,22 g en 1 litro.

Disolver 50 g de sulfato férrico amónico en una mezcla de 300 ml de agua y 6 ml de ácido sulfúrico, diluir con agua a 1 litro y mezclar. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 40 ml de la solución, exactamente medidos, a un erlenmeyer con tapón de vidrio, agregar 5 ml de ácido clorhídrico, mezclar y agregar una solución de 3 g de ioduro de potasio en 10 ml de agua. Tapar, dejar reposar durante 10 minutos y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Calcular la normalidad.

Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto.

Sulfato ferroso amónico 0,1 N

$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 392,1)
39,21 g en 1 litro.

Disolver 40 g de sulfato ferroso amónico en una mezcla previamente enfriada de 40 ml de ácido sulfúrico y 200 ml de agua, diluir con agua a 1 litro y mezclar. Un momento antes de usar, estandarizar la solución del siguiente modo:

Transferir entre 25 y 30 ml de la solución, exactamente medidos, a un erlenmeyer, agregar 2 gotas de ortofenantrolina (SR) y titular con sulfato cérico 0,1 N (SV) hasta que el color cambie de rojo a azul pálido. Calcular la normalidad a partir del volumen de sulfato cérico 0,1 N consumido.

Tetrafenilborato de sodio 0,02 M

$\text{NaB}(\text{C}_6\text{H}_5)_4$ - (PM: 342,2)
6,845 g en 1 litro.

Disolver una cantidad de tetrafenilborato de sodio, equivalente a 6,845 g de $\text{NaB}(\text{C}_6\text{H}_5)_4$, en agua para obtener 1 litro y estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir dos porciones de 75 ml de la solución a sendos vasos de precipitados y agregar a cada uno 1 ml de ácido acético y 25 ml de agua. Agregar lentamente a cada vaso de precipitados y con agitación constante, 25 ml de solución de biftalato de potasio (1 en 20) y dejar reposar durante 2 horas. Filtrar una de las mezclas a través de un crisol filtrante y lavar el precipitado con agua fría. Transferir el precipitado a un envase, agregar 50 ml de agua, agitar intermitentemente durante 30 minutos, filtrar y emplear el filtrado como solución saturada de tetrafenilborato de potasio en el siguiente procedimiento de estandarización. Filtrar la segunda mezcla a través de un crisol filtrante tarado y lavar el precipitado con tres porciones de 5 ml de solución saturada de tetrafenilborato de potasio. Secar

el precipitado a 105 °C durante 1 hora. Cada g de tetrafenilborato de potasio equivale a 955,1 mg de tetrafenilborato de sodio. A partir del peso de tetrafenilborato de sodio obtenido, calcular la molaridad de la solución de tetrafenilborato de sodio.

[NOTA: preparar esta solución el día de uso.]

Tiocianato de amonio 0,1 N

NH_4SCN - (PM: 76,1)
7,612 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 8 g de tiocianato de amonio en 1 litro de agua y estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 30 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV), exactamente medidos, a un erlenmeyer con tapón de vidrio. Diluir con 50 ml de agua, luego agregar 2 ml de ácido nítrico y 2 ml de sulfato férrico amónico (SR) y titular con solución de tiocianato de amonio hasta la aparición de un color rojo pardo incipiente. Calcular la normalidad.

Si se desea, puede reemplazarse el tiocianato de amonio 0,1 N por tiocianato de potasio 0,1 N cuando el primero se indica en un ensayo o valoración.

Tiosulfato de sodio 0,1 N

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 248,2)
24,82 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 26 g de tiosulfato de sodio y 200 mg de carbonato de sodio en 1 litro de agua recientemente sometida a ebullición y enfriada. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente alrededor de 210 mg de dicromato de potasio estándar primario, previamente reducido a polvo y secado a 120 °C durante 4 horas, y disolver en 100 ml de agua en un erlenmeyer de 500 ml con tapón de vidrio. Agitar por rotación hasta disolver el sólido, retirar el tapón y agregar rápidamente 3 g de ioduro de potasio, 2 g de bicarbonato de sodio y 5 ml de ácido clorhídrico. Tapar suavemente en el erlenmeyer, agitar por rotación para mezclar y dejar reposar en la oscuridad durante 10 minutos. Enjuagar el tapón y las paredes internas del erlenmeyer con agua y titular el iodo liberado con solución de tiosulfato de sodio hasta que la solución tome color verde amarillento. Agregar 3 ml de almidón (SR) y continuar la titulación hasta que desaparezca el color azul. Calcular la normalidad.

Estandarizar la solución frecuentemente semanalmente.

Tricloruro de titanio 0,1 N

TiCl_3 - (PM: 154,2)
15,42 g en 1 litro.

Agregar 75 ml de solución de tricloruro de titanio (1 en 5) a 75 ml de ácido clorhídrico, diluir

hasta 1 litro y mezclar. Estandarizar la solución del siguiente modo, empleando el aparato especial de titulación descripto.

Aparato - Almacenar la solución de tricloruro de titanio en el recipiente de un aparato de titulación de sistema cerrado en una atmósfera de hidrógeno.

Emplear un erlenmeyer de 500 ml de boca ancha como recipiente de titulación y conectar a la bureta de titulación un tubo de entrada para dióxido de carbono y un tubo de salida a través de un tapón de goma. Adaptar un agitador mecánico. Todas las juntas deben ser herméticas. Preparar el aparato de manera que, tanto el hidrógeno como el dióxido de carbono pasen a través de botellas de lavado que contengan solución de tricloruro de titanio (aproximadamente 1 en 50) para eliminar el oxígeno.

Si la solución a titular se calienta antes o durante la titulación, conectar el matraz de titulación con un refrigerante en posición vertical a través del tapón de goma.

Estandarización - Transferir aproximadamente 40 ml de sulfato férrico amónico 0,1 N (SV), exactamente medidos, a un matraz de titulación y pasar una corriente rápida de dióxido de carbono hasta eliminar todo el aire. Agregar la solución de tricloruro de titanio desde la bureta hasta cerca del punto final calculado (aproximadamente 35 ml), luego agregar a través del tubo de salida, 5 ml de tiocianato de amonio (SR) y continuar la titulación hasta que la solución sea incolora. Calcular la normalidad.

SOLUCIONES LIMITES (SL)

Solución de aluminio (200 ppm) (SL) - Disolver una cantidad de sulfato de aluminio y potasio que corresponda a 352 mg de $\text{Al}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ en agua. Agregar 10 ml de ácido sulfúrico diluido, diluir a 100 ml con agua y mezclar.

Solución de aluminio (100 ppm) (SL) - Disolver 8,947 g de cloruro de aluminio en agua y diluir a 1.000 ml con el mismo solvente. Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua.

Solución de aluminio (10 ppm) (SL) - Disolver una cantidad de nitrato de aluminio, correspondiente a 1,39 g de $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ en agua. Diluir a 100 ml con agua, transferir 1 ml de la solución obtenida a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua. Preparar esta solución inmediatamente antes de su empleo.

Solución de aluminio (2 ppm) (SL) - Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de solución de aluminio (200 ppm) (SL) a un matraz afo-

rado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución de amonio (2,5 ppm) (SL) - Disolver una cantidad de cloruro de amonio equivalente a 741 mg de NH_4Cl en agua y diluir a 1 litro con el mismo solvente. Diluir 1 ml de la solución obtenida a 100 ml con agua, inmediatamente antes de su uso.

Solución de amonio (1 ppm) (SL) - Inmediatamente antes de su uso, transferir 2 ml de solución de amonio (2,5 ppm) (SL) y completar a 5 ml con agua.

Solución de calcio (100 ppm) (SL) - Disolver una cantidad de carbonato de calcio equivalente a 624 mg de CaCO_3 en 3 ml de ácido acético y diluir a 250,0 ml con agua. Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua.

Solución de calcio (100 ppm) (SL1) - Disolver una cantidad de carbonato de calcio equivalente a 2,5 g de CaCO_3 en 12 ml de ácido acético y diluir a 1.000,0 ml con agua. Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con alcohol.

Solución de calcio (10 ppm) (SL) - Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de solución de calcio (100 ppm) (SL) a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución de cloruro (50 ppm) (SL) - Disolver una cantidad de cloruro de sodio equivalente a 824 mg de NaCl en agua y diluir a 1000,0 ml con el mismo solvente. Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua.

Solución de cloruro (8 ppm) (SL) - Disolver una cantidad de cloruro de sodio equivalente a 1,32 g de NaCl en agua y diluir a 1.000,0 ml con el mismo solvente. Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua.

Solución de cloruro (5 ppm) (SL) - Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de solución de cloruro (50 ppm) (SL) a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua.

Solución de fosfato (5 ppm) (SL) - Disolver una cantidad de fosfato dihidrogenado equivalente a 716 mg de KH_2PO_4 y diluir a 1.000 ml con el mismo solvente. Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua.

Solución de hierro (250 ppm) (SL) - Disolver 4,840 g de cloruro férrico en 100 ml de ácido clorhídrico diluido. Inmediatamente antes de su empleo, realizar una dilución 1 en 40 con agua.

Solución de hierro (20 ppm) (SL) - Disolver 863,4 mg de sulfato férrico de amonio en agua, agregar 25 ml de ácido sulfúrico 2 N, diluir con agua a 500,0 ml y mezclar. Inmediatamente antes de su empleo, transferir 10 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución de hierro (1 ppm) (SL) - Transferir 1 ml de la solución de hierro (20 ppm) (SL) a un matraz aforado de 20 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución de magnesio (100 ppm) (SL) - Disolver una cantidad de sulfato de magnesio equivalente a 1,010 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua.

Solución de magnesio (10 ppm) (SL) - Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de solución de magnesio (100 ppm) (SL) a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua.

Solución de magnesio (10 ppm) (SL1) - Disolver 8,365 g de cloruro de magnesio en 1000 ml de ácido clorhídrico diluido. Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua.

Solución de mercurio (20 ppm) (SL) - Disolver una cantidad de cloruro de mercurio equivalente a 135,4 mg de $HgCl_2$ en una mezcla de ácido sulfúrico diluido y agua (1:1) y diluir con la misma mezcla a 100 ml. Transferir 2 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con la misma mezcla de solventes.

Solución de níquel (10 ppm) (SL) - Disolver una cantidad de sulfato de níquel que corresponda a 4,78 g de $NiSO_4 \cdot 7H_2O$ en agua y diluir a 1.000 ml con el mismo solvente. Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua.

Solución de plomo (100 ppm) (SL) - Disolver una cantidad de nitrato de plomo que corresponda a 400 mg de $Pb(NO_3)_2$ en agua y diluir a 250,0 ml con el mismo solvente. Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua.

Solución de plomo (10 ppm) (SL) - Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de solución de plomo (100 ppm) (SL) a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua.

Solución de plomo (1 ppm) (SL) - Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de solución de plomo (10 ppm) (SL) a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua.

Solución de plomo (0,1 ppm) (SL) - Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de solución de plomo (1 ppm) (SL) a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua.

Solución de sulfato (100 ppm) (SL) - Disolver una cantidad de sulfato de potasio que corresponda a 181 mg de K_2SO_4 en agua y diluir a 100,0 ml con el mismo solvente. Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua.

Solución de sulfato (10 ppm) (SL) - Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de solución de sulfato (100 ppm) (SL) a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua.

Solución de sulfato (10 ppm) (SL1) - Disolver una cantidad de sulfato de potasio que corresponda a 0,181 g de K_2SO_4 en alcohol al 30 % v/v y diluir a 100,0 ml con el mismo solvente. Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con alcohol al 30 % v/v.

Solución de talio (10 ppm) (SL) - Disolver en una solución de cloruro de sodio de 9 g por litro una cantidad de sulfato de talio equivalente a 123,5 mg de Tl_2SO_4 y completar a 1 litro con el mismo solvente. Transferir 10 ml de la solución anterior a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con el mismo solvente.

TABLAS

Alcohol

Disminución de grados por diluciones en volúmenes (volumen de agua agregado a un alcohol de título dado para reducirlo a otro de título inferior)

	100°	99°	98°	97°	96°	95°	94°	93°	92°
95	6,50	5,15	3,83	2,53	1,25				
90	13,25	11,83	10,43	9,07	7,23	6,41	5,10	3,80	2,54
85	20,54	19,05	17,58	16,15	14,73	13,33	11,96	10,59	9,24
80	28,59	27,01	25,47	23,95	22,45	20,95	19,49	18,04	16,61
75	37,58	35,90	34,28	32,67	31,08	29,52	27,97	26,43	24,94
70	47,75	45,98	44,25	42,54	40,85	39,18	37,53	35,89	34,27
65	59,37	57,49	55,63	53,81	52,00	50,22	48,45	46,70	44,96
60	72,82	70,80	68,80	66,85	64,92	63,00	61,10	59,21	57,33
55	88,60	86,42	84,28	82,16	80,06	77,99	75,93	73,88	71,85
50	107,44	105,08	102,75	100,44	98,15	95,89	93,64	91,41	89,19
45	130,26	127,67	125,11	122,57	120,06	117,57	115,09	112,64	110,18
40	158,56	155,68	152,84	150,02	147,22	144,46	141,70	138,95	136,23
35	194,63	191,39	188,19	185,01	181,85	178,71	175,60	172,49	169,39
30	242,38	238,67	234,99	231,33	227,70	224,08	220,49	216,90	213,33
25	308,90	304,52	300,18	295,86	291,56	287,28	283,02	278,77	274,53
20	408,50	403,13	397,79	392,47	387,17	381,90	376,64	371,40	366,16
15	574,75	567,43	560,53	553,55	548,59	539,66	532,74	525,83	518,94
10	907,09	896,73	886,40	876,10	865,15	855,55	845,31	835,08	824,86
	90°	85°	80°	75°	70°	65°	60°	55°	50°
85	6,56								
80	13,79	6,83							
75	21,89	14,48	7,20						
70	31,10	23,14	15,35	7,64					
65	41,53	33,03	24,66	16,37	8,15				
60	53,65	44,48	35,43	26,47	17,58	8,76			
55	67,87	57,90	48,07	38,32	28,63	19,02	9,47		
50	84,71	73,90	63,04	52,43	41,73	31,25	20,47	10,35	
45	105,34	93,30	81,38	69,54	57,78	46,09	34,46	22,90	11,45
40	130,80	117,34	104,01	90,76	77,58	64,48	51,43	38,46	25,55
35	163,28	148,01	132,88	117,82	102,84	87,93	70,08	58,31	43,59
30	206,22	188,57	171,05	153,53	136,34	118,94	101,71	84,57	67,45
25	266,12	245,15	224,30	203,61	182,83	162,21	141,65	121,16	100,73
20	355,80	329,84	304,01	278,26	252,58	226,98	201,43	175,96	150,55
15	505,27	471,00	436,85	402,81	368,83	334,91	301,07	267,29	233,64
10	804,50	753,65	702,89	652,51	601,60	551,06	500,50	450,19	399,85

Ejemplo - Para reducir un alcohol de 80° por 100 (en volumen) al título de 40° por 100 se busca en la columna vertical correspondiente a 80° por 100 el número correspondiente a la línea horizontal 40, lo que da 104,01. Luego a 100 volúmenes de alcohol de 80° por 100 hay que agregar 104,01 volúmenes de agua para obtener alcohol de 40° por 100.

Tabla de viscosidad intrínseca

Viscosidad intrínseca $[\eta]_c$ a diferentes valores de viscosidad relativa $[\eta]_{rel}$

$[\eta]_{rel}$	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
1,1	0,098	0,106	0,115	0,125	0,134	0,143	0,153	0,161	0,170	0,180
1,2	0,189	0,198	0,207	0,216	0,225	0,233	0,242	0,250	0,259	0,268
1,3	0,276	0,285	0,293	0,302	0,310	0,318	0,326	0,334	0,342	0,350
1,4	0,358	0,367	0,375	0,383	0,391	0,399	0,407	0,414	0,422	0,430
1,5	0,437	0,445	0,453	0,460	0,468	0,476	0,484	0,491	0,499	0,507
1,6	0,515	0,522	0,529	0,536	0,544	0,551	0,558	0,566	0,573	0,580
1,7	0,587	0,595	0,602	0,608	0,615	0,622	0,629	0,636	0,642	0,649
1,8	0,656	0,663	0,670	0,677	0,683	0,690	0,697	0,704	0,710	0,717
1,9	0,723	0,730	0,736	0,743	0,749	0,756	0,762	0,769	0,775	0,782
2,0	0,788	0,795	0,802	0,809	0,815	0,821	0,827	0,833	0,840	0,846
2,1	0,852	0,858	0,864	0,870	0,876	0,882	0,888	0,894	0,900	0,906
2,2	0,912	0,918	0,924	0,929	0,935	0,941	0,948	0,953	0,959	0,965
2,3	0,971	0,976	0,983	0,988	0,994	1,000	1,006	10,11	1,017	1,022
2,4	1,028	1,033	1,039	1,044	1,050	1,056	1,061	1,067	1,072	1,078
2,5	1,083	1,089	1,094	1,100	1,105	1,111	1,116	1,121	1,126	1,131
2,6	1,137	1,142	1,147	1,153	1,158	1,163	1,169	1,174	1,179	1,184
2,7	1,190	1,195	1,200	1,205	1,210	1,215	1,220	1,225	1,230	1,235
2,8	1,240	1,245	1,250	1,255	1,260	1,265	1,270	1,275	1,280	1,285
2,9	1,290	1,295	1,300	1,305	1,310	1,314	1,319	1,324	1,329	1,333
3,0	1,338	1,343	1,348	1,352	1,357	1,362	1,367	1,371	1,376	1,381
3,1	1,386	1,390	1,395	1,400	1,405	1,409	1,414	1,418	1,423	1,427
3,2	1,432	1,436	1,441	1,446	1,550	1,455	1,459	1,464	1,468	1,473
3,3	1,477	1,482	1,486	1,491	1,496	1,500	1,504	1,508	1,513	1,517
3,4	1,521	1,525	1,529	1,533	1,537	1,542	1,546	1,550	1,554	1,558
3,5	1,562	1,566	1,570	1,575	1,579	1,583	1,587	1,591	1,595	1,600
3,6	1,604	1,608	1,612	1,617	1,621	1,625	1,629	1,633	1,637	1,642
3,7	1,646	1,650	1,654	1,658	1,662	1,666	1,671	1,675	1,679	1,683
3,8	1,687	1,691	1,695	1,700	1,704	1,708	1,712	1,715	1,719	1,723
3,9	1,727	1,731	1,735	1,739	1,742	1,746	1,750	1,754	1,758	1,762
4,0	1,765	1,769	1,773	1,777	1,781	1,785	1,789	1,792	1,796	1,800
4,1	1,804	1,808	1,811	1,815	1,819	1,822	1,826	1,830	1,833	1,837
4,2	1,841	1,845	1,848	1,852	1,856	1,859	1,863	1,867	1,870	1,874
4,3	1,878	1,882	1,885	1,889	1,893	1,896	1,900	1,904	1,907	1,911
4,4	1,914	1,918	1,921	1,925	1,929	1,932	1,936	1,939	1,943	1,946
4,5	1,950	1,954	1,957	1,961	1,964	1,968	1,971	1,975	1,979	1,982
4,6	1,986	1,989	1,993	1,996	2,000	2,003	2,007	2,010	2,013	2,017
4,7	2,020	2,023	2,027	2,030	2,033	2,037	2,040	2,043	2,047	2,050
4,8	2,053	2,057	2,060	2,063	2,067	2,070	2,073	2,077	2,080	2,083
4,9	2,087	2,090	2,093	2,097	2,100	2,103	2,107	2,110	2,113	2,116
5,0	2,119	2,122	2,125	2,129	2,132	2,135	2,139	2,142	2,145	2,148
5,1	2,151	2,154	2,158	2,160	2,164	2,167	2,170	2,173	2,176	2,180
5,2	2,183	2,186	2,190	2,192	2,195	2,197	2,200	2,203	2,206	2,209
5,3	2,212	2,215	2,218	2,221	2,224	2,227	2,230	2,233	2,236	2,240
5,4	2,243	2,246	2,249	2,252	2,255	2,258	2,261	2,264	2,267	2,270
5,5	2,273	2,276	2,279	2,282	2,285	2,288	2,291	2,294	2,297	2,300
5,6	2,303	2,306	2,309	2,312	2,315	2,318	2,320	2,324	2,326	2,329
5,7	2,332	2,335	2,338	2,341	2,344	2,347	2,350	2,353	2,355	2,358
5,8	2,361	2,364	2,367	2,370	2,373	2,376	2,379	2,382	2,384	2,387
5,9	2,390	2,393	2,396	2,400	2,403	2,405	2,408	2,411	2,414	2,417
6,0	2,419	2,422	2,425	2,428	2,431	2,433	2,436	2,439	2,442	2,444
6,1	2,447	2,450	2,453	2,456	2,458	2,461	2,464	2,467	2,470	2,472
6,2	2,475	2,478	2,481	2,483	2,486	2,489	2,492	2,494	2,497	2,500
6,3	2,503	2,505	2,508	2,511	2,513	2,516	2,518	2,521	2,524	2,526
6,4	2,529	2,532	2,534	2,537	2,540	2,542	2,545	2,547	2,550	2,553
6,5	2,555	2,558	2,561	2,563	2,566	2,568	2,571	2,574	2,576	2,579
6,6	2,581	2,584	2,587	2,590	2,592	2,595	2,597	2,600	2,603	2,605

6,7	2,608	2,610	2,613	2,615	2,618	2,620	2,623	2,625	2,627	2,630
6,8	2,633	2,635	2,637	2,640	2,643	2,645	2,648	2,650	2,653	2,655
6,9	2,658	2,660	2,663	2,665	2,668	2,670	2,673	2,675	2,678	2,680
7,0	2,683	2,685	2,687	2,690	2,693	2,695	2,698	2,700	2,702	2,705
7,1	2,707	2,710	2,712	2,714	2,717	2,719	2,721	2,724	2,726	2,729
7,2	2,731	2,733	2,736	2,738	2,740	2,743	2,745	2,748	2,750	2,752
7,3	2,755	2,757	2,760	2,762	2,764	2,767	2,769	2,771	2,774	2,776
7,4	2,779	2,781	2,783	2,786	2,788	2,790	2,793	2,795	2,798	2,800
7,5	2,802	2,805	2,807	2,809	2,812	2,814	2,816	2,819	2,821	2,823
7,6	2,826	2,828	2,830	2,833	2,835	2,837	2,840	2,842	2,844	2,847
7,7	2,849	2,851	2,854	2,856	2,858	2,860	2,863	2,865	2,868	2,870
7,8	2,873	2,875	2,877	2,879	2,881	2,884	2,887	2,889	2,891	2,893
7,9	2,895	2,898	2,900	2,902	2,905	2,907	2,909	2,911	2,913	2,915
8,0	2,918	2,920	2,922	2,924	2,926	2,928	2,931	2,933	2,935	2,937
8,1	2,939	2,942	2,944	2,946	2,948	2,950	2,952	2,955	2,957	2,959
8,2	2,961	2,963	2,966	2,968	2,970	2,972	2,974	2,976	2,979	2,981
8,3	2,983	2,985	2,987	2,990	2,992	2,994	2,996	2,998	3,000	3,002
8,4	3,004	3,006	3,008	3,010	3,012	3,015	3,017	3,019	3,021	3,023
8,5	3,025	3,027	3,029	3,031	3,033	3,035	3,037	3,040	3,042	3,044
8,6	3,046	3,048	3,050	3,052	3,054	3,056	3,048	3,060	3,062	3,064
8,7	3,067	3,069	3,071	3,073	3,075	3,077	3,079	3,081	3,083	3,085
8,8	3,087	3,089	3,092	3,094	3,096	3,098	3,100	3,102	3,104	3,106
8,9	3,108	3,110	3,112	3,114	3,116	3,118	3,120	3,122	3,124	3,126
9,0	3,128	3,130	3,132	3,134	3,136	3,138	3,140	3,142	3,144	3,146
9,1	3,148	3,150	3,152	3,154	3,156	3,158	3,160	3,162	3,164	3,166
9,2	3,168	3,170	3,172	3,174	3,176	3,178	3,180	3,182	3,184	3,186
9,3	3,188	3,190	3,192	3,194	3,196	3,198	3,200	3,202	3,204	3,206
9,4	3,208	3,210	3,212	3,214	3,215	3,217	3,219	3,221	3,223	3,225
9,5	3,227	3,229	3,231	3,233	3,235	3,237	3,239	3,241	3,242	3,244
9,6	3,246	3,248	3,250	3,252	3,254	3,256	3,258	3,260	3,262	3,264
9,7	3,266	3,268	3,269	3,271	3,273	3,275	3,277	3,279	3,281	3,283
9,8	3,285	3,287	3,289	3,291	3,293	3,295	3,297	3,298	3,300	3,02
9,9	3,304	3,305	3,307	3,309	3,311	3,313	3,316	3,318	3,320	3,321
10	3,32	3,34	3,36	3,37	3,39	3,41	3,43	3,45	3,46	3,48
11	3,50	3,52	3,53	3,55	3,56	3,58	3,60	3,61	3,63	3,64
12	3,66	3,68	3,69	3,71	3,72	3,74	3,76	3,77	3,79	3,80
13	3,80	3,83	3,85	3,86	3,88	3,89	3,90	3,92	3,93	3,95
14	3,96	3,97	3,99	4,00	4,02	4,03	4,04	4,06	4,07	4,09
15	4,10	4,11	4,13	4,14	4,15	4,17	4,18	4,19	4,20	4,22
16	4,23	4,24	4,25	4,27	4,28	4,29	4,30	4,31	4,33	4,34
17	4,35	4,36	4,37	4,38	4,39	4,41	4,42	4,43	4,44	4,45
18	4,46	4,47	4,48	4,49	4,50	4,52	4,53	4,54	4,55	4,56
19	4,57	4,58	4,59	4,60	4,61	4,62	4,63	4,64	4,65	4,66